



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61124 (13) C2  
(51) 7 C07H15/04, A61K31/70

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПЕНТАСАХАРИДИ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ЩО ЇХ МІСТИТЬ

1

2

(21) 2000074112

(22) 13 01 1999

(24) 17 11 2003

(86) PCT/FR99/00045, 13 01 1999

(31) 98/00514

(32) 19 01 1998

(33) FR

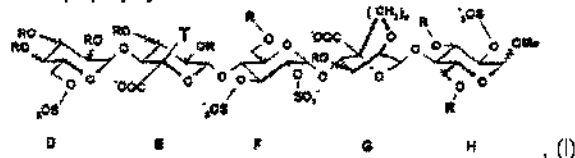
(46) 17 11 2003, Бюл. № 11, 2003 р

(72) Петру Моріс, FR

(73) САНОФІ-СЕНТЕЛЯБО, FR, АКЗО НОБЕЛЬ  
НВ, NL

(56) Sakurai NB et al "Synthesis of a  
Conformationally Constrained Heparin-Like  
Pentasacchande" CHEMISTRY - A EUROPEAN  
JOURNAL, vol 2, no 8, 1996, page 1007-1013

(57) 1 Пентасахарид у формі кислоти або її фар-  
мацевтично прийнятної солі, аніонна форма якого  
має формулу



у якій

R - гідроген або -SO<sub>3</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)алкільна або (C<sub>2</sub>-  
C<sub>3</sub>)ацильна група,

T - гідроген або етильна група,

n=1 або 2

2 Пентасахарид за п 1, який **відрізняється** тим,  
що має форму натрієвої або калієвої солі

3 Пентасахарид за п 1 або п 2, який **відрізняється**  
тим, що його вибрано з групи сполук, яку утво-  
рюють

натрієва сіль метил О-(2,3,4-три-О-метил-6-О-  
сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6-  
ангідро-5-С-карбокси-3-О-метил-β-D-  
манопіранозил)-(1→4)-О-(2,3,6-три-О-сульфо-α-  
D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6'-ангідро-3-О-  
метил-α-L-ідопіранозилуранова кислота)-(1→4)-  
2,3,6-три-О-сульфо-α-D-глюкопіранозиду,  
натрієва сіль метил О-(2,3,4-три-О-метил-6-О-  
сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(5-С-етил-  
2,3-ди-О-метил-β-D-глюкопіранозилуранова кис-  
лота)-(1→4)-О-(2,3,6-три-О-сульфо-α-D-

глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6-ангідро-5-С-  
карбокси-3-О-метил-β-D-манопіранозил)-(1→4)-  
2,3,6-три-О-сульфо-α-D-глюкопіранозиду,  
натрієва сіль метил О-(2,3,4-три-О-метил-6-О-  
сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,3-ди-О-  
метил-β-D-глюкопіранозилуранова кислота)-  
(1→4)-О-(2,3,6-три-О-сульфо-α-D-  
глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6-ангідро-5-С-  
карбокси-3-О-метил-β-D-манопіранозил)-(1→4)-  
2-О-сульфо-3,6-ди-О-метил-α-D-глюкопіранозиду,  
натрієва сіль метил О-(2,3,4-три-О-метил-6-О-  
сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,3-ди-О-  
метил-β-D-глюкопіранозилуранова кислота)-  
(1→4)-О-(2,3,6-три-О-сульфо-α-D-  
глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6-ангідро-5-С-  
карбокси-3-О-метил-β-D-манопіранозил)-(1→4)-  
2,3-ди-О-сульфо-6-О-метил-α-D-глюкопіранозиду,  
натрієва сіль метил О-(2,3,4-три-О-метил-6-О-  
сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,3-ди-О-  
метил-β-D-глюкопіранозилуранова кислота)-  
(1→4)-О-(2,3,6-три-О-сульфо-α-D-  
глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6-ангідро-5-С-  
карбокси-3-О-метил-β-D-манопіранозил)- 2,6-ди-  
О-сульфо-3-О-метил-α-D-глюкопіранозиду і  
натрієва сіль метил О-(2,3,4-три-О-метил-6-О-  
сульфо-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,3-ди-О-  
метил-β-D-глюкопіранозилуранова кислота)-  
(1→4)-О-(2,3,6-три-О-сульфо-α-D-  
глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,7-ангідро-5-С-  
карбокси-6-деокси-3-О-метил-β-D-  
маногептопіранозил)-(1→4)-2,3,6-три-О-сульфо-  
α-D-глюкопіранозиду

4 Фармацевтична композиція, яка містить як акти-  
вний агент пентасахарид за будь-яким з пп 1-3, у  
формі солі з фармацевтично прийнятною основою  
або у формі кислоти у сполученні або у суміші з  
фармацевтично прийнятним нетоксичним напов-  
нювачем

5 Фармацевтична композиція за п 4, яка **відрізня-**

(13) C2

(11) 61124

(19) UA

ється тим, що має форму одиничних доз, у яких активний агент змішано з щонайменше одним фармацевтичним наповнювачем

6 Фармацевтична композиція за п 5, яка відрізняється тим, що одинична доза містить від 0,1мг до 100мг активного агента

7 Фармацевтична композиція за п 6, яка відрізняється тим, що одинична доза містить від 0,5мг до 50мг активного агента

8 Пентасахарид визначений у пп 1-3 для виготовлення ліків проти патологій, пов'язаних з порушенням коагуляційної функції

Винахід стосується пентасахаридів, процедур їх приготування і фармацевтичних композицій, що містять їх

Гепарин є полісахаридом з родини глікозаміногліканів, добре відомий як антикоагулянт. Відомо (I Bjork and U Lindahl, *Molecular and Cell Chemistry* (Хімія молекул і клітин), 1982, Dr W Junk Publishers - Нідерланди), що коагуляція крові є складним фізіологічним явищем. Певні стимули, наприклад, контактне активування і тканевий фактор включають послідовне активування ряду коагуляційних факторів, присутніх у плазмі крові. Незалежно від походження стимулів, кінцеві стадії є ідентичними, активований фактор X (Ха) активує фактор II (відомий також як протромбін), що у активованій формі викликає частковий протеолізис розчинного фібриногену з вивільненням нерозчинного фібрину, який є головним компонентом кров'яного згустка

За нормальних фізіологічних умов активність коагуляційних факторів регулюється протеїнами, наприклад, антитромбіном III (AT III) і кофактором II гепарину (HC II), також присутніми у плазмі. AT III виявляє інгібіторну активність щодо певної кількості коагуляційних факторів, зокрема, факторів Ха і ІІа

Інгибування фактора Ха або фактора ІІа є найкращим засобом для одержання антикоагуляційної і антитромботичної активності, оскільки ці два фактори беруть участь у двох кінцевих стадіях коагуляції незалежно від початкових стимулів

Пентасахарид, описаний, наприклад, у P Sinay et al, *Carbohydrate Research*, 1984, 132 C5, репрезентує мінімальний ряд гепаринів, необхідний для приєднання до AT III. Ця сполука була одержана приблизно 15 років тому повним хімічним синтезом

З того часу повним хімічним синтезом було одержано і описано у літературі певну кількість oligосахаридів, що виявляють антитромботичну і антикоагуляційну активність

У патенті EP 0 084 999 описано похідні, що складаються з моносахаридних ланок уронової кислоти (глюкуронової або ідурунової) і глюкозамінів і мають антитромботичні якості. Окрім компонентів, що містять гідроксильні групи, ці сполуки включають N-сульфатні групи, N-ацетильні групи і, у певних випадках, аномерні гідроксильні групи, заміщені метоксильними групами

У заявці на патент EP 0 165 134 також описано синтетичні антитромботичні oligосахариди. Ці сполуки, що складаються з моносахаридних ланок уронової кислоти і глюкозаміну і містять O-сульфатну групу у 3-й позиції глюкозамінової ланки, описано також у заявці EP 0 301 618. Вони ви-

являють потужні антитромботичні і антикоагуляційні властивості. У патенті EP 0 454 220 описано похідні уронової кислоти і похідні глюкози, які містять як замісники O-алкільні і O-сульфатні групи. Ці сполуки також мають антитромботичні і антикоагуляційні властивості

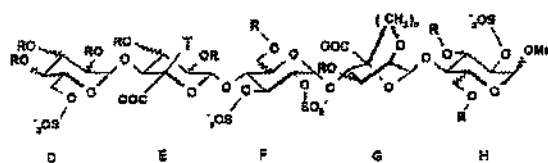
Сульфатовані глікозаміногліканові похідні, у яких N-сульфатні, N-ацетатні або гідроксильні функціональні групи заміщено алкоксильною, арилоксильною, аралкоксильною або O-сульфатною групами також описано у патенті EP 0 529 175. Ці сполуки мають сильну антитромботичну активність і є інгібіторами проліферації клітин гладких м'язів

Oligосахариди і, зокрема, пентасахариди, подібні до мінімальної послідовності гепаринів, потрібної для приєднання до AT III, описано у *Angew Chem Int Ed Engl*, 1993, 32, 3, 434-436. Ці сполуки містять глюкуронову кислоту або ланки глюкози, у яких гідроксильні функції заміщено O-сульфатними або O-метиловою групами

Багатьма дослідженнями пентасахаридів було показано, що конформація ланок G L-ідурунової кислоти грає важливу роль у активності цих сполук. Були описані кілька конформаційних станів для ланки G ( $^4C_1$ ,  $^1C_4$ ,  $^2C_0$ ) і було зроблене припущення, що ця конформаційна гнучкість є суттєвою для біологічної активності продуктів, що містять L-ідурунову кислоту (B Casu, M Petitou, A Provasoli, P, Sinay, *Conformational flexibility: a new concept for explaining binding and biological properties of iduronic acid-containing glycosaminoglycans* (Конформаційна гнучкість: нова концепція для пояснення зв'язуючих і біологічних властивостей глікозаміногліканів, що містять ідурунову кислоту) *Trends Biochem, Sci* 1988, 13, 221-225)

Було виявлено, що заміщення одної з O-алкільних груп алкіленовим містком і, отже, змикання конформації L-ідурунової кислоти породжує oligосахариди, які мають цінні біологічні властивості, але без конформаційної гнучкості. Причиною цього є те, що сполуки згідно з винаходом відрізняються від інших синтетичних гепариноідів, описаних у літературі, структурою і несподівано потужними біологічними якостями. Сполуки згідно з винаходом є пентасахаридами, у яких L-ідурунова ланка G лежить у так званій "блокованій" конформації  $^2S_0$  і у яких ланка E D-глюкуронової кислоти може мати етилову групу у позиції 5. Цим сполукам притаманні дуже сильна активність проти фактора Ха і велика спорідненість до AT III

Винахід стосується, більш конкретно, пентасахариду у кислотній формі і його фармацевтично прийнятних солей, з одним або більше фармацевтично прийнятними катіонами, аніонна форма яких має формулу (I)



(I)

де R - гідроген або  $-\text{SO}_3$ ,  $(\text{C}_1\text{-C}_3)$ алкільна або  $(\text{C}_2\text{-C}_3)$ ацильна група,

T - гідроген або етильна група,  
n=1 або 2

Винахід включає пентасахариди у кислотній формі або у формі фармацевтично прийнятної солі. У кислотній формі функції  $-\text{COO}^-$  і  $-\text{SO}_3^-$  мають форму  $-\text{COOH}$  і  $-\text{SO}_3\text{H}$ , відповідно.

Термін "фармацевтично прийнятна сіль пентасахаридів згідно з винаходом" означає пентасахариди, у яких одна або більше функцій  $-\text{COO}^-$  і/або  $-\text{SO}_3^-$  мають іонний зв'язок з фармацевтично прийнятним катионом металу.

Бажаними солями згідно з винаходом є такі, у яких катіон обрано з катионів лужних металів, і ще краще, ті у яких катионом є  $\text{Na}^+$  або  $\text{K}^+$ .

Винахід також включає процедуру приготування пентасахаридів згідно з винаходом, згідно з якою готують пропрепарат ланки G, який з'єднують з пропрепаратом ланки H і одержують пропрепарат GH, а пентасахарид одержують

або з'єднанням пропрепарату GH з пропрепаратом DEF,

або з'єднанням пропрепарату GH з пропрепаратом EF з подальшим доданням D.

Можна використовувати пропрепарати G, H, EF або DEF. Це означає, що такі процедури уможливають приготування усієї родини пентасахаридів, які містять ланку G або замкнену структуру.

Такі процедури передбачено винаходом, але пентасахариди винаходу можуть бути приготовлені у інші способи, відомі у хімії сахарів, наприклад, реакцією моносахариду, що має захисні групи (описані у T.W. Green, *Protective Groups in Organic Synthesis* (Захисні групи у органічному синтезі), Wiley, N.Y., 1981) на гідроксильних радикалах і, як варіант, на карбоксильних радикалах (якщо вони є), з іншим захищеним моносахаридом з утворенням дисахариду, який потім вводять у реакцію з іншим захищеним моносахаридом і одержують захищений трисахарид, з якого далі можна отримати захищений тетрасахарид і потім захищений пентасахарид.

Після цього захищені пентасахариди позбавляють захисту і, як варіант, сульфатують, або частково знімають захист, потім сульфатують, позбавляючи захисту, і одержують в результаті сполуку згідно з винаходом.

Такі процедури добре відомі у хімії вуглеводнів і описані, зокрема, у G. Jaurand et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1992, 2, 9, 897-900, у J. Basten et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 1992, 2, 9, 905-910 і у M. Pettou and C. A. van Boeckel, "Chemical synthesis of heparin fragment and analogues (Хімічний синтез фрагментів і аналогів гепарину)", 203-210 - *Process in the chemistry of organic natural products* (Процес у хімії органічних природних речовин), Ed. Springer Verlag

Vienna - N.Y. 1992.

Описаний вище процес дає змогу одержати сполуки згідно з винаходом у формі солей. Щоб одержати відповідні кислоти сполуки винаходу у формі солей вводять у контакт з катионообмінною смолою у кислотній формі.

Сполуки винаходу у кислотній формі можуть бути нейтралізовані основою для одержання бажаної солі. Для цього можна використовувати органічні і неорганічні основи, які утворюють фармацевтично прийнятні солі. Бажано використовувати гідроксиди натрію, калію, кальцію або магнію. Бажаними є натрієві і кальцієві солі пентасахаридів.

Сполуки згідно з винаходом мають цінні фармакологічні і біохімічні властивості, зокрема, високу активність проти фактора Ха і велику спорідненість до AT III.

Як уже відзначалось, у коагуляційній послідовності фактор Ха активує протромбін з утворенням тромбіну, який протеолізує розчинний фібриноген з вивільненням нерозчинного фібрину - головного компонента кров'яного згустку. Отже, інгібування фактора Ха є найкращим засобом одержання антикоагуляційної і антитромботичної дії. Активність сполук згідно з винаходом проти фактора Ха оцінювали при pH 7,0 згідно з способом, описаним у Teien A.N. and Lie M., *Thrombosis Research*, 1977, 10, 399-410. Було показано, що активність сполук згідно з винаходом проти фактора Ха є не нижчою за цю активність, виявлену відомими синтетичними гепаринами. Спорідненість пентасахаридів згідно з винаходом, які мають аніон формули (I), до AT III була визначена спектрофлуориметрією за умов, описаних у D. Atha et al., *Biochemistry*, 1987, 26, 6454-6461. Результати тестів підтвердили високу спорідненість сполук згідно з винаходом до AT III.

Крім того, загальна антитромботична активність була вивчена на щурах на моделі венозного стазу з індукцією тромбопластином згідно з методом, описаним у J. Reyers et al., *Thrombosis research*, 1980, 18, 669-674.  $\text{ED}_{50}$  сполук згідно з винаходом була щонайменше того ж порядку або менша, ніж для відомих синтетичних гепаринів. Таким чином, сполуки згідно з винаходом мають цінну специфічність дії і виявляють сильну антикоагуляційну і протитромботичну активність.

Сполуки винаходу можуть бути використані при приготуванні фармацевтичних композицій для парентерального введення. Вони мають дуже низьку токсичність, рівень якої повністю відповідає їх використанню як ліків.

Вони є дуже стабільними і тому придатні для приготування активних ліків.

Винахід включає також фармацевтичні композиції, які містять як активний агент сполуку згідно з винаходом або одну з її фармацевтично прийнятних солей, можливо, у сполученні з одним або

більше придатних інертних наповнювачів

Кожна одинична доза містить активний агент у кількості, що відповідає денній дозі. Кожна одинична доза містить від 0,1 до 100мг, бажано, від 0,5 до 50мг активного компонента

Сполуки згідно з винаходом можуть бути використані у сполученні з одним або більше іншими активними агентами, корисними для бажаної терапії, наприклад, антитромботичними агентами, антикоагулянтами, агентами для запобігання агрегуванню тромбоцитів, наприклад, дипіридамолом, аспірином, тиклопідіном, клопідогрелем або антагоністами глікопротеїнового комплексу IIb/IIIa

Призначенням фармацевтичних композицій є уведення ссавцям, включаючи людину, для лікування вищезгаданих захворювань

Такі фармацевтичні композиції можуть мати різні форми, наприклад, бути питними розчинами або розчинами для ін'єкцій, таблетками з цукровим покриттям, простими таблетками або желатиновими капсулами. Бажаними є розчини для ін'єкцій. Фармацевтичні композиції згідно з винаходом можна використовувати, зокрема, для профілактики або лікування розладів стінок судин, наприклад, атеросклерозу, станів, пов'язаних з підвищеною коагуляцією, наприклад, після хірургічної операції на пухлині або руйнування тромбу, викликаного бактеріальною, вірусною або ферментативною дією

Взагалі, пентасахариди згідно з винаходом можна використовувати для лікування патологій, пов'язаних з коагуляційною дисфункцією

Дозування можна варіювати у широких межах залежно від віку, маси, стану здоров'я, походження і гостроти захворювання і способу уведення. Дозування включає уведення одної або більше денних доз від приблизно 0,5мг до приблизно 1000мг, бажано, від приблизно 1мг до приблизно 100мг, найкраще від приблизно 0,5мг до приблизно 50мг, наприклад, приблизно 20мг внутрішньом'язово або підшкірне серією або через регулярні інтервали, або орально денною дозою від приблизно 200мг до приблизно 1000мг

Звичайно, ці дози для кожного пацієнта можуть бути скориговані залежно від результатів лікування і аналізів крові, зроблених заздалегідь. Бажаним способом уведення є підшкірне

Отже, винахід включає також фармацевтичні композиції, які як активний агент містять одне або більше згаданих вище сполук, як варіант, у сполученні з іншим активним агентом. Ці композиції пристосовують для парентерального уведення або уведення через систему травлення

Фармацевтичні композиції винаходу можна уводити тваринам і людині орально, під'язично, трансдермально, підшкірне, внутрішньом'язово, внутрішньовенно, через слизову, локально або ректально у одиничних формах у суміші з стандартними фармацевтичними допоміжними компонентами. Одиничні форми для уведення включають такі оральні форми, як оральні суспензії, розчини, гранули і порошки, желатинові капсули і таблетки, під'язичні і щічні форми для уведення, підшкірні, внутрішньом'язові, внутрішньовенні, назальні або окові форми і ректальні форми для уведення

При приготуванні твердої композиції у формі

таблеток головний активний інгредієнт змішують з таким фармацевтичним носієм, як желатин, крохмаль, лактоза, стеарат магнію, тальк, гуміарабік тощо. Таблетки можна покривати сахарозою або іншою придатною речовиною або надавати їм затриману або уповільнену активність, щоб вони безперервно вивільняли зумовлену кількість активного агента

Желатинові капсули виготовляють змішуючи активний агент з розріджувачем і заливаючи одержану суміш у м'які або жорсткі желатинові капсули

Водні дисперсії порошків або гранул можуть містити активний інгредієнт, змішаний з диспергуючими або зволожуючими агентами або з суспендуючими агентами, наприклад, полівінілпіролідом, а також з підсолоджувачами або покращувачами смаку

Для ректального уведення використовують супозиторії, які приготовляють з зв'язуючими, що плавляться при ректальній температурі, наприклад з маслом какао або поліетилєнглїколем

Для парентерального, назального або окового уведення використовують водні суспензії, ізотонічні фізіологічні розчини або стерильні розчини для ін'єкцій, які містять фармакологічно придатні диспергуючі і/або зволожуючі агенти, наприклад, пропіленглїколь або бутіленглїколь

Для уведення через слизову активний інгредієнт використовують у суміші з активатором, яким може бути, наприклад, сіл'я жовчної кислоти, такий гідрофільний полімер, як, наприклад, гідроксипропілцелюлоза, гідроксипропілметилцелюлоза, гідроксїетилцелюлоза, етилцелюлоза, карбоксиметилцелюлоза, декстран, полівінілпіролідон, пектини, крохмаль, желатин, казеїн, акрилові кислоти, акрилові естери і їх співполімери, вінілові полімери або співполімери, поліетіленоксидні полімери, вінілові спирти, алкоксильні полімери, поліестери або їх суміші

Активний агент може також мати форму мікрокапсул, як варіант, з одним або більше носіями або добавками

Активний агент може мати форму комплексів з циклодекстрином, наприклад  $\alpha$ -,  $\beta$ - або  $\gamma$ -циклодекстрином, 2-гідроксипропіл- $\beta$ -циклодекстрином або метил- $\beta$ -циклодекстрином

Активний агент можна вивільняти з балону, що містить його, або внутрішньосудинним розширювачем, уведеним у кров'яну судину. Це не впливає на фармакологічну активність активного агента

Наведені далі способи приготування ілюструють синтез різних інтермедіатів, що можуть бути використані для одержання пентасахаридів винаходу

Абревіатури

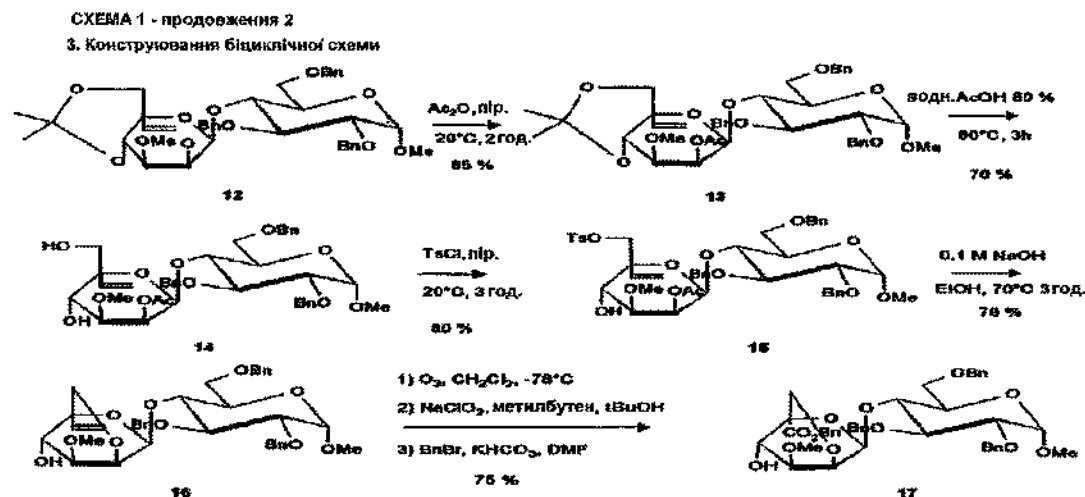
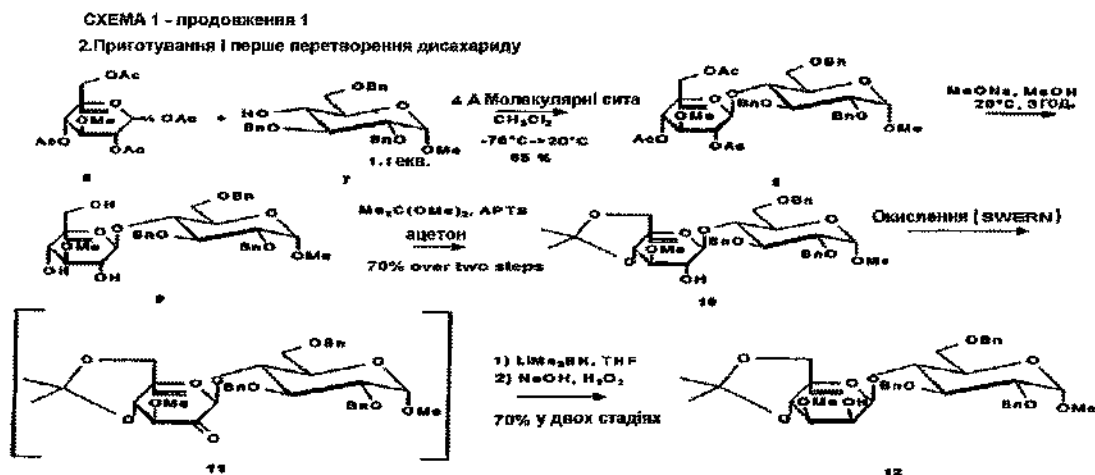
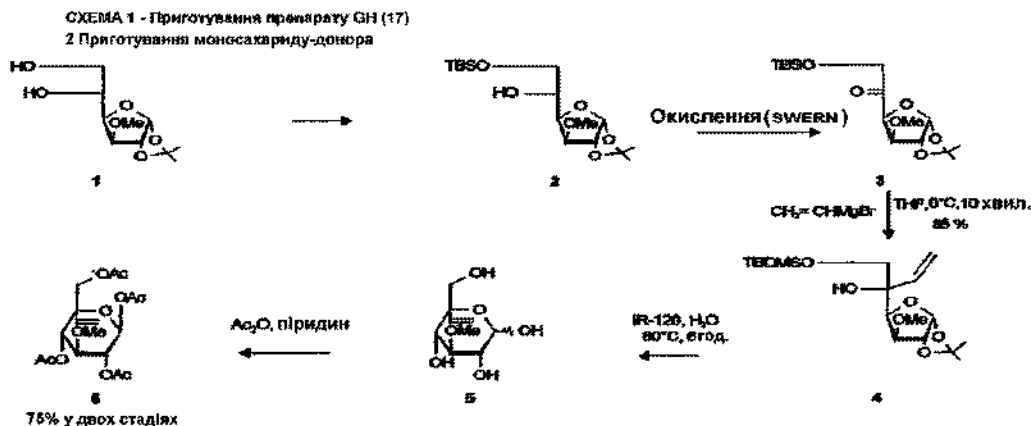
ТБДС - трет-бутилдиметилсиліл, ТШХ - тонкошарова хроматографія, РВМС - рідинна вториніонна мас-спектрометрія, МС - мас-спектрометрія, МСІЕР - мас-спектрометрія з іонізацією електророзпилюванням, ТМС - триметилсиліл, ТСН - триметилсилілтетрадейтеропріонат натрію, МС - молекулярні сита, Тф - трифталат, РМБ - р-метоксїбензил, СЕ - триметилсилілетил

Dowex®, Sephadex®, Chelex®, Toyopearl® - зареєстровані товарні знаки

У описаних далі приготуваннях і прикладах, загальні процедури каталітичного з'єднання імідазів, розщеплення левулінових естерів, каталітичного з'єднання тіопікозидів, сапоніфікації, метилювання і селективного зняття захисту р-метоксибензильної групи, зняття захисту і сульфатування

оліго- і полісахаридів підруванням бензилових естерів або етерів, сапоніфікації естерів або сульфатування можна здійснювати, застосовуючи загальні методи до інтермедіатів

Сполуки винаходу синтезують згідно з приготуваннями, наведеними нижче



Приготування 1  
6-О-трет-бутилдиметилсиліл-1,2-О-ізопропіліден-3-О-метил-α-D-глюкофураноза (2)  
Дію 1 (10г, 42,7ммоль) вносять у безводний ДХМ (100мл) і додають трет-бутилдиметилсилілхлорид (7,1г, 47,3ммоль) і імідазол (5,8г,

85,3ммоль) Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 2 год, після чого розводять ДХМ і промивають водою. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують. Залишок очищують хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 1/9

об'ємн) і одержують бажану речовину 2 (11,9г, 80%) у вигляді сиропу

$[\alpha]_D -34^\circ\text{C}$  (с 1,9,  $\text{CHCl}_3$ )

Приготування 2

6-О-трет-Бутилдиметилсиліл-1,2-О-ізопропіл-іден-3-О-метил-5-С-вініл- $\alpha$ -D-глюкофураноза (4)

Оксалілхлорид (3,2мл, 36,8ммоль) і диметилсульфоксид (5,2мл, 73,4ммоль) при  $-78^\circ\text{C}$  додають до безводного ДХМ (40мл) і суміш перемішують протягом 30хв. Потім додають сполуку 2 (6,4г, 18,4ммоль) і суміш перемішують протягом ще 1год. Додають тріетиламін (15,3мл, 110,0ммоль) і через 30хв. реакційну суміш розбавляють ДХМ. Стандартна обробка дає пентулозну сполуку (3), яку безпосередньо використовують у подальшій реакції. Сирий кетон 3 вносять у безводний ТГФ (100мл) і додають 1М розчин броміду вінілмагнію у ТГФ (28мл, 27,6ммоль) при  $0^\circ\text{C}$ . Через 1год реакційну суміш розбавляють, але не амонійхлоридом, і промивають водою. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують. Залишок очищують хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 1/9, об'ємн) і одержують бажану сполуку 4 (70%, 4,8г) у вигляді сиропу

$[\alpha]_D -40^\circ\text{C}$  (с 1,3,  $\text{CHCl}_3$ )

Аналіз за розрахунком С, 57,72, Н, 9,15

Одержано С, 57,77, Н, 9,23

Приготування 3

1,2,4,6-тетра-О-ацетил-3-О-метил-5-С-вініл-Р-D-глюкопіраноза (6)

Сполуку 4 (3,5г, 9,4ммоль) вносять воду (50мл), додають смола IR-120 (1г) і суміш гріють при  $80^\circ\text{C}$  протягом 6год, смола відфільтровують і фільтрат концентрують. Сирий продукт 5 ацетилують оцтовим ангідридом (12мл) і пиридином (13мл). Надлишок ангідриду знищують метанолом і розчини концентрують, а залишок екстрагують водою і ДХМ. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію, концентрують і після очищення хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 3/2, об'ємн) одержують тетраацетат 6 у вигляді твердої речовини (75%, 2,7г), точка плавл  $50^\circ\text{C}$

$[\alpha]_D -84^\circ\text{C}$  (с 1,6,  $\text{CHCl}_3$ )

Аналіз за розрахунком С, 52,47, Н, 6,19

Одержано С, 52,51, Н, 6,19

CI-MS 406 (M +  $\text{NH}_4$ ), 389 (M + 1)

Приготування 4

Метил 2,3,6-трі-О-бензил-4-О-(2,4,6-трі-О-ацетил-3-О-метил-5-С-вініл- $\beta$ -D-глюкопіранозил)- $\alpha$ -D-глюканозид (8)

Сполуку 6 (1,6г, 4,1ммоль) і сполуку 7 (2,1г, 4,5ммоль) (P.J. Garegg і H. Hultberg, Carbohydr Res 1981, 93, C10) розчиняють у безводному ДХМ (50мл) і додають молекулярні сита (4,0г). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1год і додають TMSOTf (0,95мл, 5,2ммоль) при  $-78^\circ\text{C}$ . Реакційну суміш залишають повільно досягти кімнатної температури, після чого нейтралізують тріетиламіном і фільтрують через Celite. Фільтрат промивають водою, органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують, залишок очищують хроматографією на силікагелі (етилацетат/циклогексан, 4/1, об'ємн) і одержують бажану сполуку 8 (2,77г, 85%) у вигляді твердої речовини з точкою плавл  $47^\circ\text{C}$

$[\alpha]_D -36^\circ\text{C}$  (с 0,6,  $\text{CHCl}_3$ )

Аналіз за розрахунком С, 65,14, Н, 6,61

Одержано С, 65,09, Н, 6,70

Приготування 5

Метил 2,3,6-трі-О-бензил-4-О-(4,6-О-ізопропіліден-3-О-метил-5-С-вініл- $\beta$ -D-глюкопіранозил)- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (10)

Сполуку 8 (2,7г, 3,4ммоль) розчиняють у метанолі (40мл), при  $0^\circ\text{C}$  додають натрій (каталітичний) і суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 3год. Розчинник концентрують і залишок 9 вносять у безводний ацетон (40мл) і 2,2-диметоксипропан (2мл) і додають р-толуолсульфонову кислоту (каталітичну). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом ночі, розчинник випарюють і залишок вносять у хлороформ і промивають водою. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують, залишок очищують хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 1/1, об'ємн) і одержують 4',6'-ізопропіліден-О-похідну 10 (1,7г, 70%) у вигляді твердої речовини. Точка плавл  $55^\circ\text{C}$

$[\alpha]_D -13^\circ\text{C}$  (с 0,8,  $\text{CHCl}_3$ )

Аналіз за розрахунком С, 67,97, Н, 7,13

Одержано С, 67,87, Н, 7,16

CI-MS, 707 (M + 1), 724 (M +  $\text{NH}_4$ )

Приготування 6

Метил 2,3,6-трі-О-бензил-4-О-(4,6-О-ізопропіліден-3-О-метил-5-С-вініл- $\beta$ -D-манопіранозил)- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (12)

Оксалілхлорид (0,35мл, 4,0ммоль) і безводний ДМСО (0,57мл, 8,0ммоль) перемішують у безводний ДХМ (10мл) при  $-78^\circ\text{C}$  протягом 30хв. Додають сполуку 10 (1,4г, 2,0ммоль) у безводний ДХМ (10мл) і продовжують перемішування протягом ще 45хв. Реакційну суміш нейтралізують безводним тріетиламіном (1,7мл, 12,0ммоль) і розбавляють ДХМ. Після промивання водою органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують. Залишок 11 використовують безпосередньо у подальшій реакції без очищення. Кетон 11 вносять у безводний тетрагідрофуран (15мл) і при  $-78^\circ\text{C}$  додають розчин перпидиру у ТГФ (4мл, 4,0ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 1год і додають 5%-й гідроксид натрію (2мл) і гідрогенпероксид (1мл). Розчинник випарюють і залишок вносять у етилацетат і промивають водою. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують, залишок очищують хроматографією (етилацетат/циклогексан, 2/1, об'ємн) і одержують сполуку 12 (1,0г, 70%)

$[\alpha]_D -11^\circ\text{C}$  (с 0,5,  $\text{CHCl}_3$ )

CI-MS 724 (M + 18), 707 (M + 1)

Приготування 7

Метил 2,3,6-трі-О-бензил-4-О-(2-О-ацетил-1-3-О-метил-5-С-вініл- $\beta$ -D-манопіранозил)- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (14)

Сполуку 12 (940мг, 1,3ммоль) розчиняють у пиридині (3мл) і додають оцтовий ангідрид (0,3мл). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 3год, надлишок пиридину і оцтового ангідриду концентрують і залишок 13 використовують безпосередньо для зняття захисту ізопропілідену, використовуючи 80%-у оцтову кислоту (5мл) при  $60^\circ\text{C}$  протягом 2год. Надлишок оц-

тової кислоти випарюють і залишок очищують хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 4:1, об'ємн), одержуючи діол 14 (860мг, 70%) у вигляді твердої речовини з точкою плавл 53°C

$[\alpha]_D -10^\circ\text{C}$  (с 0,8,  $\text{CHCl}_3$ )

CI-МС 709 (M + 18), 726 (M + 18)

Приготування 8

Метил 2,3,6-три-О-бензил-4-О-(2-О-ацетил-3-О-метил-6-О-тозил-5-С-вініл-β-D-мано-піранозил)-α-D-глюкопіраноза (15)

Сполуку 14 (600мг, 0,9ммоль) розчиняють у піридині (3мл) і додають тозилхлорид (240мг, 1,3ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 3год, розчинник випарюють і залишок розбавляють хлороформом і промивають водою. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують, залишок очищують хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 1:1, об'ємн) і одержують тозилу сполуку 15 (297мг, 80%) у вигляді сиропу

$[\alpha]_D -26^\circ\text{C}$  (с 0,8,  $\text{CHCl}_3$ )

Приготування 9

Метил 2,3,6-три-О-бензил-4-О-(2,6-ангідро-3-О-метил-5-С-вініл-β-D-манопіранозил)-α-D-глюкопіранозид (16)

Сполуку 15 (550мг, 0,6ммоль) вносять у етанол (3мл) і додають 0,1N розчин гідроксиду натрію у етанолі (5мл). Реакційну суміш гріють при 70°C протягом 3год, після чого нейтралізують смолою IR-120 (у формі  $\text{H}^+$ ) і фільтрують через Celite. Після концентрації залишок очищують хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 1:1, об'ємн) і одержують сполуку 16 (292мг, 70%) у вигляді сиропу

$[\alpha]_D +13^\circ\text{C}$  (с 0,5,  $\text{CHCl}_3$ )

CI-МС 666 (M + 18)

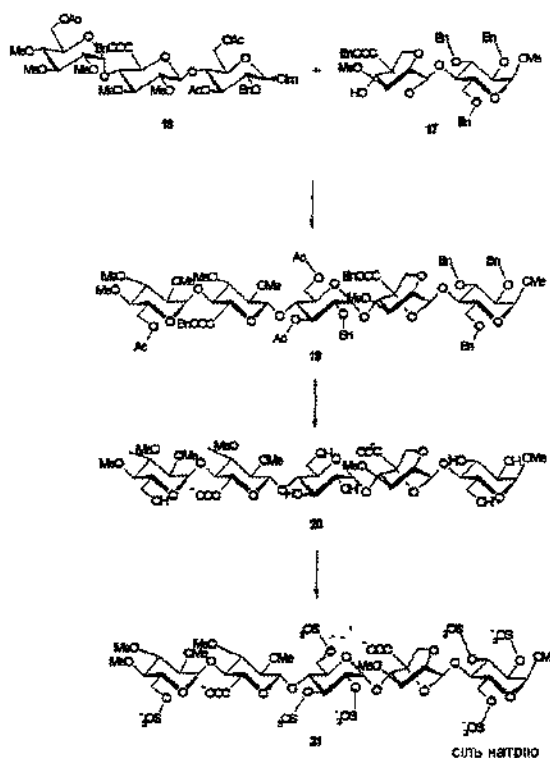
Приготування 10

Метил 2,3,6-три-О-бензил-4-О-(бензил-3-О-метил-2-О-5-С-метиліден-α-L-ідопірануранат)-α-D-глюкопіранозид (17)

Сполуку 16 (260мг, 0,4ммоль) розчиняють у ДХМ (20мл), розчин перемішують при -78°C і бульбашками пропускають озон протягом 30сек. Розчин стає блідо-жовтим. До розчину додають диметилсульфід і потім реакційну суміш промивають водою. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують і подальшу реакцію проводять безпосередньо, без очищення. Сирий альдегід вносять у трет-бутанол (16мл) і додають 2-метил-2-бутен (5мл), воду (16мл),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (700мг) і  $\text{NaClO}_2$  (700мг) і суспензію енергійно перемішують при кімнатній температурі протягом ночі, після чого розбавляють водою і екстрагують етилацетатом. Органічну фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують і безпосередньо проводять наступну реакцію. Сиру кислоту вносять у ДМФ (25мл) і додають іодид тетрабутиламонію (0,7г, 2,0ммоль), бікарбонат калію (0,25г, 2,5ммоль) і бензилбромід (0,250мл, 2,1ммоль). Реакційну суміш перемішують при кімнатній температурі протягом 5год, екстрагують водою і диетилетером, етерову фазу висушують над сульфатом магнію і концентрують. Залишок очищують хроматографією на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 1:1, об'ємн) і одержують похідну 17 (236мг, 80%) у вигляді сиропу

CI-МС 774 (M + 18)

СХЕМА 2: Конденсація імідату DEF (18) з GH (17), зняття захисту і сульфатування



## Приготування 11

Метил О-(6-О-ацетил-2,3,4-три-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(бензил 2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилфуронат)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(3,6-ді-О-ацетил-2-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-5-С-бензилоксикарбоніл-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4) 2, 3,6-три-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (19)

Імідат 18 (Van der Heijden et al, abstr 9th Eur Carbohydr Symp Utrecht July 6-11, 1997, A74, p 154) (81мг, 78,2мкмоль), акцептор 17 (65мг, 86,0мкмоль) і тонкі молекулярні сита (70мг, 4А) перемішують у суміші ДХМ/діетиленер (2,4мл, 1:2 об'ємн) у інертній атмосфері протягом 30хв, після чого додають NaHCO до нейтралізації. Після фільтрування і концентрації залишок очищують на колонці гелю Sephadex® LH 20 (ДХМ/етанол, 1:1, об'ємн) і потім на колонці силікагелю (етилацетат/циклогексан, 1:1, об'ємн) і одержують сполуку 19 (86мг, 67%)

$[\alpha]_D +66^\circ\text{C}$  (с 0,5, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)

Дані спектру <sup>1</sup>H ЯМР наведено у табл 1

## Приготування 12

Метил О-(2,3,4-три-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозил-

уронова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-( $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідо-5-С-карбокси-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (20)

Згідно з M. Petitou і C. A. A. van Boeckel, Progress y Chemistry Organic Natural Products, by W. Herz et al, Vienna, Springer-Verlag, New York, 1992, 143-210

Розчин сполуки 19 (49мг, 30,0мкмоль) у оцтовій кислоті (3мл) перемішують у підсоленій воді (3,5МПа) протягом 12год при 40°C у присутності 5% паладію на вуглі (73мг), після чого суміш фільтрують через Celite, концентрують і співдистилують водою (4х5мл). Залишок розчиняють у водному 1М розчині NaOH і гріють при 55°C протягом 3год. Розчин охолоджують і пропускають через колонку Sephadex® 625 F (170мл) з елюванням водою. Фракції, що містять сполуку 20, пропускають через колонку смоли Dowex H<sup>+</sup>. Елюат концентрують і одержують сполуку 20 (25мг, 86%)

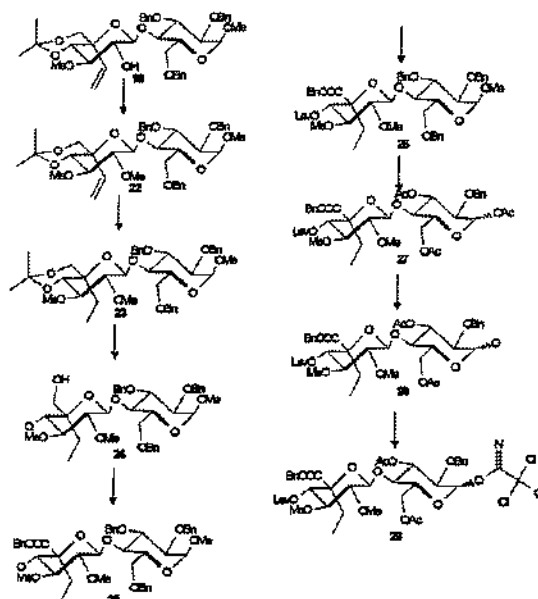
$[\alpha]_D +105^\circ\text{C}$  (с 1,0, H<sub>2</sub>O)

Дані <sup>1</sup>MP наведено у табл 1

ТАБЛИЦЯ 1

Сполука	Одиниця	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	J <sub>1,2</sub> (Гц)
19 (CDCl <sub>3</sub> )	D	5,50	3,11	3,37	3,03	3,43	4,28	4,22	3,7
	E	4,14	2,93	3,31	3,92	3,83	-	-	~9
	F	4,93	3,45	5,41	3,63	3,94	4,58	4,19	3,6
	G	5,18	3,83	3,12	4,12	-	4,10	3,93	~1
	H	4,53	3,51	4,01	3,78	3,80	3,83	3,61	3,6
20 (D <sub>2</sub> O)	D	5,50	3,33	3,49	3,30	3,50	3,74	3,74	3,9
	E	4,62	3,26	3,58	3,90	4,04	-	-	7,9
	F	5,13	3,58	3,76	3,61	-	3,70 to 3,90	-	4,1
	G	5,23	4,35	3,71	4,20	-	4,25	4,10	~1
	H	4,32	3,64	3,34	3,73	-	3,70 to 3,90	-	3,7

СХЕМА 3. Приготування донорного EF, дисахариду 29





## Приготування 13

Метил О-(4,6-О-ізопропіліден-2,3-ді-О-метил-5-С-вініл-β-D-глюкопіранозил)-(1→4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозид (22)

Гідрид натрію (0,31г, 13,0ммоль) при 0°C додають до розчину метил О-(4,6-О-ізопропіліден-3-О-метил-5-С-вініл-β-D-глюкопіранозил)-(1→4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозиду (10) (6,11г, 8,65ммоль) і метиліодиду (0,80мл, 13,0ммоль) у N,N-ДМФ (9,00мл). Суміш залишають перемішуватись на 2год (ТШХ), потім додають метанол і реакційну суміш впливають у воду. Суміш екстрагують етилацетатом і екстракти промивають водою, висушують і концентрують. Залишок очищують на колонці силікагелю (циклогексан/діетилетер, 3 2, об'ємн.) і одержують сполуку 22 (5,92г, 88%) ТШХ Rf=0,28, (циклогексан/діетилетер, 3 2, об'ємн.)

## Приготування 14

Метил О-(4,6-О-ізопропіліден-2,3-ді-О-метил-5-С-етил-β-D-глюкопіранозил)-(1→4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозид (23)

Оксид платини (160мг) додають до розчину 22 (5,80г, 8,04ммоль) у етилацетаті (400мл) і уводять водень. Суміш залишають перемішуватись на 40хв (ТШХ), фільтрують і після випарювання одержують сполуку 23 ТШХ Rf=0,80 (толуол/етилацетат, 4 1, об'ємн.)

## Приготування 15

Метил О-(2,3-ді-О-метил-5-С-етил-β-D-глюкопіранозил)-(1→4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозид (24)

Сиру сполуку 23 розчиняють у 70%-й оцтовій кислоті (60мл) і перемішують при 80°C протягом 2год, суміш концентрують у вакуумі, випарюють з толуолом і одержують сполуку 24 ТШХ Rf=0,52 (ДХМ/метанол, 4 1, об'ємн.)

## Приготування 16

Метил О-(бензил-2,3-ді-О-метил-5-С-етил-β-D-глюкопіранозилуронат)-(1→4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозид (25)

2,2,6,6-тетраметил-1-піперидилокси (17,5мг), розчин гідрокарбонату натрію (17,5мл), бромід калію (87мг) і хлорид тетрабутиламонію (115,5мг) додають до розчину сполуки 24 (5,75г) у ТГФ (28мл). Суміш охолоджують до 0°C і протягом 15хв додають насичений розчин хлориду натрію (17мл), насичений розчин гідрокарбонату натрію (8,70мл) і піохлорит натрію (1,3М, 20мл). Після перемішування протягом 1год суміш розбавляють водою і екстрагують (тричі) ДХМ, органічну фазу промивають водним розчином хлориду натрію, висушують над сульфатом магнію, фільтрують і випарюють до сухості, одержуючи сиру похідну кислоти.

Похідну кислоти розчиняють у N,N-ДМФ (107мл) у атмосфері нітрогену, додають гідрокарбонат калію (4,10г) і бензилбромід (9,70мл), суміш перемішують протягом 16год, додають етилацетат і воду і після екстрагування концентрують органічну фазу. Очищення хроматографією на колонці силікагелю дасть 3,81г сполуки 25 (60%-й вихід з сполуку 23)

[α]<sub>D</sub> +24 (c=0,15, ДХМ)

## Приготування 17

Метил О-(бензил-5-С-етил-4-О-левулініл-2,3-ді-О-метил-β-D-глюкопіранозил-уронат)-(1-4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозид (26)

Сполуку 25 (3,51г, 4,46ммоль) розчиняють у безводному діоксані (45мл) і додають левулінілову кислоту (1,00г, 8,93ммоль), підрохлорид 1-(3-диметиламінопропіл)-3-етилкарбодіімиду (1,70г, 8,93ммоль) і 4-диметиламінопіридин (0,11г, 8,93ммоль). Суміш залишають перемішуватись на 16год, після чого екстрагують етилацетатом. Екстракти промивають послідовно 5%-м розчином піросульфату калію, водою, насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію і водою, висушують і концентрують. Залишок очищують на колонці силікагелю (циклогексан/етилацетат, 2 1, потім 3 2, об'ємн.) і одержують чисту сполуку 26 (3,64г, 85%)

[α]<sub>D</sub> +26 (c=0,9, ДХМ)

## Приготування 18

О-(бензил 5-С-етил-4-О-левулініл-2,3-ді-О-метил-β-D-глюкопіранозилуронат)-(1→4)-1,3,6-трі-О-ацетил-2-О-бензил-β-D-глюкопіраноза (27)

Сполуку 26 (3,35г, 3,78ммоль) розчиняють у оцтовому ангідриді (22мл), розчин охолоджують до -20°C і додають 22мл холодного розчину 1мл сульфурової кислоти у 10мл оцтового ангідриду. Суміш розбавляють етилацетатом, промивають насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію і водою, висушують і концентрують. Залишок очищують на колонці силікагелю (циклогексан/етилацетат, 1 1, об'ємн.) і одержують сполуку 27 (2,20г, 65,5%) ТШХ Rf=0,24 (циклогексан/етилацетат, 1 1, об'ємн.)

## Приготування 19

О-(бензил 5-С-етил-4-О-левулініл-2,3-ді-О-метил-β-D-глюкопіранозилуронат)-(1→4)-3,6-ді-О-ацетил-2-О-бензил-β-D-глюкопіраноза (28)

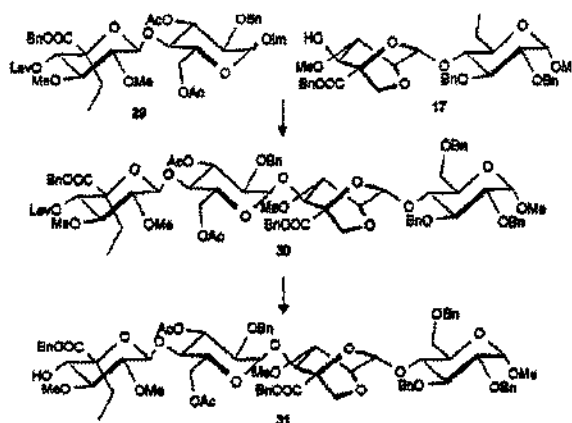
Бензиламін (11мл, 101,4ммоль) додають до розчину сполуки 27 (2,18г, 2,67ммоль) у ТГФ (50мл) і суміш залишають перемішуватись на 4год, після чого екстрагують етилацетатом, екстракти промивають водним розчином підрохлоридної кислоти (102мл) і водою, висушують і концентрують. Залишок очищують на колонці силікагелю (толуол/етилацетат, 1 1, об'ємн.) і одержують суміш (α/β=50/50) сполуки 28 (1,33г, 65%) ТШХ Rf=0,22 толуол/етилацетат, 1 1, об'ємн.)

## Приготування 20

О-(бензил 5-С-етил-4-О-левулініл-2,3-ді-О-метил-β-D-глюкопіранозилуронат)-(1→4)-3,6-ді-О-ацетил-2-О-бензил-β-D-глюкопіранозитрихлорацетат (29)

Сполуку 28 (1,32г, 1,71ммоль) розчиняють у ДХМ (34мл) і додають трихлорацетонітрил (0,87мл, 8,50ммоль) і карбонат цезію (0,90г, 2,73ммоль) у аргоні. Суміш залишають перемішуватись на 2год (ТШХ), після чого фільтрують, залишок очищують на колонці силікагелю (циклогексан/етилацетат, 3 2, об'ємн.) і одержують суміш (α/β=85/15) імідатів 29 (1,20г, 77%) ТШХ Rf=0,36 (циклогексан/етилацетат, 1 2, об'ємн.)

СХЕМА 4: Приготування тетрасахариду-ацетатора 31



## Приготування 21

Метил О-(бензил 5-С-етил-4-О-левулініл-2,3-ді-О-метил-β-D-глюкопіранозилуронат)-(1→4)-О-(3,6-ді-О-ацетил-2-О-бензил-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6-ангідро-5-С-бензилоксикарбоніл-3-О-метил-β-D-манопіранозил)-(1→4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозид (30)

Розчин трет-бутилдиметилсилілтрифлату у ДХМ (1М, 0,19мл) додають у аргоні при -20°C до розчину імідату 29 (1,19г, 1,29ммоль) і 2,3,6-трі-О-бензил-4-(бензил 3-О-метил-2-О-5-С-метиліден-α-L-ідопірануронат)-α-D-глюкопіранозиду метилу 17 (1,02г, 1,35ммоль) у толуолі (40мл) у присутності молекулярного сита 4Å (1,93г). Через 30хв (ТШХ) додають розчин трет-бутилдиметилсилілтрифлату у ДХМ (1М, 0,19мл) і через 30хв (ТШХ) додають твердий гідрокарбонат натрію. Розчин фільтрують, промивають водою, висушують і випарюють до сухості. Залишок очищують хроматографією на колонці Sephadex® LH20 і на колонці силікагелю (толуол/етилацетат, 2:1, об'єм).

емн) і одержують чистий тетрасахарид 30-а (1,14г, 58%)

$[\alpha]_D +47$  (с=0,21, ДХМ)

## Приготування 22

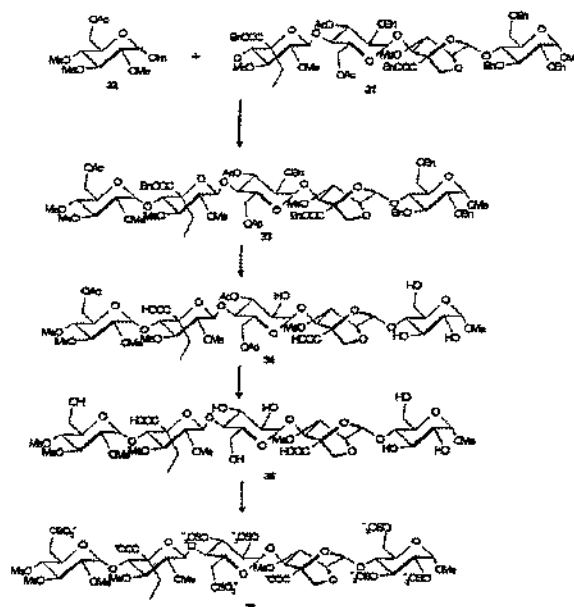
Метил О-(бензил 5-С-етил-2,3-ді-О-метил-β-D-глюкопіранозилуронат)-(1→4)-О-(3,6-ді-О-ацетил-2-О-бензил-α-D-глюкопіранозил)-(1→4)-О-(2,6-ангідро-5-С-бензилоксикарбоніл-3-О-метил-β-D-манопіранозил)-(1→4)-2,3,6-трі-О-бензил-α-D-глюкопіранозид (31)

Сполуку 30 (1,13г, 0,75ммоль) розчиняють у суміші етанол/толуол (150мл, 2:1, об'єм) і додають піразинацетат (0,35г, 3,73ммоль). Суміш залишають перемішуватись на 1 год, після чого концентрують. Залишок очищують на колонці силікагелю (толуол/етилацетат, 3:2, об'єм) і одержують сполуку 31 (0,816г, 83%)

$[\alpha]_D +35$  (с=1,01, ДХМ)

СХЕМА 5: З'єднання тетрасахариду EFGH (31) з глікозил-донором

D (31), зняття захисту і сульфатування



## Приготування 23

Метил О-(6-О-ацетил-2,3,4-трі-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(бензил 5-С-етил-2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранат)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(3,6-ді-О-ацетил-2-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-5-С-бензілоксикарбоніл-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-трі-О-бензил- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (33)

Трихлорацетимідат 6-О-ацетил-2,3,4-трі-О-метил-D-глюкопіранози 32 (34,7мг, 0,0245ммоль) (P Westerduin et al, BioOrg Med Chem, 1994, 2, 1267) і акцептор глікозилу 31 (80мг, 0,056ммоль) обробляють як у приготуванні 21. Сполуку очищують на колонці Sephadex® LH-20 хроматографією (ДХМ/етанол, 1:1, об'ємн.) і потім на колонці силікагелю (дізпропіловий етер/етилацетат, 3:2, об'ємн.) і одержують похідну 33 (54,6мг, 58%)

$[\alpha]_D^{+55}$  (с=1, ДХМ)

## Приготування 24

Метил О-(6-О-ацетил-2,3,4-трі-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(5-С-етил-2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(3,6-ді-О-ацетил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(4)-О-(2,6-ангідро-5-С-карбокси-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(11 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (34)

Розчин сполуки 33 (40мг, 0,024ммоль) у оцтовій кислоті (2мл) перемішують у атмосфері водню у присутності 10% паладію вуглі (80мг) протягом 16год, фільтрують і концентрують, одержуючи сполуку 34

## Приготування 25

Метил О-(2,3,4-трі-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(5-С-етил-2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-( $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-5-С-карбокси-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -

## D-глюкопіранозид (35)

Водний розчин (5М) гідроксиду натрію (216мкл) додають до розчину сирої сполуки 34 у метанолі (866мкл). Через 25год додають воду і реакційну суміш пропускають через колонку гелю Sephadex® G-25 (2x38см), потім розбавляють водою, елюат концентрують і пропускають через колонку Dowex® 50 H<sup>+</sup> (2мл) і висушують виморожуванням. На цій стадії видалення захисних груп перевіряють через <sup>1</sup>H ЯМР

## Приклад 1

Метил О-(2,3,4-трі-О-метил-6-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-елюкопіранозилуранова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-3-О-метил- $\alpha$ -L-ідопіранозилуранова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозид (21)

Згідно з C. A. A. van Boeckel, M. Petitou, Angew Chem Int Ed Engl, 1993, 32, 1671-1690

Розчин сполуки 20 (20мг, 20,7мкмоль) і тріетиламіні/сульфуртриоксидного комплексу (164мг, 0,90мкмоль) у ДМФ (2мл) гріють при 55°C протягом 18год 30хв, захищаючи від світла. Далі реакційну суміш охолоджують до кімнатної температури і розбавляють водним 0,2М розчином NaCl. Потім розчин вносять у верхню частину колонки Sephadex® G25F (170мл) і елюють водним 0,2М розчином NaCl

Фракції, що містять пентасахарид, концентрують і виділяють сінь, використовуючи ту ж колонку з елюентом водою. Висушування виморожуванням дає сполуку 21 (30,5мг, 85%)

$[\alpha]_D^{+49}$  (с=0,63, H<sub>2</sub>O)

Дані <sup>1</sup>H ЯМР наведено у табл. 2

ТАБЛИЦЯ 2

Сполука	Одиниця	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	J <sub>1,2</sub> (Гц)
21 (DaO)	D	5,46	3,32	3,55	3,34	3,87	4,28	4,12	3,9
	E	4,66	3,26	3,53	3,89	3,73	-	-	7,9
	F	5,50	4,36	4,81	4,00	4,17	4,49	4,41	3,7
	G	5,49	4,41	3,73	4,17	-	4,24	4,09	~1
	H	5,16	4,36	4,52	4,01	4,08	4,41	4,30	3,7

## Приклад 2

Натрієва сіль метил О-(2,3,4-трі-О-метил-6-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(5-С-етил-2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуранова кислота)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-5-С-карбокси-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозиду (36)

Тріетиламіні/сульфуртриоксидний комплекс (91мг) додають до розчину сирої сполуки 35 у ДМФ

(1,3мл). Через 20год при 55°C розчин вносять у верхню частину колонки Sephadex® G-25 (2x38см) і елюють 0,2М хлоридом натрію. Фракції, що містять бажаний продукт, концентрують і видаляють сінь на тій же колонці, елюючи водою. Висушування виморожуванням дає сполуку 36 (21,9мг, 52% з сполуки 33). Дані <sup>1</sup>H ЯМР наведено у табл. 3

ТАБЛИЦЯ 3

	H-1 (J <sub>1,2</sub> Гц)	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	Інші
D	5,43 (3,9)	3,28	3,53	3,30	4,02	4,27	4,14	
E	4,68 (8,1)	3,27	3,60	3,98	-	-	-	2,041/1,80 CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> 09,4 CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>

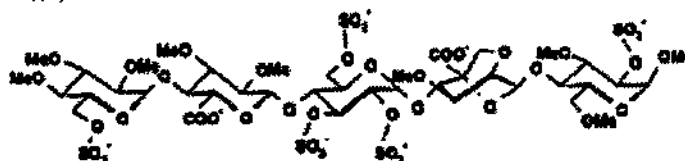
F	5,50 (3,7)	4,35	4,50	3,84	4,07	4,61	4,30	
	H-1 ( $J_{1,2}$ Гц)	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	Інші
G	5,47 (1,1)	4,39	3,72	4,16	-	4,23	4,08	
H	5,16 (3,7)	4,36	4,81	4,00	4,17	4,50	4,39	

Сполуки 37-40 Прикладів 3-6 готують за процедурою Прикладів 1, 2. Одержані спектри  $^1\text{H}$  ЯМР для цих сполук сумісні з наведеними нижче структурами.

#### Приклад 3

Натрієва сіль метил О-(2,3,4-трі-О-метил-6-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуринової кислоти)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-5-С-карбокси-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-О-сульфо-3,6-ді-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозиду (37)

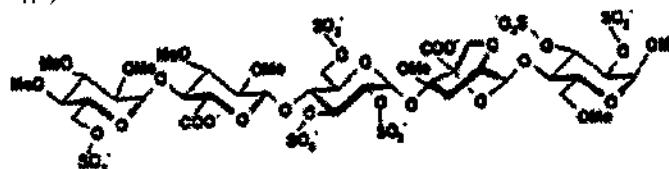
$[\alpha]_D^{+51^\circ\text{C}}$  (с=0,48, вода)



#### Приклад 4

Натрієва сіль метил О-(2,3,4-трі-О-метил-6-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуринової кислоти)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-5-С-карбокси-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3-ді-О-сульфо-6-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозиду (38)

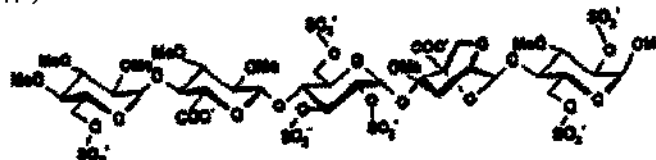
$[\alpha]_D^{+57^\circ\text{C}}$  (с=0,28, вода)



#### Приклад 5

Натрієва сіль метил О-(2,3,4-трі-О-метил-6-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуринової кислоти)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,6-ангідро-5-С-карбокси-3-О-метил- $\beta$ -D-манопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,6-ді-О-сульфо-3-О-метил- $\alpha$ -D-глюкопіранозиду (39)

$[\alpha]_D^{+53^\circ\text{C}}$  (с=0,3, вода)



#### Приклад 6

Натрієва сіль метил О-(2,3,4-трі-О-метил-6-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(11 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3-ді-О-метил- $\beta$ -D-глюкопіранозилуринової кислоти)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-О-(2,7-ангідро-5-С-карбокси-6-деокси-3-О-метил- $\beta$ -D-маногептопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-трі-О-сульфо- $\alpha$ -D-глюкопіранозиду (40)  $[\alpha]_D^{+49^\circ\text{C}}$  (с=0,25, вода)

