



УКРАЇНА

(19) UA (11) 49089 (13) C2

(51) B C07H3/06,11/00,15/04,A61K31/70

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОХІДНІ ВУГЛЕВОДІВ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ НА ЇХ ОСНОВІ

1

2

(21) 2000052804

(22) 16 11 1998

(24) 16 09 2002

(86) PCT/EP98/07518, 16 11 1998

(31) 97203613 1

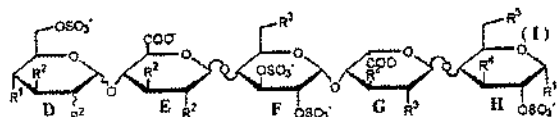
(32) 19 11 1997

(33) EP

(46) 16 09 2002, Бюл. №9, 2002р

(72) Ван Букель Констант, NL, Петту Моріс, FR,  
Дюшоссуа Філіп, FR, Дреф-Тромп Корнелія Марія,  
NL, Бастен Йоханнес Е'бертус, NL(73) АКЗО НОБЕЛЬ НВ, NL, САНОФІ-  
СЕНТЕЛЯБО, FR(56) EP 0 300 099 A, 25 01 1989/ EP 0 301 618 A,  
01 02 1989/ EP 0 529 715 A, 03 03 1993/ EP 0 454  
220 A, 30 10 1991

(57) 1 Похідне вуглеводу формули (I)

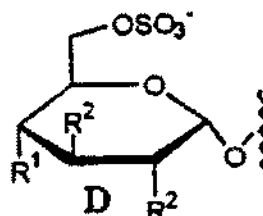


де  $R^1$  -  $(C_1-C_4)$ алкоксил,  
 $R^2$ ,  $R^3$  та  $R^4$ , незалежно -  $(C_1-C_4)$ алкоксил чи  
 $OSO_3^-$ ,  
загальне число сульфатних груп 4, 5 чи 6,  
зігнуті лінії являють собою зв'язки, що розташовані

вище чи нижче площини шестичленного кільця, до  
якого вони приєднані,

або його фармацевтично прийнятна сіль

2 Похідне вуглеводу за п. 1, яке відрізняється  
тим, що ділянка D має структуру



де  $R^1$  - метоксил, а  $R^2$ ,  $R^3$  та  $R^4$ , незалежно -  
метоксил чи  $OSO_3^-$

3 Похідне вуглеводу за п. 2, яке відрізняється  
тим, що  $R^2$  - метоксил

4 Похідне вуглеводу за п. 3, яке відрізняється  
тим, що  $R^3$  - метоксил

5 Похідне вуглеводу за п. 4, яке відрізняється  
тим, що  $R^4$  - метоксил

6 Похідне вуглеводу за будь-яким з пп. 1-5 для  
використання у терапії

7 Фармацевтична композиція, яка містить похідне  
вуглеводу за будь-яким з пп. 1-5 та  
фармацевтично придатні допоміжники

Згідно з винаходом запропоновано похідне  
вуглеводу, фармацевтичну композицію, що його  
містить, а також використання вказаного похідного  
вуглеводу у виробництві лікувального засобу

Гепарин - звичайно використовуваний  
антикоагулянт з таких біологічних джерел, як  
слизова кишок. У присутності гепарину інактивація  
тромбіну антитромбіном III (АТ-III) значно зростає,  
включаючи зміни в конформації гепарину та АТ-III  
при комплексоутворенні. Тромбін регулює останній  
ступінь каскаду коагуляції крові. Першою функцією  
тромбіну є розщеплення фібриногену для  
вироблення мономерів тромбіну, які утворюють

нерозчинний гель, фібринову пробку, внаслідок  
поперекової зшивки

Структурні особливості гепарину, які потрібні  
для взаємодії з АТ-III, досліджували різними  
способами. Частина полімеру гепарину виявляє  
тільки слабку спорідненість до АТ-III, в той час як  
інша частина є значно важливішою для  
приєднання до АТ-III. Вивченням фрагментованого  
гепарину ідентифіковано пентасхаридний  
фрагмент, оцінений як мінімальна структура з  
високою спорідненістю, що приєднується до АТ-III  
[див. наприклад, Physiological Reviews, 71(2),  
488/9, 1991]. У цьому фрагменті з високою

(13) C2

(11) 49089

(19) UA

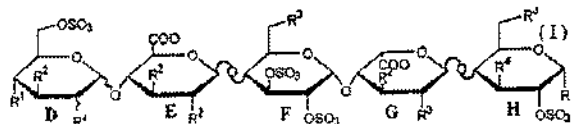
спорідненістю наявні 8 сульфатних груп 4 з них, як виявлено, важливі для приєднання до AT-III [Advanced in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Vol 43, Eds R S Tipson & D Horton Publ. Harcourt Brace Jovanovich B. Casu (pp 51 - 127), параграф 6], а інші є додатковими для високої спорідненості Цей висновок було підтверджено синтетичними аналогами пентасахаридного фрагменту [див наприклад, Angew Chem 32(12), 1671 - 1818, 1993]

Ідентифікація пентасахаридного фрагменту з високою спорідненістю призвела до виготовлення його синтетичного аналогу. Невеликі синтетичні молекули вуглеводів глікозаміногліканового типу були визначені як потужні та селективні анти-Ха інгібітори. Див наприклад, Європейський патент 84999. Пізніше подані патентні/патентні заявки показали багато варіантів цих молекул мають подібну і навіть вищу активність, а тим посилюють фармакологічні властивості, як-то розкриті в EP 529715 та EP 454220 споріднені з глікозаміногліканом похідні вуглеводів. Ці похідні вуглеводів позбавлені характерних функціональних груп глікозаміноглікану вільних гідроксильних груп, N-сульфатних та IM-ацетильних груп. Крім того, всі розкриті в цій останній патентній заявці пентасахариди несуть щонайменше 7 сульфатних груп. На антитромботичних олигосахаридних похідних було загалом встановлено, що для отримання клінічно прийнятної рівня антитромботичної активності потрібно щонайменше 7 сульфатних груп.

Однак, несподівано було виявлено клас споріднених з глікозаміногліканом похідних вуглеводів, що мають тільки 4 - 6 сульфатних груп та все ж виявляють значну клінічну антитромботичну активність. Крім того, сполуки згідно з винаходом виявляють послаблену побічну дію. Наприклад, ризик кровотечі зменшується, а низький сульфатний вміст у сполуках не дає збільшення викликаного гепарином тромбоцитопенії (HIT), яка є суворим побічним ефектом, що може призвести до загибелі пацієнта. Крім того, сполуки згідно з винаходом мають час біологічного напівзникнення, що дозволяє лікування раз на добу. Лікування раз на добу, можна вважати, буде більш переважним, ніж, наприклад, лікування раз на тиждень, дозволяючи швидку адаптацію лікування, якщо стан пацієнта цього потребує. Полегшується також при лікуванні раз на тиждень постачання лікарні, оскільки для лікування пацієнта не потрібно комплексних схем дозування.

Отже, сполуки згідно з винаходом виявляють неочікувані та тонко збалансовані фармакологічні властивості.

Згідно з винаходом запропоновано похідне вуглеводу формули (I)



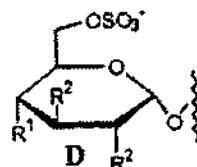
де  $R_1$  -  $(C_1-C_4)$ алкоксил,  $R_2$ ,  $R_3$  та  $R_4$ , незалежно -  $(C_1-C_4)$ алкоксил чи  $OSO_3$ , загальне число сульфатних груп 4, 5 чи 6, зігнуті лінії представляють зв'язки, що розташовані вище чи нижче площини шестичленного кільця, до якого вони приєднані, або його фармацевтичне прийнятну сіль.

Сполуки згідно з винаходом також корисні при лікуванні та попередженні опосередкованих тромбіном чи асоційованих з ним хвороб, які включають ряд тромботичних та протромботичних станів, при яких активовано коагуляційний каскад, які включають без обмеження глибокий тромбоз вен, легеневу емболію, тромбофлебіт, закупорку артерій від тромбозу чи емболії, артеріальну реоклюзію протягом чи після ангіопластики чи тромболізу, рестенозу, що супроводжує артеріальні поранення чи інвазивні кардіологічні процедури, післяопераційні тромбози та емболії вен, гострий чи хронічний атеросклероз, напад, інфаркт міокарду, рак та метастази та нейродегенеративні захворювання. Похідні вуглеводів згідно з винаходом можна використовувати як інгібітори проліферації клітин гладеньких м'язів та для лікування ангіогенезу, раку та ретровірусних інфекцій типу ВІЛ.

Крім того сполуки згідно з винаходом можна використовувати як антикоагулянти та антикоагулянтні покриття в екстракорпоральних кров'яних циклах, що потрібні при діалізі та хірургії.

Сполуки згідно з винаходом можна також використовувати як антикоагулянти *in vitro* та *in vivo*.

Кращі похідні вуглеводів згідно з винаходом мають формулу (I), де ділянка D має структуру



де  $R_1$  - метоксил, а  $R_2$ ,  $R_3$  та  $R_4$ , незалежно - метоксил чи  $OSO_3$ .

У найкращих похідних вуглеводів  $R_2$  - метоксил. У особливо кращих похідних вуглеводів  $R_3$  - метоксил. Найкращим похідним вуглеводу є той, де  $R_4$  - метоксил.

В  $(C_1-C_4)$ алкоксилі  $(C_1-C_4)$ алкіл є лінійним чи розгалуженим алкілом, що має 1 - 4 атоми карбону, як-то метил, етил, і-пропіл, трет-бутил тощо. Найкращим є метил.

Протионами, що компенсують заряджені групи, є фармацевтичне прийнятні іони типу гідрогену, а краще іони лужних та лужноземельних металів, типу натрію, кальцію чи магнію.

Похідні вуглеводів згідно з винаходом можна виготовити добре відомими способами, що описано та використано для синтезів олигосахаридів. Конкретні посилання на це зроблені у вищезгаданому Європейському патенті EP 529715. Придатний спосіб виготовлення похідних вуглеводів згідно з винаходом

характеризуються способом, при якому протектовані моносахариди різної будови сполучають з отриманням протектованого дисахариду, після чого

(а) протектований дисахарид одного типу сполучають з протектованим дисахаридом іншого типу з отриманням протектованого тетрасахариду, який сполучають з протектованим моносахаридом з отриманням протектованого пентасакхариду, або

(б) протектований моносахарид сполучають з протектованим дисахаридом з отриманням протектованого трисахариду, який сполучають з протектованим дисахаридом з отриманням протектованого пентасакхариду,

після цього протектувальні групи відщеплюють та сульфатують вільні гідроксильні групи, після чого отриману сполуку перетворюють у фармацевтичне прийнятну сіль

Моносахаридами є D-глюкоза, D-маноза, D-ідоза, D-глюкуронова кислота чи D-дуронова кислота, придатне функціоналізовані потрібними алкілами або тимчасовими протектувальними групами

Придатні протектувальні групи добре відомі фахівцям, кращі з них включають бензил та ацетил для гідроксильних груп, та бензил для карбоксильних груп уронових кислот. З таким же успіхом можна використовувати такі інші протектувальні групи, як бензоіл, левулініл, алкоксифеніл, хлорацетил, тритил тощо. Сполучення сахариду здійснюють відомими способами, наприклад, депротектуванням позиції 1 глікозил-донору та/або активацією цієї позиції (наприклад, створюючи бромідне, пентенільне, флуоридне, тіоглікозидне чи трихлорацетамідне похідне) та сполученням активованого глікозил-донору з протектованим, як варіант, глікозил-акцептором.

Для лікування тромбозу вен чи інгібування проліферації клітин гладеньких м'язів сполуки згідно з винаходом можна призначати парентерально чи ентерально, а для людини переважно з добовим дозуванням 0,001 - 10мг/кг маси тіла. Змішування з фармацевтично прийнятними допоміжниками описано, наприклад, в стандартних посиланнях, Gennaro et al., Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed., Mack Publishing Company, 1990, див. особливо частину 8 Pharmaceutical Preparation and Their Manufacture (Фармацевтичні препарати та їх виробництво)), сполуки можна пресувати у такі тверді дозовані одиниці, як пілюлі, таблетки, або використовувати в капсулах чи супозиторіях. З фармацевтичне прийнятними рідинами сполуки можна також застосовувати як препарати для ін'єкцій у формі розчинів, суспензій, емульсій, або для розпилення, наприклад, назальних спреїв.

Для створення дозованих одиниць, наприклад, таблеток застосовують звичайні добавки, як-то наповнювачі, барвники, полімерні зв'язувальні засоби тощо. Взагалі, можна застосовувати будь-які фармацевтично прийнятні добавки, що не впливають на функції активних сполук.

Придатні носії, з якими можна використовувати композиції, включають узяті в

придатній кількості лактозу, крохмаль, похідні целюлози тощо, або їх суміші.

Далі винахід ілюстровано прикладами.

Синтез з прикладу 1 (сполука 32)

Синтез дисахариду GH (схеми 1 + 2)

Сполука 2 Сполуку 1 (80г, комерційно доступна) розчинили в N,N-диметилформаміді (858мл) разом з бензилбромідом (858мл). Після охолодження до +10°C краплями додали 20% водний розчин гідроксиду натрію і після перемішування протягом години температуру підняли до 20°C та перемішували суміш протягом 20 годин. Розчин виливали у суміш води з льодом і толуолу і екстрагували. Органічний шар концентрували і сирий продукт очищали кристалізацією, отримавши 30,0г сполуки 2.

ТШХ  $R_f = 0,60$ , толуол/етилацетат, 7/3 за об'ємом.

Сполука 3 Сполуку 2 (26,4г) розчинили в N,N-диметилформаміді (211мл). Після охолодження на льоді додали під азотом гідрід натрію (2,5г), а потім краплями додали 4-метоксибензилхлорид (13,3г) та перемішували суміш при кімнатній температурі протягом години, далі розбавляли її етилацетатом, двічі промивали водою та концентрували, отримавши 40,7г сирого продукту 3.

ТШХ  $R_f = 0,80$ , толуол/етилацетат, 7/3 за об'ємом.

Сполука 4 Сполуку 3 (34,9г) розчинили в 60% оцтовій кислоті та перемішували при 60°C протягом 4 годин, далі розбавляли суміш толуолом та концентрували і очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 26,4г сполуки 4.

ТШХ  $R_f = 0,07$ , толуол/етилацетат, 7/3 за об'ємом.

Сполука 5 Сполуку 4 (26,4г) розчинили під азотом в дихлорметані (263мл), при кімнатній температурі додали тетрафлуорборат триметилкоксонію (11,6г) та 2,6-ди-треш-бутил-4-метилпіридин (17,4г). Через 4 години суміш вилили у воду з льодом та екстрагували дихлорметаном. Органічний шар промивали  $\text{NaHCO}_3$ , випарювали і очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 18,5 г сполуки 5.

ТШХ  $R_f = 0,25$ , толуол/етилацетат, 7/3 за об'ємом.

Сполука 7 Сполуку 6 (3-метил-1,2,4,6-тетраацетилдоза) (48,4г) розчинили в толуолі (175мл). Додали під азотом етантіол (20мл) та діетилетерат трифлуориду бору (1М розчин в толуолі, 134мл), перемішували суміш годину і додали водний  $\text{NaHCO}_3$  (400мл) і перемішували ще годину, а потім виливали в етилацетат. Органічний шар двічі промивали водою та концентрували і очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 29,6г сполуки 7.

ТШХ  $R_f = 0,45$ , толуол/етилацетат, 6/4 за об'ємом.

Сполука 8 Сполуку 5 (17,5г) та сполуку 7 (28,2г) розчинили в толуолі (525мл) під азотом і після додавання порошку молекулярних сит (0,4мм) охолодили до 20°C. Додали краплями при

безперервному току азоту свіжоприготований 0,1М розчин М-йодсукциніміду(17,4г) та трифлуорметансульфонові кислоти(1,28мл) в діоксані/дихлорметані(1/1 за об'ємом) Через 10хвилин червону суміш фільтрували та поспідовно промивали тiosульфатом натрію та водним  $\text{NaHCO}_3$  Органічні шари концентрували у вакуумі, одержавши 30,0г сполуки 8

ТШХ  $R_f = 0,45$ , толуол/етилацетат, 8/3 за об'ємом

Сполука 9 Сполуку 8(30,0г) розчинили в діоксані/дихлорметані(460мл, 1/1 за об'ємом) Додали для омилення бутанолят калію, а через 15хвилин нейтралізували Dowex 50WX8H<sup>+</sup>-form та концентрували у вакуумі і очищали хроматографією на силікагелі, одержавши 17,4г сполуки 8

ТШХ  $R_f = 0,25$ , толуол/етилацетат, 95/5 за об'ємом

Сполука 10 Сполуку 9(17,4г) розчинили в N,N-диметилформаміді(77мл) під азотом Додали 1,2-диметоксипропан(26мл) та п-толуолсульфонову кислоту і перемішували 30хвилин, розбавляли водним  $\text{NaHCO}_3$  та екстрагували етилацетатом, одержавши після випарювання розчиннику 19,7г сполуки 10

ТШХ  $R_f = 0,45$ , толуол/етилацетат, 95/5 за об'ємом

Сполука 11 Сполуку 10(18,5г) розчинили в N,N-диметилформаміді(24,4мл) та охолодили до 0°C Додали під азотом гідрид натрію(1,47г, 60% дисперсія маслі) та йодметан(2,36мл), а через годину надлишок гідриду натрію нейтралізували та екстрагували дихлорметаном, одержавши після випарювання розчиннику 20,0г сполуки 11

ТШХ  $R_f = 0,85$ , толуол/етилацетат, 95/5 за об'ємом

Сполука 12 Сполуку 11(18,4г) розчинили в дихлорметані(838мл) та воді(168мл) Додали 2,3-дихлор-5,6-диціано-1,4-бензохінон(1,47г) та перемішували при 4°C протягом 18годин, потім вилили у водний  $\text{NaHCO}_3$  та екстрагували дихлорметаном, одержавши після концентрування органічного шару 12,7г сполуки 12

ТШХ  $R_f = 0,40$ , толуол/етилацетат, 95/5 за об'ємом

Сполука 13 Сполуку 12 перетворили в сполуку 13 описаним для синтезу сполуки 11 способом

ТШХ  $R_f = 0,48$ , толуол/етилацетат, 1/1 за об'ємом

Сполука 14 Сполуку 13(2,5г) розчинили в оцтовій кислоті(14,6мл) та воді(6,1мл) і перемішували при кімнатній температурі протягом ночі Випарювали з толуолом і очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 1,9г сполуки 14

ТШХ  $R_f = 0,31$ , етилацетат, за об'ємом

Сполука 15 Сполуку 14(1,7г) розчинили в дихлорметані(9мл) та додали 2,2,6,6-тетраметил-1 піперидинілокси(5мг), насичений розчин  $\text{NaHCO}_3$ (5,8мл), бромід калію(32мг) та хлорид тетрабутиламонію(42мг) і охолодили до 0°C Додали суміш насиченого розчину хлориду натрію(6,5мл), насиченого розчину  $\text{NaHCO}_3$ (3,2мл) і протягом 15хвилин додавали ппохлорит

натрію(13М, 7,3мл), а через годину перемішування суміш розбавляли водою та тричі екстрагували дихлорметаном Органічні шари промивали розсолем, сушили сульфатом магнію, фільтрували та випарювали досуха, одержавши 1,74г сирової сполуки 15

ТШХ  $R_f = 0,14$ , дихлорметан/метанол, 9/1 за об'ємом

Метил О-(бензил) 2 3-ді-О-метил- $\alpha$ -L-ідопіранозилуронат)-(1  $\rightarrow$  4)-2-О-бензил 2 3-ді-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозид 16

До розчину сполуки 15(1,74г) в N,N-диметилформаміді, при кімнатній температурі додали під азотом бензолбромід(1,66мл) та  $\text{KHCO}_3$ (1,1г) Через 1,5години перемішування додали воду та екстрагували етилацетатом Органічний шар випарювали і очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 1,64г сполуки 16

ТШХ  $R_f = 0,50$ , толуол/етилацетат, 1/1 за об'ємом

Синтез дисахариду EF(схеми 2 + 3)

Сполука 17 Сполуку 12(10,5г) розчинили в сухому N,N-диметилформаміді(178мл) і після охолодження до 0°C додали під азотом гідрид натрію(1,91г, 60% дисперсія маслі) та краплями бензилбромід(3,3мл) і через 30хвилин реакція закінчилася, а надлишок гідриду натрію нейтралізували Додали воду та суміш двічі екстрагували етилацетатом Випарюванням розчиннику отримали 13,6г сполуки 17

ТШХ  $R_f = 0,50$ , толуол/етилацетат, 1/1 за об'ємом

Сполука 18 Сполуку 17 перетворили в сполуку 18 описаним для синтезу сполуки 14 способом

ТШХ  $R_f = 0,68$ , толуол/етилацетат, 9/1 за об'ємом

Сполука 19 Сполуку 18 перетворили в сполуку 19 описаним для синтезу сполуки 15 способом

ТШХ  $R_f = 0,14$ , толуол/етилацетат, 9/1 за об'ємом

Сполука 20 Сполуку 19 перетворили в сполуку 20 описаним для синтезу сполуки 16 способом

ТШХ  $R_f = 0,38$ , толуол/етилацетат, 85/15 за об'ємом

Сполука 21 Сполуку 20(9,9г) розчинили в сухому метанолі(300мл) і під азотом гріли під зворотним холодильником та краплями додавали 0,1М розчин метоксиду натрію(65,2мл) і перемішували протягом 3годин, потім охолоджували до кімнатної температури та додавали 0,1М розчин гідроксиду натрію(22,2мл) і перемішували протягом 1,5годин, нейтралізували Dowex50WX8H<sup>+</sup>-form та випарюванням розчиннику отримали сирий залишок

Додали під азотом N,N-диметилформамід(192мл) та порошок молекулярних сит(0,4мм), а потім  $\text{KHCO}_3$ (3,2г) та бензилбромід(4,8мл) і перемішували протягом 6годин, після чого додавали етилацетат і промивали суміш водою, випарюванням розчиннику та очисткою сирового продукту хроматографією на силікагелі отримали 6,19г сполуки 21 та повернули 1,88г сполуки 20

ТШХ  $R_f = 0,74$ , дихлорметан/метанол, 9/1 за

об'ємом

Сполука 22 Сполуку 21(6,2г) розчинили в діоксані(263мл), додали левулінову кислоту(2,1г), дициклогексилкарбодімід(3,75г) та 4-диметиламінопіридин(0,2г) і перемішували під азотом протягом 2годин. Додали ефір і відфільтрували осад. Органічний шар промивали водним  $\text{KHSO}_4$ , випарювали і очищали кристалізацією з діетилового ефіру/гептану, отримавши 6,2г сполуки 22.

ТШХ  $R_f = 0,26$ , дихлорметан/ацетон, 95/5 за об'ємом

Сполука 23 Сполуку 22(6,1г) розчинили під азотом в оцтовому ангідриді(256мл) та охолодили до  $-20^\circ\text{C}$ . Краплями протягом 30хвилин додали суміш сульфатної кислоти(4,9мл) в оцтовому ангідриді(49мл). Через 60хвилин додавали ацетат натрію, доки рН не став нейтральним. Додали етилацетат та воду. Органічний шар випарювали і очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 4,2г сполуки 23.

ТШХ  $R_f = 0,63$ , дихлорметан/ацетон, 9/1 за об'ємом

Сполука 24 Сполуку 23(4,2г) розчинили під азотом в тетрагідрофурані(256мл) та додали піперидин(4,1мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Додали етилацетат та промивали 0,5Н гідрохлоридною кислотою. Органічний шар випарювали і залишок очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 3,2г сполуки 24.

ТШХ  $R_f = 0,33$ , дихлорметан/етилацетат, 1/1 за об'ємом

O-(бензил 2 3-ді-O-метил-4-O-левуліноіл-β-D-глюкопіранозилуранат)-(1→4)-3-O-ацетил-2-O-бензил-6-O-метил-D-глюкопіранозил трихлорацетамідат 25. До розчину сполуки 24(1,59г) в дихлорметані додали під азотом трихлорацетонітрил(1,1мл) та  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (72мг). Через годину перемішування  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  відфільтрували та випарювали фільтрат і очищали залишок хроматографією на силікагелі, отримавши 1,57г сполуки 25.

ТШХ  $R_f = 0,60$ , толуол/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Синтез тетрасахариду EFGH(схема 4)

Сполука 26 Суміш сполук 16(0,530мг) та 25(0,598мг) сушили співвипарюванням з сухим толуолом та розчиняли в сухому дихлорметані(178мл) і додали порошок молекулярних сит(0,4нм), охолодили до  $-20^\circ\text{C}$  і перемішували протягом 30хвилин під азотом. До утвореної суспензії додали триметилсиліл трифлуорметансульфонат(15молярних% по відношенню до сполуки 25) і через 10хвилин перемішування додали  $\text{NaHCO}_3$ , суміш профільтрували і додали дихлорметан і воду. Органічний шар екстрагували, концентрували та сирий продукт очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 0,62г сполуки 26.

ТШХ  $R_f = 0,47$ , толуол/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Метил-O-(бензил 2 4-ді-O-метил-β-D-глюкопіранозилуранат)-(1→4)-O-(3-O-ацетил-2-O-бензил-6-O-метил-D-глюкопіранозил)-(1→4)-O-

бензил 2 3-ді-O-метил-α-L-ідопіранозилуранат-(1→4)-2-O-бензил 3 6-ді-O-метил-α-D-глюкопіранозид 27. До розчину сполуки 26(0,58г) в піридині додали суміш оцтової кислоти(2,76мл) та підразин-гідрату(0,32мл) в піридині(2,1мл). Через 9хвилин додали воду та дихлорметан, органічний шар промивали 1Н гідрохлоридною кислотою та водним  $\text{NaHCO}_3$  і очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 0,27г сполуки 27.

ТШХ  $R_f = 0,45$ , толуол/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Синтез пентасакхариду DEFGH(схема 4 + 5)

Сполука 29 Суміш сполук 27(0,150мг) та 28(0,76мг) [Ref. Bioorganic&Medicinal Chemistry, vol 2, Natl, 1267 - 1280, 1994] сушили співвипарюванням з сухим толуолом та розчиняли в сухому дихлорметані(7,5мл) і додали під азотом порошок молекулярних сит(0,4нм), охолодили до  $-20^\circ\text{C}$  і перемішували протягом 20хвилин. До утвореної суспензії додали триметилсиліл трифлуорметансульфонат(15молярних% по відношенню до сполуки 28) і через 30хвилин перемішування додали водний  $\text{NaHCO}_3$  і суміш профільтрували. Органічний шар промили водою, концентрували та отриманий сирий продукт очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 136мг сполуки 29.

ТШХ  $R_f = 0,33$ , толуол/етилацетат, 4/6 за об'ємом

Сполука 30 Сполуку 29 розбавили трет-бутанолом(8мл) та водою(1мл) і додали 122мг 10% паладію на активованому вугіллі та перемішували в атмосфері водню протягом ночі, відфільтровували паладій на активованому вугіллі і концентрували, отримавши 84,5мг сполуки 30.

ТШХ  $R_f = 0,33$ , етилацетат/піридин/оцтова кислота/вода, 13/7/1 6/4 за об'ємом

Сполука 31 Сполуку 30 розчинили в 0,3Н гідроксиді натрію(5мл) та перемішували протягом 3годин, нейтралізували 0,5Н гідрохлоридною кислотою і концентрували. Залишок обезсолювали на колонці Sephadex G25 водою/ацетонітрилом(9/1 за об'ємом) та пропускали крізь коротку колонку Dowex 50WX8H<sup>+</sup>-form та випарювали, отримавши 75,6мг сполуки 31.

ТШХ  $R_f = 0,43$ , етилацетат/піридин/оцтова кислота/вода, 8/7/1 6/4 за об'ємом

Гексанатрійова сіль метил O-(2,3,4-трі-O-метил-6-O-сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-(2 3-ді-O-метил-β-D-глюкопіранозилуранова кислота)-(1→4)-O-(6-O-метил-2 3-ді-O-сульфо-α-D-глюкопіранозил-(1→4)-O-(2 3-ді-O-метил-α-L-ідопіранозилуранова кислота)-(1→4)-3 6-ді-O-метил-2-O-сульфо-α-D-глюкопіранозиду 32. Сполуку 31(30,6мг) в сухому перегнаному N,N-диметилформаміді (2,15мл) та додали третиламін-сульфотріоксид(120мг) під азотом і перемішували при  $55^\circ\text{C}$  протягом ночі. Додали суспензію  $\text{NaHCO}_3$  у воді та перемішували при кімнатній температурі протягом години і випарювали розчинник. Залишок розчиняли у воді і обезсолювали на колонці Sephadex G25 водою/ацетонітрилом(9/1 за об'ємом) та виділений продукт елюювали крізь колонку Dowex 50WX8Na<sup>+</sup>

водою, отримавши 42,5мг пентасахариду 32

$[\alpha]_D^{20} = +56,8(c = 1, \text{ вода})$

Хімічні зсуви ненумерованих протонів 5,32, 5,22, 4,97, 4,89 та 4,24 чнм

Синтез з прикладу II(сполука 38)

Синтез тетрасахариду EFGH(схема 4)

Сполука 13 Сполуки 25 та 26 сполучили з утворенням сполуки 33 описаним для синтезу сполуки 26 способом

ТШХ  $R_f = 0,47$ , толуол/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Метил-О-(бензил 2 4-ді-О-диметил-β-D-глюкопіранозилурилат) (1→4)-О-(3-О-ацетил-2-О-бензил-6-О-метил-α-D-глюкопіранозил-(1→4)-О-(бензил 2 3-ді-О-метил-α-L-ідопіранозилурилат-(1→4)-2 3-ді-О-бензил-6-О-метил-α-D-глюкопіранозид 34 Сполуку 33 перетворили в сполуку 34 описаним для синтезу сполуки 27 способом

ТШХ  $R_f = 0,39$ , гептан/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Синтез пентасахариду 38 DEFGH(схема 4 + 5)

Сполука 35 Сполуки 34 та 28 сполучили з утворенням сполуки 35 описаним для синтезу сполуки 29 способом

ТШХ  $R_f = 0,60$ , толуол/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Сполука 36 Сполуку 35 перетворили в сполуку 36 описаним для синтезу сполуки 30 способом

ТШХ  $R_f = 0,39$ , етилацетат/піридин/оцтова кислота/вода, 13/7/1 6/4 за об'ємом

Сполука 37 Сполуку 36 перетворили в сполуку 37 описаним для синтезу сполуки 31 способом

ТШХ  $R_f = 0,32$ , етилацетат/піридин/оцтова кислота/вода, 13/7/1 6/4 за об'ємом

Гептанатрійова сіль метил О-(2 3 4-три-О-метил-6-О-сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2 3-ді-О-метил-β-D-глюкопіранозилурилатова кислота)-(1→4)-О-(6-О-метил-2 3-ді-О-сульфо-α-D-глюкопіранозил-(1→4)-О-(2 3-ді-О-метил-α-L-ідопіранозилурилатова кислота)-(1→4)-6-О-метил-2 3-ді-О-сульфо-α-D-глюкопіранозиду 38 Сполуку 37 перетворили в сполуку 38 описаним для синтезу сполуки 32 способом

$[\alpha]_D^{20} = +53,6(c = 1, \text{ вода})$

Хімічні зсуви ненумерованих протонів 5,32, 5,23, 4,99, 4,9 та 4,23 чнм

Синтез з прикладу III(сполука 56)

Синтез дисахариду GH(схема 1 + 2)

Сполука 39 Сполуку 2 перетворили в сполуку 39 описаним для синтезу сполуки 11 способом

ТШХ  $R_f = 0,52$ , дихлорметан/ацетон, 98/2 за об'ємом

Сполука 40 Сполуку 39(32,0г) розчинили в 538мл метанолу, додали 157г п-толуолсульфонової кислоти та перемішували при кімнатній температурі протягом 1,5годин. Після нейтралізації третиламіном суміш концентрували та отриманий сирий продукт очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 11,9г сполуки 40

ТШХ  $R_f = 0,56$ , дихлорметан/метанол, 9/1 за об'ємом

Сполука 41 Сполуку 40 перетворили в сполуку 41 описаним для синтезу сполуки 5 способом

ТШХ  $R_f = 0,18$ , толуол/етилацетат, 7/3 за об'ємом

Сполука 42 Сполуку 41 перетворили в сполуку 42 описаним для синтезу сполуки 24 способом

Сполука 43 Сполуку 42 перетворили в сполуку 43 описаним для синтезу сполуки 25 способом

Сполука 44 Сполуки 43 та 41 сполучили з утворенням сполуки 35 описаним для синтезу сполуки 26 способом

ТШХ  $R_f = 0,28$ , толуол/етилацетат, 6/4 за об'ємом

Сполука 45 Сполуку 44 перетворили в сполуку 45 описаним для синтезу сполуки 9 способом

ТШХ  $R_f = 0,09$ , толуол/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Сполука 46 Сполуку 45 перетворили в сполуку 46 описаним для синтезу сполуки 10 способом

ТШХ  $R_f = 0,52$ , етилацетат

Сполука 47 Сполуку 46(10,4г) під азотом розчинили в 102мл сухого піридину, додали суміш 34мл оцтового ангідриду та 102мл сухого піридину і 10мг диметиламінопіридину і перемішували при кімнатній температурі протягом години. Суміш концентрували та співпарували з сухим толуолом, отримавши 11,9г сполуки 47

ТШХ  $R_f = 0,50$ , толуол/етилацетат, 1/1 за об'ємом

Сполука 48 Сполуку 47(11,9г) розчинили в 90мл метанолу, додали 180мг п-толуолсульфонової кислоти та перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш розбавляли етилацетатом, двічі промивали водою та концентрували і отриманий сирий продукт очищали хроматографією на силікагелі, отримавши 6,2г сполуки 48

ТШХ  $R_f = 0,28$ , толуол/етилацетат, 3/7 за об'ємом

Сполука 49 Сполуку 48 перетворили в сполуку 49 описаним для синтезу сполуки 15 способом

ТШХ  $R_f = 0,24$ , дихлорметан/метанол, 9/1 за об'ємом

Метил О-(бензил 2-О-ацетил-3-О-метил-α-L-ідопіранозилурилат)-(1→4)-2-О-бензил-3 6-О-ді-О-метил-α-D-глюкопіранозид 50 Сполуку 49 перетворили в сполуку 50 описаним для синтезу сполуки 16 способом

ТШХ  $R_f = 0,37$ , дихлорметан/метанол, 9/1 за об'ємом

Синтез тетрасахариду EFGH(схема 4)

Сполука 51 Сполуки 25 та 50 сполучили з утворенням сполуки 51 описаним для синтезу сполуки 26 способом

ТШХ  $R_f = 0,37$ , дихлорметан/метанол, 98/2 за об'ємом

Метил-О-(бензил 2 4-ді-О-диметил-β-D-глюкопіранозилурилат)-(1→4)-О-(3-О-ацетил-2-О-бензил-6-О-метил-α-D-глюкопіранозил-(1→4)-О-(бензил 2-О-ацетил-3-О-метил-α-L-ідопіранозилурилат)-(1→4)-2-О-бензил-3 6-ді-О-метил-α-D-глюкопіранозид 52 Сполуку 51 перетворили в сполуку 52 описаним для синтезу сполуки 27 способом

ТШХ  $R_f = 0,26$ , дихлорметан/метанол, 98/2 за об'ємом

Синтез пентасахариду 56 DEFGH(схема 4 + 5)

Сполука 53 Сполуки 52 та 28 сполучили з утворенням сполуки 53 описаним для синтезу сполуки 29 способом

ТШХ  $R_f = 0,63$ , дихлорметан/метанол, 98/2 за об'ємом

Сполука 54 Сполуку 53 перетворили в сполуку 54 описаним для синтезу сполуки 30 способом

ТШХ  $R_f = 0,51$ , дихлорметан/метанол, 8/2 за об'ємом

Сполука 55 Сполуку 54 перетворили в сполуку 55 описаним для синтезу сполуки 31 способом

ТШХ  $R_f = 0,32$ , етилацетат/піридин/оцтова кислота/вода, 10/7/1 6/4 за об'ємом

Гептанатрієва сіль метил О-(2 3 4-три-О-метил-6-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2 3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(6-О-метил-2 3-ді-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(3-О-метил-2-О-сульфо- $\alpha$ -L-ідопіранозилуранова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-3 6-ді-О-метил-2-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозиду 56 Сполуку 55 перетворили в сполуку 56 описаним для синтезу сполуки 32 способом

$[\alpha]_D^{20} = +50,2 (c = 1, \text{вода})$

Хімічні зсуви нумерованих протонів 5,32, 5,29 та 4,89 чнм

Синтез з прикладу IV (сполука 80)

Синтез дисахариду EF (схема 6)

Сполука 58 Тріетиламін (43мл, 300ммоль), 4-диметиламінопіридин (156мл, 1,3ммоль) та оцтовий ангідрид (23мл, 290ммоль) додали до розчину 57 (36,2г, 128ммоль) (Petroni et al, Austr J Chem, 1988, 41, 91 - 102) в 360мл дихлорметану і через 30хвилин послідовно промивали 5% водним  $\text{KHSO}_4$  водою, насиченим водним  $\text{NaHCO}_3$ , водою та сушили сульфатом натрію. Випарюванням одержали сирій 58

ТШХ  $R_f = 0,41$ , циклогексан/етилацетат, 3/1 за об'ємом

Сполука 59 Етаноламін (4,9мл, 80ммоль) додали при 4°C до розчину сирого 58 (11,8г, 32ммоль) в 220мл тетрагідрофурану і через 16годин додали при 4°C під аргоном трихлорацетонітрил (65мл, 644ммоль) та  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (8,3г, 64,4ммоль). При кімнатній температурі через 16годин розчин фільтрували та концентрували і очищали хроматографією на колонці, елюент циклогексан/етилацетат (4/1), отримавши 59 з виходом 79%

ТШХ  $R_f = 0,41$  циклогексан/етилацетат (4/1)

Сполука 61 Розчин триметилсипіл трифлату (0,04М в дихлорметані, 96мл, 3,8ммоль) додали краплями під аргоном до охолодженого (-20°C) розчину донорного імідату 59 (11,93г, 25ммоль) та акцептору 60 (9,2г, 19,8ммоль) (P I Garreg, H Hultberg, Carbohydr Res, 1961, 93, C10) в 190мл дихлорметану з вмістом порошку молекулярних сит (0,4нм) і через 30хвилин додали  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , розчин профільтрували, промили водою та сушили сульфатом натрію і концентрували. Залишок перекристалізовували з діетилового етеру, отримавши 61 з виходом 82% Тпл 138°C

Сполука 62 Натрій (373мг, 0,65ммоль) додали при 4°C до розчину сполуки 61 (1г, 1,3ммоль) в метанолі/дихлорметані (2 1) (мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом

години та нейтралізували смолою Dowex 50WX8H<sup>+</sup>, фільтрували і концентрували, отримавши сирій 62

Сполука 63 Гідрид натрію (40,5мг, 1,56ммоль) додали порціями до охолодженого до 0°C розчину сполуки 62 (950 мг) та йодметану (0,1 мл, 1,55 ммоль) в диметилформаміді (9 мл). Додали через 2 години при кімнатній температурі метанол, вилили суміш у воду і екстрагували етилацетатом, промивали водою, сушили сульфатом натрію і концентрували та очищали хроматографією на колонці, елюент циклогексан/етилацетат (3/1), отримавши чистий 63 з виходом 86% (відносно 62) Тпл 137°C (Et<sub>2</sub>O)

Сполука 64 Розчин 63 (1,16г, 1,56ммоль) в 1/3 воді/метанолі (40мл) гріли при 80°C у присутності п-толуолсульфонової кислоти (230мг, 1,56ммоль). Після нейтралізації через 3години  $\text{NaHCO}_3$  суміш концентрували та очищали хроматографією на колонці, елюент циклогексан/ацетон (3/1), отримавши 64 з виходом 89%

ТШХ  $R_f = 0,38$  циклогексан/ацетон (2/1)

Метил-О(бензил 2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранат)-(1 $\rightarrow$ 4)-2 3 6-трі-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопіранозид 66 До розчину 64 (860мг, 1,56ммоль) в 4мл дихлорметану додали 2,2,6,6-тетраметил-1-піперидинілокси (2,3мг), насичений водний розчин  $\text{NaHCO}_3$  (2,5мл), бромід калію (13,5мг) та хлорид тетрабутиламонію (18 мг) і охолодили до 0°C. Додали суміш насиченого розчину хлориду натрію (2,6 мл), насиченого розчину  $\text{NaHCO}_3$  (1,4мл) і піпохлорит натрію (1,3М, 3,2мл), а через годину суміш екстрагували дихлорметаном, промивали водою, сушили сульфатом натрію та випарювали, одержавши сирю кислоту 65, яку обробляли бензилбромідом (1,6мл, 13ммоль) та  $\text{KHCO}_3$  (650мг, 6,5ммоль). Через 16годин продукт екстрагували етилацетатом, промивали водою, сушили сульфатом натрію та випарювали, отримавши 66 з виходом 77%

Сполука 67 Розчин триметилсипіл трифлату (0,04М в дихлорметані, 1,88мл, 0,075ммоль) додали краплями під аргоном до охолодженого (-20°C) розчину трихлорацетимідату 6-О-ацетил-2,3,4-трі-О-метил-D-глюкопіранозиду 28 (290мг, 0,711ммоль) (P Wedderduin et al, Bioorganic&Medicinal Chemistry, vol2, №11, 1267 - 1280, 1994) (11,93г, 25ммоль) та акцептору 66 (300мг, 0,4ммоль) в 20мл дихлорметану з вмістом порошку молекулярних сит (0,4нм) і через 30хвилин додали твердий  $\text{NaHCO}_3$ , розчин профільтрували та концентрували. Залишок очищали хроматографією на колонці, елюент толуол/етилацетат (3/1), отримавши чистий 67 з виходом 56%

ТШХ  $R_f = 0,32$  толуол/етилацетат (3/2)

Сполука 68 До розчину 67 (201 мг, 0,20 ммоль) в оцтовому ангідриді при -20°C додали суміш сульфатної кислоти (1,59мл, 0,1/1 за об'ємом) в оцтовому ангідриді. Через 60хвилин перемішування додавали ацетат натрію (780мг). Додали етилацетат та промили водою, сушили сульфатом натрію та випарювали і очищали хроматографією на колонці, елюент

толуол/етилацетат(1/1), отримавши сполуку 68 з виходом 82%

ТШХ  $R_f = 0,32$  толуол/етилацетат (1/1)

Сполука 69 До розчину 68(125,4мг) в 5мл тетрагідрофурану додали бензиламін(0,58мл, 5,26ммоль) в оцтовому ангідриді Через 7годин при кімнатній температурі розчин промили 1М гідрохлоридною кислотою, водою, сушили та випарювали і очищали хроматографією на колонці, елюент толуол/етилацетат(3/2), отримавши чисту сполуку 69 з виходом 75%

ТШХ  $R_f = 0,33$  толуол/етилацетат (2/3)

O-(6-O-ацетил-2,3,4-трі-O-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(бензил 2,3-ді-O-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранат)-(1 $\rightarrow$ 4)-3,6-ді-O-ацетил-2-O-бензил-D-глюкопіранозил трихлорацетат 70 До розчину 69(89,2мг, 0,112ммоль) в 2мл диметилформаміду додали під аргоном трихлорацетонітрил(0,069мл, 0,675ммоль) та  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ (66мг, 0,202ммоль) Через 2години розчин профільтрували та випарювали і залишок очищали хроматографією на колонці, елюент толуол/етилацетат(1/1), отримавши сполуку 70 з виходом 88%

ТШХ  $R_f = 0,44$  толуол/етилацетат (1/1)

Синтез дисахариду GH 76(схема 2)

Сполука 72 Метоксид натрію(570мг, 106ммоль) додали до розчину 71(2,5г, 3,53ммоль) (M Petitou et al, J Med Chem, 1997, 40, 1600 - 1607) в 35мл 1/1 метанолу/дихлорметану і через 2години додали до нейтралізації Dowex 50WX8H<sup>+</sup> та профільтрували Випарюванням та очисткою хроматографією на колонці, елюент циклогексан/етилацетат(2/1), отримали сполуку 72 з виходом 100%

ТШХ  $R_f = 0,32$ , циклогексан/етилацетат, 2/1 за об'ємом

Сполука 73 Метилйодид(0,41мл, 6,61ммоль) додали при 0°C до розчину 72(2г, 3,3ммоль) та NaH в 20мл тетрагідрофурану і через 15хвилин продукт екстрагували дихлорметаном та промили розчин водою і сушили сульфатом натрію Випарюванням та очисткою хроматографією на колонці, елюент циклогексан/етилацетат(5/1), отримали чисту сполуку 73 з виходом 89%

$[\alpha]_D + 12^\circ$  (с 1, дихлорметан)

Сполука 74 Водну трифлуороцтову кислоту(70%, 3,14мл) додали до розчину 73(1,76г, 2,84ммоль) в 16мл дихлорметану і через 50хвилин при кімнатній температурі розчин розбавляли дихлорметаном та промили розчин холодним насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$ , водою і сушили сульфатом натрію Випарюванням та очисткою хроматографією на колонці, елюент дихлорметан/ацетон(11/2), отримали сполуку 74 з виходом 88%

$[\alpha]_D + 10^\circ$  (с 1, дихлорметан)

Метил O-(бензил 2,3-ді-O-метил- $\alpha$ -L-ідопіранозилуранат)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,6-ді-O-бензил-3-O-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозид 76 До розчину 74(1,39г, 2,4ммоль) в 8мл тетрагідрофурану додали 2,2,6,6-тетраметил-1-піперидинілокси(37,4мг), насичений водний розчин  $\text{NaHCO}_3$ (14,4мл), бромід калію(120мг) та хлорид тетрабутиламонію(180мг) і охолодили до 0°C

Додали суміш насиченого розчину хлориду натрію(2,8мл), насиченого розчину  $\text{NaHCO}_3$ (1,4мл) і гіпохлорит натрію(1,3М, 3,2мл), а через годину суміш екстрагували дихлорметаном, промивали водою, сушили сульфатом натрію та випарювали, одержавши сирі кислоту 75, яку в 31мл диметилформаміду обробляли бензилбромідом(2,84мл, 23,9ммоль) та  $\text{KHSO}_3$ (1,2г, 12ммоль) Через 16годин продукт екстрагували етилацетатом, промивали водою, сушили сульфатом натрію та випарювали і очисткою хроматографією на колонці, елюент циклогексан/етилацетат(3/2), отримали сполуку 76 з виходом 76% відносно 74

$[\alpha]_D + 7,3^\circ$  (с 1, дихлорметан)

Сполука 77 Триметилсиліл трифлат(170мкл, 0,0068ммоль) додали при перемішуванні під аргоном до охолодженого(-20°C) розчину імідату 70(91мг, 0,097ммоль) та 76(66,2мг, 0,097ммоль) в 2мл дихлорметану з вмістом порошку молекулярних сит(0,4нм) і через 30хвилин додали твердий  $\text{NaHCO}_3$ , перемішували протягом ночі, розчин профільтрували, промили водою, висушили та концентрували Залишок очищали хроматографією на колонці, елюент циклогексан/ацетон(2/1), отримавши чистий 67 з виходом 56%

ТШХ  $R_f = 0,32$  циклогексан/ацетон(2/1)

Октанатрійова сіль метил O-(2,3,4-трі-O-метил-6-O-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3-ді-O-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранонова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-трі-O-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3-ді-O-метил- $\alpha$ -L-ідопіранозилуранонова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O-метил-2,6-ді-O-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозиду 80 Розчин 77(50мг, 0,032ммоль) в диметилформаміді(5мл) перемішували протягом 16годин під слабким током водню у присутності як каталізатору 10% Pd/C(50мг) Після фільтрування та концентрування розчину одержали сполуку 78

До розчину вищезначеної сирови сполуки додали водний NaOH(5М, 0,46мл) в 26мл метанолу, а через 5годин додали до нейтрального рН Dowex 50 і після концентрування розчину залишок перенесли на колонку Sephadex G25 і елювали водою, одержавши концентруванням поєднаних фракцій сирі сполуку 79

Триетиламін-сульфотріоксид(174мг, 0,96ммоль) додали до розчину сполуки 79 у 6мл диметилформаміду та гріли при 55°C протягом 20годин Додали розчинений у воді  $\text{NaHCO}_3$ (0,33мг) та перенесли на урівноважену з 0,2М NaCl колонку Sephadex G25(1,6x100см) Фракції поєднували, концентрували та обезсолювали на тій же урівноваженій з водою фільтраційній колонці Ліофілізацією отримали пентасахарид 80 з виходом 95% відносно 77

$[\alpha]_D + 49^\circ$  (с 1, вода)

Приклад V біологічна активність сполуки згідно з винаходом можна визначити антимікробним аналізом на Ха Активувальний фактор X(Ха) є фактором коагуляційного каскаду Активність сполуки згідно з винаходом проти Ха визначали спектрофотометричним вимірюванням швидкості викликаного Ха гідролізу хромогенного субстрату



s-2222 Цей аналіз активності проти Ха у буферній системі використовували для визначення величини  $IK_{50}$  тест-сполуки Сполука для порівняння бензамідин

Тест-середовище Буфер трометамін-NaCl-поліетиленгліколь 6000(TNP) Середовище Буфер TNP

Солубілізації можна сприяти диметилсульфоксидом, метанолом, етанолом, ацетонтрилом чи трет-бутанолом з несприятливим впливом чи без нього при концентраціях до 1%(для диметилсульфоксиду)та 2,5%(для інших розчинників) у кінцевій реакційній суміші

Виконання Реагенти\*

1 Буфер трометамін-NaCl, склад

Трометамін (Трис) 6,057г(50ммоль)

NaCl 5,844г(100ммоль)

Вода до 1л

pH доводять до 7,4 при 37°C 10мМ HCl

2 Буфер TNP поліетиленгліколь 6000 розчиняють у буфері TN у концентрації 3г/л

3 Розчин s-2222

Ампулу s-2222(15мг, Kabi Diagnostica, Sweden) розчиняють в 10мл води, одержуючи концентрацію 1,5мг/мл(2ммоль/л)

4 Розчин Ха Бичачий фактор Ха людини(71 nKat/ампулу, Kabi Diagnostica) розчинили в 10мл буферу TNP та розбавили 30мл буферу TNP до концентрації 1,77nKat/мл Розведення повинно бути свіжими

Усі використані інгредієнти аналітичної чистоти

Для водних розчинів використано ультрачисту воду (Milli-Q якості)

Виготовлення розчинів тест-сполук та сполуки для порівняння Тест-сполуки та сполуку для порівняння розчинили у воді Milli-Q у концентрації 10-2ммоль/л Кожну концентрацію поетапно розбавляли середовищем до концентрацій 10-3, 10-4 та 10-5 ммоль/л Розбавлення, що використані в аналізі, включаючи вихідний розчин такі 3 10-3, 10-3, 3 10-4, 10-4, 3 10-5, 10-5, 3 10-6 та 10-6 ммоль/л, відповідно

Спосіб При кімнатній температурі 0,075мл та

0,025мл розчини тест-сполуки, сполуки для порівняння чи середовища альтернативно переносили піпеткою в комірку мікротитрувального планшету і розбавляли 0,115мл та 0,0165мл буферу TNP, відповідно Додавали до кожної комірки аликвоти s-2222 по 0,030мл і планшети попередньо нагрівали та інкубували зі струшуванням в інкубаторі(Amersham) протягом 10хвилин при 37°C Гідроліз s-2222 після попереднього інкубування починали додаванням 0,030мл розчину тромбіну до кожної комірки Планшети інкубували зі струшуванням протягом 30с при 37°C Через 1хвилину інкубування протягом 90хвилин поглинання кожного зразку вимірювали при 405нм кожні 2хвилини, використовуючи кінетичний мікро-титрувальний зчитувач(Twinreader plus, Flow Laboratories)

Усі дані збирали на персональний комп'ютер IBM, використовуючи LOTUS-MEASURE

Для кожної концентрації сполуки(у ммоль/л) та поглинання при ній будували криву залежності від часу в хвилинах

Оцінка результатів Для кожної кінцевої концентрації максимальне поглинання розраховували за кривою на графіку Величину  $IK_{50}$ (кінцева концентрація у ммоль/л, що викликає 50% інгібуння максимального поглинання) розраховували, використовуючи логістичний трансформаційний аналіз згідно з Hafner et al , (Arzneim -Aorsch /Drug Res , 1977, 27(II), 1871 - 3)

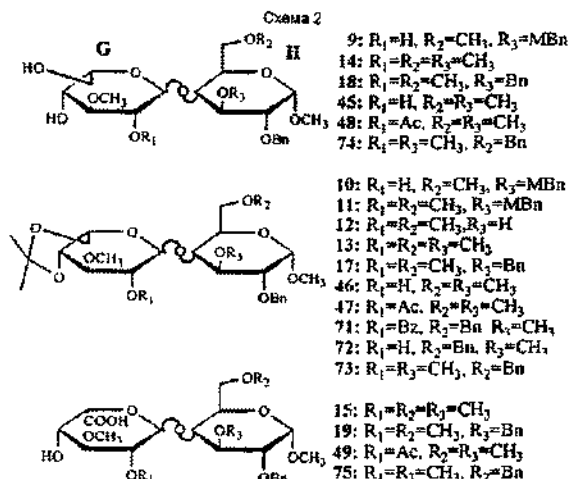
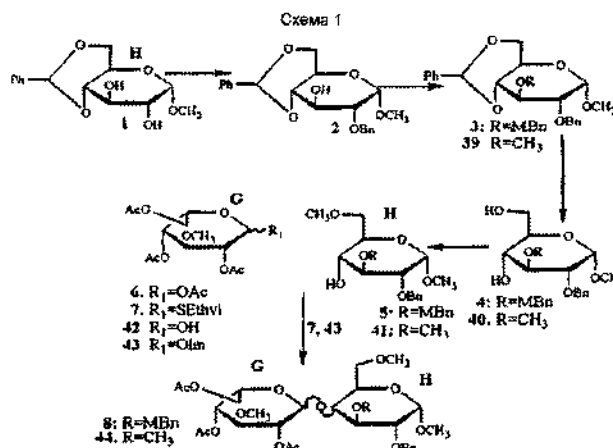
Активність проти фактору Ха

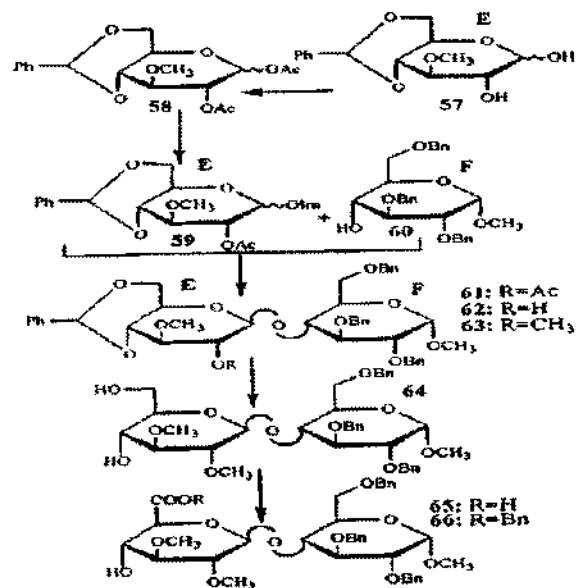
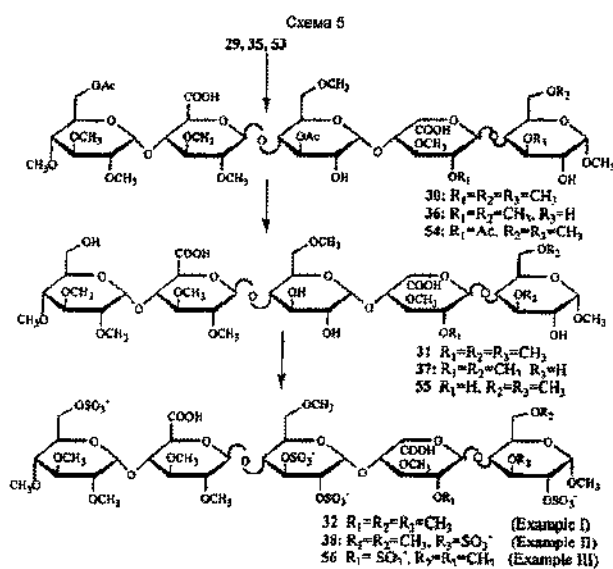
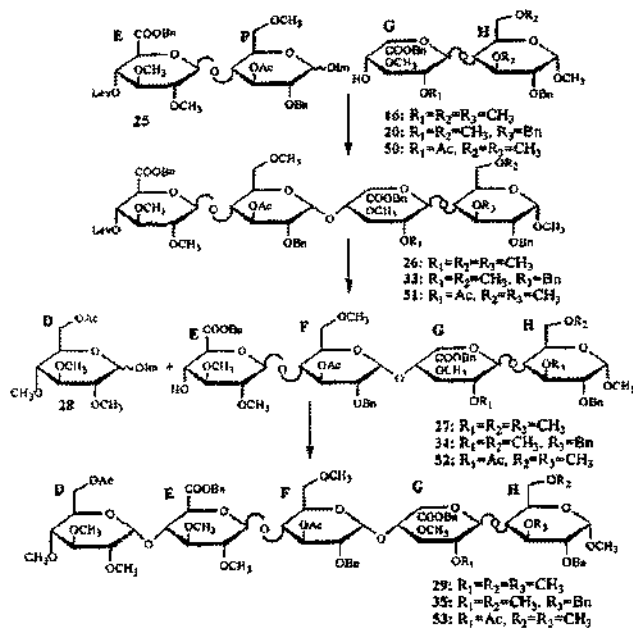
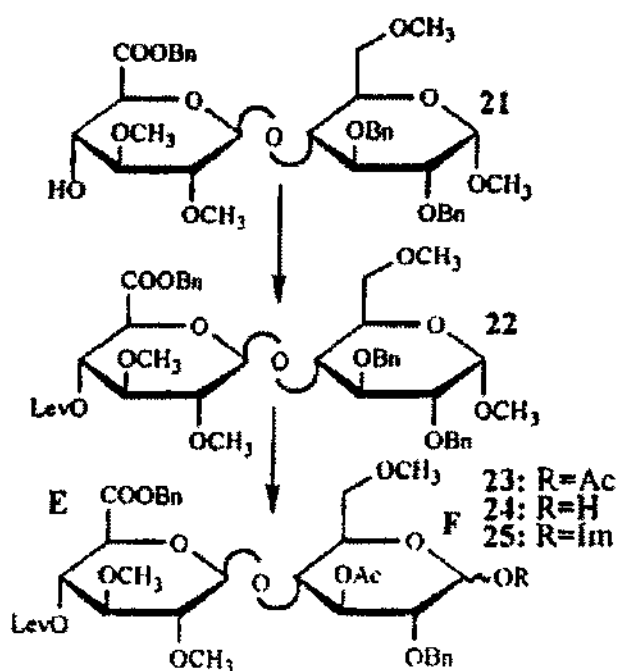
Сполука (приклад)	$IK_{50}$ (мг/л)
32(1)	22
38(2)	12
56(3)	12
80(4)	<2

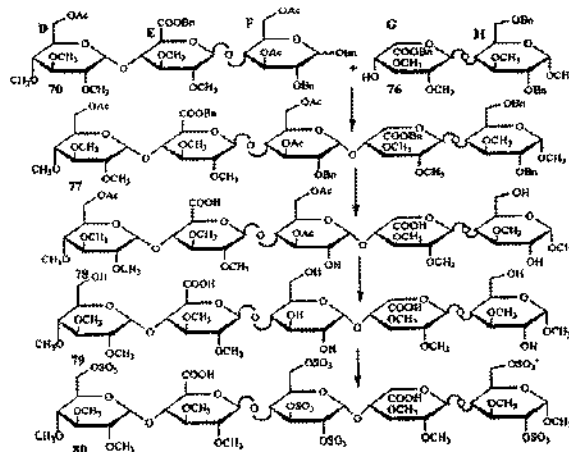
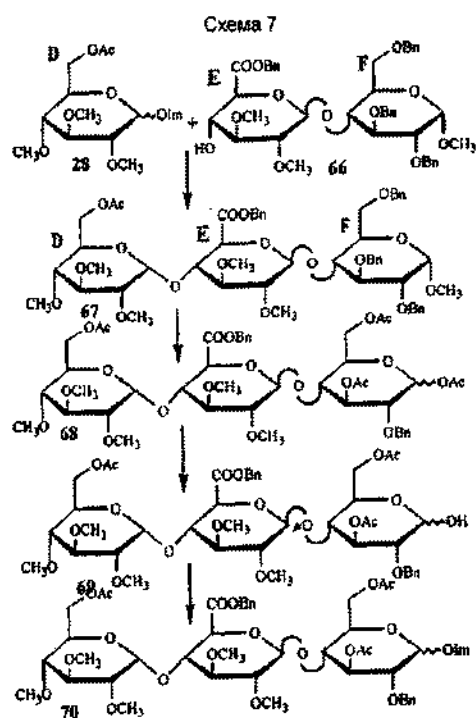
Скорочення

20

Ph - феніл, Me - метил, Ac - ацетил, Me - метил, Im - трихлорацетимідил, Bn - бензил, Bz - бензоіл, Mbn - 4-метоксибензил, Lev - левуліноіл







ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)  
вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна  
(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»  
вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна  
(044) 216 – 32 – 71