

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **191098**

(21) Numer zgłoszenia: **341874**

(13) **B1**

(22) Data zgłoszenia: **13.01.1999**

(51) Int.Cl.<sup>8</sup>

(86) Data i numer zgłoszenia międzynarodowego:  
**13.01.1999, PCT/FR99/00045**

**C07H 15/04**

**C08B 37/00**

**A61K 31/70**

**A61P 7/02**

(87) Data i numer publikacji zgłoszenia międzynarodowego:  
**22.07.1999, WO 99/36428**  
**PCT Gazette nr 29/99**

(54) **Pentasacharyd, kompozycja farmaceutyczna zawierająca ten pentasacharyd oraz jego zastosowanie**

(30) Pierwszeństwo:  
**19.01.1998, FR, 98/00514**

(73) Uprawniony z patentu:  
**SANOFI-AVENTIS, Paryż, FR**

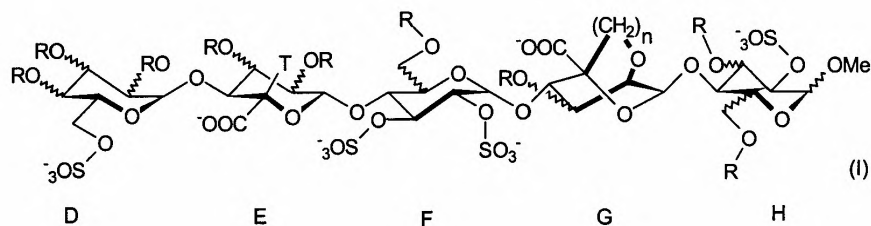
(43) Zgłoszenie ogłoszono:  
**07.05.2001 BUP 10/01**

(72) Twórca(y) wynalazku:  
**Maurice Petitou, Paryż, FR**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:  
**31.03.2006 WUP 03/06**

(74) Pełnomocnik:  
**Skulimowska-Makówka Iwona,  
POLSERVICE Sp. z o.o.**

(57) 1. Pentasacharyd w postaci kwasu lub jego soli farmaceutycznie dopuszczalnych, którego postać anionowa ma wzór:



w którym:

- R oznacza wodór, grupę  $-SO_3^-$ , grupę alkilową ( $C_1-C_3$ ) lub grupę acylową ( $C_2-C_3$ );
- T oznacza wodór lub grupę etylową;
- n oznacza 1 lub 2.

PL 191098 B1

## Opis wynalazku

Niniejszy wynalazek dotyczy pentasacharydu, kompozycji farmaceutycznej zawierającej ten pentasacharyd oraz jego zastosowania.

Heparyna jest polisacharydem z grupy glikozaminoglikanów, znanych z własności przeciwkoagulacyjnych. Wiadomo jest, że (I. Björk et U. Lindahl, *Molecular and Cellular Biochemistry*, 1982, Dr. W. Junk Publishers - Holandia) krzepnięcie krwi jest złożonym zjawiskiem fizjologicznym. Pewne bodźce, takie jak aktywacja kontaktowa i czynnik tkankowy, wywołują kolejną aktywację szeregu czynników krzepliwości krwi obecnych w osoczu krwi. Jakakolwiek byłaby natura bodźców, etapy końcowe są takie same, czynnik X aktywności (Xa) aktywuje czynnik II (zwany również protrombiną), który w formie aktywowanej (czynnik IIa, zwany również trombiną) wywołuje częściową proteolizę rozpuszczalnego fibrynogenu z uwolnieniem nierozpuszczalnej fibryny, który jest jednym z głównych składników skrzepu krwi.

W normalnych warunkach fizjologicznych aktywność czynników krzepliwości krwi regulowana jest przez proteiny takie jak, antytrombina III (AT III) i kofaktor II heparyny (HC II), które są również obecne w osoczu. AT III wywiera działanie hamujące na pewną liczbę czynników krzepliwości krwi, a zwłaszcza na czynniki Xa i IIa.

Inhibicja czynnika Xa lub czynnika IIa jest więc korzystna dla uzyskiwania działania przeciwkoagulacyjnego i przeciwzakrzepowego, ponieważ te dwa czynniki działają w dwóch ostatnich etapach koagulacji, które są niezależne od bodźca wywołującego.

Pentasacharyd, opisany przez P. Sinay et al., *Carbohydrate Research* 1984, 132 C5, reprezentuje minimalną sekwencję heparyny konieczną dla połączenia do AT III. Związek taki otrzymano około piętnaście lat temu za pomocą całkowitej syntezy chemicznej.

Od tego czasu w literaturze opisano pewną liczbę oligosacharydów syntetycznych, otrzymanych za pomocą całkowitej syntezy chemicznej i mających działania przeciwkoagulacyjne i przeciwzakrzepowe.

Opis patentowy EP 0 084 999 opisuje pochodne składające się z jednostek monosacharydowych kwasowych uronowych (glukuronowego lub iduronowego) i glukozaminy, które mają pożądane własności przeciwzakrzepowe. Poza podstawnikami złożonymi z grup hydroksy, związki te zawierają grupy N-siarczanowe, grupy N-acetylowe i w pewnych przypadkach, grupy anomeryczne hydroksy są zastąpione przez grupy metoksy.

W zgłoszeniu patentowym EP 0 165 134 opisano również oligosacharydy syntetyczne mające działanie przeciwzakrzepowe. Związki te składające się z jednostek monosacharydowych kwasowych uronowych i glukozaminy, i zawierające w pozycji 3 jednostki glukozaminy grupę O-siarczanową, opisano również w zgłoszeniu EP 0 301 618. Te związki mają silne własności przeciwkoagulacyjne i przeciwzakrzepowe. Patent EP 0 454 220 opisuje pochodne kwasów uronowych i glukozy, pochodnych, które zawierają jako podstawniki grupy O-alkilową lub O-siarczanową. Te ostatnie związki również mają własności przeciwkoagulacyjne i przeciwzakrzepowe.

Pochodne siarczanowe glikozaminoglikanoidów, w których grupy funkcyjne N-siarczanowa, N-octanowa lub hydroksy zastąpiono przez grupy alkoksy, aryloksy, aralkiloksy lub O-siarczanowe, również opisano w patencie EP 0 529 175. Związki te mają interesujące własności przeciwzakrzepowe. Te ostatnie są również inhibitorami proliferacji komórek mięśni gładkich.

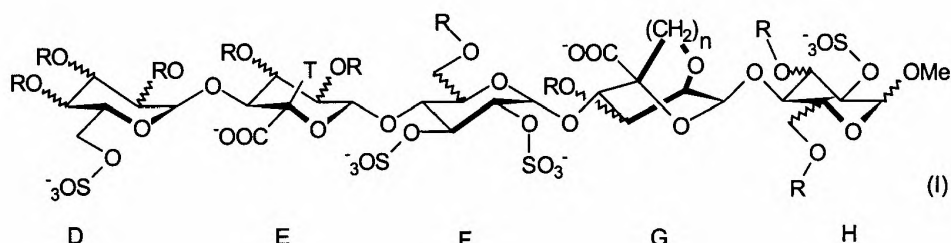
Oligosacharydy, i zwłaszcza pentasacharydy, które są analogami minimalnej sekwencji heparyny koniecznej dla połączenia z AT III, opisano w *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1993, 32, 3, 434-436. Związki te zawierają jednostki kwasu glukuronowego lub glukozy, których funkcje hydroksy zastąpiono przez grupy O-siarczanową lub O-metylową.

Odtąd prowadzono liczne badania dotyczące pentasacharydów i wskazano w literaturze, że konformacja jednostki kwasowej L-iduronowej G odgrywa ważną rolę w aktywności tych produktów. Opisano wiele stanów konformacyjnych dla jednostki G ( ${}^4C_1$   ${}^1C_4$ ,  ${}^2S_0$ ) i zasugerowano, że ta elastyczność konformacyjna ma zasadnicze znaczenie dla aktywności biologicznej produktów zawierających kwas L-iduronowy (B. Casu, M. Petitou, A. Provasoli i P. Sinay, *Conformational flexibility: a new concept for explaining binding and biological properties of iduronic acid-containing glycosaminoglycans*. *Trends Biochem. Sci.* 1988, 13, 221-225).

Obecnie nieoczekiwano stwierdzono, że zastępując jedną z grup O-alkilowych przez mostek alkilenowy, a więc blokując konformację kwasu L-iduronowego, otrzymuje się oligosacharydy mające pożądane własności biologiczne, chociaż pozbawione elastyczności konformacyjnej. Faktycznie, związki niniejszego wynalazku różnią się od innych syntetycznych heparynoidów opisanych w literaturze oryginalnymi nowymi strukturami i nieoczekiwanymi, silnymi własnościami biologicznymi. Związki

według wynalazku są pentasacharydami, których jednostka L-iduronowa G jest w konformacji  ${}^2S_0$  zwanej "zablokowaną", w której jednostka kwasowa D-glukuronowa E ewentualnie ma w pozycji 5 grupę etylową. Te związki mają bardzo silne działanie przeciw czynnikowi Xa i duże podobieństwo do AT III.

Przedmiotem niniejszego wynalazku jest szczególnie pentasacharyd w formie kwasowej i jego sole akceptowane farmaceutycznie z jednym lub kilkoma kationami akceptowanymi farmaceutycznie, którego postać anionowa ma wzór (I):



w którym:

- R oznacza wodór, grupę  $-SO_3^-$ , grupę alkilową ( $C_1-C_3$ ) lub grupę acylową ( $C_2-C_3$ );
- T oznacza wodór lub grupę etylową;
- n oznacza 1 lub 2.

Wynalazek obejmuje pentasacharydy w postaci kwasowej lub w postaci soli akceptowanej farmaceutycznie. W postaci kwasowej, funkcje  $-COO^-$  i  $-SO_3^-$  są odpowiednio w postaci  $-COOH$  i  $-SO_3H$ .

Przez sól pentasacharydów wynalazku akceptowaną farmaceutycznie rozumie się, pentasacharydy, w których jedna lub kilka funkcji  $-COO^-$  lub/i  $-SO_3^-$  są połączone w sposób jonowy z kationem metalu akceptowanego farmaceutycznie.

Korzystne sole według wynalazku są to sole, których kation wybiera się z kationów metali alkalicznych, a jeszcze korzystniej, sole, których kationem jest  $Na^+$  lub  $K^+$

Sposób otrzymywania powyższych pentasacharydów polega na tym, że otrzymuje się prekursor jednostki G, który łączy się na prekursorze jednostki H w celu otrzymania prekursora GH, a pentasacharyd otrzymuje się ostatecznie: bądź łącząc prekursor GH na prekursorze DEF, bądź łącząc prekursor GH na prekursorze EF, następnie dodając D.

Można stosować jakikolwiek prekursor G, H, EF lub DEF. Oznacza to, że według tych sposobów można otrzymać całą grupę pentasacharydów mających wspólnie jednostkę G konfiguracji zablokowanej.

Sposób opisany powyżej jest korzystnym sposobem wg. wynalazku. Jednakże pentasacharydy wg. wynalazku można otrzymać za pomocą innych znanych sposobów w chemii cukrów, a zwłaszcza reakcji monosacharydu zawierającego grupy ochronne, takie jak opisane przez T.W. Greena, w Protective Groups in Organic Synthesis (Wiley, N.Y. 1981), na resztach hydroksy i ewentualnie na resztach karboksy, jeśli one są, z innym monosacharydem chronionym, w celu utworzenia disacharydu, i następnie jego reakcji z innym monosacharydem chronionym w celu utworzenia trisacharydu chronionego, na bazie którego można otrzymać tetrasacharyd chroniony, następnie pentasacharyd chroniony.

Pentasacharydy chronione są następnie pozbawiane grup ochronnych i ewentualnie siarczanowane lub najpierw częściowo pozbawiane grup ochronnych, następnie siarczanowane, a następnie pozbawiane grup ochronnych, w celu otrzymania związków według wynalazku.

Takie sposoby znane są w chemii cukrów, a szczególnie opisane przez G. Jauranda et al. w Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 1992, 2, 9, 897-900, przez J. Bastena et al. w Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 1992, 2, 9, 905-910 i przez M. Petitou i C.A.A. van Boeckel w "Chemical synthesis of heparin fragment and analogues" 203-210 - Progress in the chemistry of organic natural products, Ed. Springer Verlag Wien - N.Y. 1992.

Sposób opisany powyżej umożliwia otrzymanie związków według wynalazku w postaci soli. Dla otrzymania odpowiednich kwasów, związki według wynalazku w postaci soli, poddaje się kontaktowi z żywicą kationową w postaci kwasowej.

Związki według wynalazku w postaci kwasów można następnie zubożnić za pomocą zasady w celu otrzymania pożądanego soli.

Aby to zrealizować można zastosować każdą zasadę organiczną lub nieorganiczną, prowadzącą do soli akceptowanych farmaceutycznie.

Korzystnie stosuje się wodorotlenek sodowy, potasowy, wapniowy lub magnezowy. Solami korzystnymi są sole sodowe i wapniowe pentasacharydów według wynalazku.

Związki będące przedmiotem niniejszego wynalazku mają istotne własności farmakologiczne i biochemiczne. Szczególniej mają one silne działanie przeciw czynnikowi Xa i duże podobieństwo do AT III.

Jak wspomniano o tym poprzednio, czynnik Xa aktywuje w kaskadzie koagulacji protrombinę w trombinę, która proteolizuje fibrynogen rozpuszczalny z uwolnieniem fibryny nierozpuszczalnej, głównego składnika skrzepu krwi.

Inhibicja czynnika Xa stanowi więc korzystny środek uzyskiwania działania przeciwkoagulacyjnego i przeciwzkrzepowego. Działanie przeciw czynnikowi Xa produktów wynalazku oceniono przy pH 7, stosując sposób opisany przez Teien A.N. i Lie M., w *Thrombosis Research* 1977, 10, 399-410 oraz wykazano, że produkty wynalazku mają działanie przeciw-Xa równe działaniu znanych już heparynoidów syntetycznych lub silniejsze od nich. Podobieństwo pentasacharydów według wynalazku, których anion ma wzór (I), do AT III określono za pomocą spektrofluorymetrii, w warunkach opisanych przez D. Atha et al. w *Biochemistry* 1987, 26, 6454-6461. Wyniki badań wykazały, że związki według wynalazku mają bardzo duże podobieństwo do AT III. Ponadto, ogólne działanie przeciwzkrzepowe tych związków oceniono u szczura za pomocą modelu zastoju żylnego i indukcji za pomocą tromboplastyny, według sposobu opisanego przez J. Reyersa et al. w *Thrombosis Research* 1980, 18, 669-674.  $DE_{50}$  związków według wynalazku jest przynajmniej tego samego rzędu co  $DE_{50}$  innych znanych już heparynoidów syntetycznych lub mniejsze od niego. Związki według wynalazku charakteryzują się więc interesującymi specyfiką działania oraz działaniem przeciwkoagulacyjnym i przeciwzkrzepowym. Związki według wynalazku stosuje się do otrzymywania kompozycji farmaceutycznych podawanych drogą pozajelitową. Związki według wynalazku są bardzo mało toksyczne; ich toksyczność można doskonale pogodzić ze stosowaniem ich jako leki. Związki wynalazku są bardzo stabilne, a zatem są szczególnie odpowiednie do tworzenia czynników aktywnych leków.

Wynalazek obejmuje również kompozycje farmaceutyczne zawierające jako czynnik aktywny związek według wynalazku lub jedną z jego soli akceptowanych farmaceutycznie, ewentualnie w połączeniu z jednym, odpowiednim, obojętnym nośnikiem lub wieloma nośnikami.

W każdej dawce jednostkowej czynnik aktywny jest obecny w ilościach dostosowanych do przewidywanych dawek dziennych. Każda dawka jednostkowa zawiera od 0,1 do 100 mg czynnika aktywnego, korzystnie od 0,5 do 50 mg.

Związki według wynalazku można również stosować w połączeniu z innym czynnikiem aktywnym lub kilkoma czynnikami aktywnymi, użytecznymi w pożądanym leczeniu, takimi jak na przykład, środki przeciwzkrzepowe, środki przeciwkoagulacyjne, środki przeciwdziałające zlepianiu się płytek krwi, takie jak na przykład, dipirydamol, aspiryna, tiklopidyna, clopidogrel lub środki o działaniu antagonistycznym kompleksu glukoproteidu IIb/IIIa.

Kompozycje farmaceutyczne są opracowane do podawania ssakom, w tym człowiekowi, w celu leczenia wyżej wymienionych chorób.

Kompozycje farmaceutyczne otrzymane w ten sposób mają korzystnie różne formy, takie jak na przykład, roztwory do wstrzykiwania i picia, drażetki, tabletki lub kapsułki. Roztwory do wstrzykiwania są korzystnymi formami farmaceutycznymi. Kompozycje farmaceutyczne niniejszego wynalazku są szczególnie użyteczne w zapobieganiu zaburzeniom ścianki naczyniowej i w ich leczeniu, chodzi tu o takie zaburzenia jak miażdżyca tętnic, stany nadkrzepliwości obserwowane na przykład w następstwie operacji chirurgicznych rozwiniętych stanów nowotworowych lub zaburzenia koagulacji, wywołane przez aktywatory bakteryjne, wirusowe lub enzymatyczne.

Nowe pentasacharydy według wynalazku są stosowane do wytwarzania leku do leczenia patologii związanych z zaburzeniem koagulacji.

Dawkowanie leku może być bardzo różne w zależności od wieku, masy ciała, stanu zdrowia pacjenta, rodzaju schorzenia i tego, jak jest ono ciężkie, jak również drogi podawania. Dawkowanie to obejmuje podawanie jednej lub więcej niż jednej dawki od około 0,5 mg do 1000 mg dziennie, korzystnie od około 1 do 100 mg dziennie, korzystniej od około 0,5 do 50 mg dziennie, na przykład rzędu 20 mg dziennie, drogą domięśniową lub drogą podskórną, stosując podawanie ciągłe lub w regularnych okresach czasu lub jedną dawkę dzienną rzędu od 200 mg do 1000 mg dziennie drogą doustną.

Przykładową kompozycją do dawki do iniekcji 0,5 ml może być: jako związek aktywny (z przykładu 1) - 2,5 mg NaOH lub HCl do ustawienia pH=6-7,5.

Woda odpowiednia do iniekcji do dopełnienia do 0,5 ml.

Oczywiście dawki te można ustalić dla każdego pacjenta zależnie od obserwowanych wyników i analiz krwi uprzednio przeprowadzonych.

Korzystną drogą jest podawanie podskórne.

Przedmiotem niniejszego wynalazku są więc również kompozycje farmaceutyczne, które zawierają jako czynnik aktywny związki przedstawione powyżej, ewentualnie w połączeniu z innym czynnikiem aktywnym. Kompozycje te wytwarza się w sposób umożliwiający podawanie ich drogą trawienną lub pozajelitową.

W kompozycjach farmaceutycznych niniejszego wynalazku do podawania doustnego podjęzykowego, podskórnego, domięśniowego, dożylnego, przezskórnego, przezśluzowego, miejscowego lub odbytniczego, składnik aktywny można podawać zwierzętom i ludziom w jednostkowych formach podawania w mieszaninie z typowymi nośnikami farmaceutycznymi. Odpowiednie jednostkowe formy podawania obejmują formy podawane drogą doustną, takie jak tabletki, kapsułki, leki w proszku, granulki oraz roztwory i zawiesiny doustne, formy podawania podjęzykowego i policzkowego, formy podawania podskórnego, domięśniowego, dożylnego, donosowego lub doocznego oraz formy podawania odbytniczego.

Przy otrzymywaniu stałej kompozycji w formie tabletek, miesza się główny czynnik aktywny z podłożem farmaceutycznym, takim jak żelatyna, skrobia, laktoza, stearynian magnezowy, talk, guma arabska lub tym podobne. Można powlec tabletki sacharozą lub innymi odpowiednimi materiałami lub prócz tego można poddać je obróbce w taki sposób, aby miały one przedłużone lub opóźnione działanie i aby uwalniały w sposób ciągły określoną ilość czynnika aktywnego.

Mieszając składnik aktywny z rozcieńczalnikiem i wlewając otrzymaną mieszaninę w miękkie lub twarde kapsułki uzyskuje się preparat w kapsułkach.

Leki w proszku lub granulki dyspergujące w wodzie mogą zawierać składnik aktywny w mieszaninie ze środkami dyspergującymi lub środkami zwilżającymi lub środkami wprowadzającymi w stan zawiesiny, jak poliwinylpirolidon, jak również ze środkami słodzącymi lub korektorami smaku.

W przypadku podawania odbytniczego, stosuje się czopki, które otrzymuje się z środkami wiążącymi rozpuszczającymi się w temperaturze odbytu, na przykład masłem kakaowym lub glikolami polietylenowymi.

W przypadku podawania pozajelitowego, donosowego lub doocznego, stosuje się zawiesiny wodne, solne roztwory izotoniczne lub roztwory sterylne i wstrzykiwalne, które zawierają środki dyspergujące i/lub środki zwilżające kompatybilne pod względem farmakologicznym, na przykład, glikol propylenowy lub glikol butylenowy.

W przypadku podawania przezśluzowego czynnik aktywny można sformułować w obecności promotora, takiego jak sól żółciowa, hydrofilowego polimeru, takiego jak na przykład, hydroksypropylceluloza, hydroksypropylometyloceluloza, hydroksyetyloceluloza, etyloceluloza, karboksymetyloceluloza, dekstran, poliwinylpirolidon, pektyny, skrobie, żelatyna, kazeina, kwasy akrylowe, estry akrylowe i ich kopolimery, polimery i kopolimery winylowe, alkohole winylowe, alkoksypolimery, polimery politlenku etylenu, polietery oraz ich mieszanina.

Czynnik aktywny może również być sformułowany w formie mikrokapsulek, ewentualnie z jednym nośnikiem lub dodatkiem lub kilkoma nośnikami lub dodatkami.

Czynnik aktywny może również być obecny w formie kompleksu z cyklodekstryną, na przykład  $\alpha$ ,  $\beta$  lub  $\gamma$  cyklodekstryna, 2-hydroksypropylo- $\beta$ -cyklodekstryna lub metylo- $\beta$ -cyklodekstryna.

Czynnik aktywny można również uwolnić przez balonik zawierający go lub przez ekspander umiejscowiany w naczyniu wprowadzony w naczynia krwionośne. Skuteczność farmakologiczna czynnika aktywnego nie ulega zmianie w trakcie tego zabiegu. Korzystną drogą podawania jest podawanie drogą podskórną.

Następujące sposoby, etapy otrzymywania i schematy ilustrują syntezę różnych związków pośrednich stosowanych w otrzymywaniu pentasacharydów według wynalazku. Stosuje się następujące skróty: TBDMS: tert-butyldimetylosilyl; Lev: levulinyl; Bn: benzyl; Bz: benzoil; CCM: chromatografia cienkowarstwowa; Olm: trichloroacetimidyl; LSIMS: jest angielskim skrótem Liquid Secondary Ion Mass Spectrometry; ESIMS: jest angielskim skrótem Electron Spray Ionisation Mass Spectrometry; TMS: trimetylosilyl; TSP: trimetylsilylo tetradeuterio propionian sodowy; Tf: triflate; MS: sito molekularne; Ali: allil; PMB: p-metoksybenzyl; SE: trimetylosilyloetyl. Dowex<sup>®</sup>, Sephadex<sup>®</sup>, Chelex<sup>®</sup>, Toyopearl<sup>®</sup> są znakami handlowymi zastrzeżonymi. W sposobach, etapach otrzymywania i przykładach opisanych poniżej można realizować, stosując ogólne sposoby przedstawione poniżej dla związków pośrednich, ogólne metody dotyczące połączenia katalitycznego imidates, rozpadu estrów lewulinowych, połączenia katalitycznego tioglikozydów, zmydlania, metylowania i selektywnego usuwania grupy p-metoksy-

benzylowej, grup ochronnych i siarczanowania oligo- i polisacharydów przez hydrogenolizę estrów i eterów benzylowych, zmydlania estrów lub ponadto siarczanowania.

Związki niniejszego wynalazku są syntetyzowane według różnych sposobów otrzymywania opisanych poniżej.

#### Otrzymywanie 1

##### 6-O-Tert-butylo-dimetylosilylo-1,2-O-izopropylideno-3-O-metylo- $\alpha$ -D-glukofuranoza (2)

Glikol 1 (10 g, 42,7 mmol) rozpuszcza się w bezwodnym dwuchlorometanie (100 ml) i dodaje się chlorek tert-butylo-dimetylosilylu (7,1 g, 47,3 mmol) i imidazol (5,8 g, 85,3 mmol). Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze otoczenia. Po 2 godzinach mieszaninę rozcieńcza się w dwuchlorometanie i przemywa wodą. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zatęża i oczyszcza się pozostałość za pomocą chromatografii na kolumnie z żelom krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 1/9 udziały objętościowe) w celu otrzymania pożądanego produktu 2 (11,9 g, 80 %) w postaci syropu.

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

#### Otrzymywanie 2

##### 6-O-Tert-butylo-dimetylosilylo-1,2-O-izopropylideno-3-O-metylo-5-C-winylo- $\alpha$ -D-glucofuranoza (4)

Dodaje się w  $-78^\circ\text{C}$  w bezwodnym dwuchlorometanie (40 ml) chlorek oksalilu (3,2 ml, 36,8 mmol) i dwumetylosulfotlenek (5,2 ml, 73,4 mmol) oraz miesza się w ciągu 30 minut. Następnie dodaje się związek 2 (6,4 g, 18,4 mmol) i miesza się mieszaninę jeszcze w ciągu 1 godziny. Następnie dodaje się trójetyloaminę (15,3 ml, 110,0 mmol), a następnie po 30 minutach mieszaninę reakcyjną rozcieńcza się w dwuchlorometanie. Typowa obróbka umożliwia otrzymanie związku 5-uloś (3), który stosuje się bezpośrednio do następnej reakcji. Rozpuszcza się nieprzetworzony keton w bezwodnym czterohydrofuranie (100 ml) i dodaje się 1M roztwór bromku winylomagnezowego w czterohydrofuranie (28 ml, 27, mmol) w  $0^\circ\text{C}$ . Po 1 godzinie mieszaninę reakcyjną rozcieńcza się nie chlorkiem amonowym i przemywa wodą.

Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zatęża i oczyszcza się pozostałość za pomocą chromatografii na kolumnie z żelom krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 1/9 udziały objętościowe) w celu otrzymania pożądanego związku 4 (70 %, 4,8 g) w postaci syropu.

$[\alpha]_D -40^\circ\text{C}$  (c 1,9,  $\text{CHCl}_3$ ).

Anal. Obliczona: C, 57,72, H, 9,15.

Znaleziony: C, 57,77, H, 9,23.

#### Otrzymywanie 3

##### 1,2,4, 6-Tetra-O-acetylo-3-O-metylo-5-C-winylo- $\beta$ -D-glukopiranoza(6)

Rozpuszcza się związek 4 (3,5 g, 9,4 mmol) w wodzie (50 ml); dodaje się żywicę IR-120 (1 g) i ogrzewa się w  $80^\circ\text{C}$  w ciągu 6 godzin. Żwicę filtruje się, a filtrat zatęża się. Nieprzetworzony produkt 5 acyluje się stosując bezwodnik octowy (12 ml) i pirydynę (13 ml). Nadmiar bezwodnika octowego likwiduje się metanolem i zatęża się rozpuszczalniki. Pozostałość ekstrahuje się za pomocą wody i dwuchlorometanu. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zatęża i po oczyszczeniu za pomocą chromatografii na kolumnie z żelom krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 3/2 udziały objętościowe), otrzymuje się związek cztero-octan 6 w postaci ciała stałego (75 %, 2,7 g). Temperatura topnienia  $50^\circ\text{C}$ .

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

Anal. Obliczona: C, 52,47, H, 6,19.

Znaleziony: C, 52,51, H, 6,19.

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

#### Otrzymywanie 4

Metylo 2,3,6-tri-O-benzyl-4-O-(2,4,6-tri-O-acetylo-3-O-metylo-5-C-winylo- $\beta$ -D-glukopiranozylo)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (8)

Związek 6 (1,6 g, 4,1 mmol) i związek 7 (2,1 g, 4,5 mmol) P.J. Garegg i H. Hultberg, Carbohydr. Res. 1981, 93, C10, rozpuszcza się w bezwodnym dwuchlorometanie (50 ml) i dodaje się sito molekularne (4,0 g). Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu jednej godziny, następnie dodaje się TMSOTf (0,95 ml, 5,2 mmol) w  $-78^\circ\text{C}$ . Następnie pozostawia się mieszaninę reakcyjną, aby wolno doszła do temperatury otoczenia. Po 2 godzinach mieszaninę reakcyjną zobojętnia się za pomocą trójetyloaminy i filtruje na celicę; filtrat przemywa się wodą. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zatęża i pozostałość oczyszcza się za pomocą chromatografii na kolum-

nie z żelazem krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 4/1 udziały objętościowe) w celu otrzymania pożądanego związku 8 (2,77 g, 85 %), w postaci ciała stałego. Temperatura topnienia 47°C.

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

Anal. Obliczona: C, 65,14, H, 6,61.

Znaleziony: C, 65,09, H, 6,70.

Otrzymywanie 5

Metylo 2,3,6-O-tri-O-benzylo-4-O-(4,6-O-izopropylideno-3-O-metylo-5-C-winylo- $\beta$ -D-glukopiranozylo)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (10)

Związek 8 (2,7 g, 3,4 mmol) rozpuszcza się w metanolu (40 ml). Dodaje się sól (katalityczny) w 0°C i miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu 3 godzin. Rozpuszczalnik zatęże się, a pozostałość 9 rozpuszcza się w bezwodnym acetonie (40 ml) i dodaje się 2,2-dwumetoksypropan (2 ml) i kwas p-toluenosulfonowy (katalityczny). Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu jednej nocy. Rozpuszczalnik odparowuje się, pozostałość rozpuszcza się w chloroformie i przemywa wodą. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zatęże i pozostałość oczyszcza się za pomocą chromatografii na kolumnie z żelazem krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 1/1 udziały objętościowe) w celu otrzymania pochodnej 4',6' izopropylidenu-O-10 (1,7 g, 70%) w postaci ciała stałego. Temperatura topnienia 55°C.

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

Anal. Obliczona: C, 67,97, H, 7,13.

Znaleziony: C, 67,87, H, 7,16.

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

Otrzymywanie 6

Metylo 2,3,6-tri-O-benzylo-4-O-(4,6-O-izopropylideno-3-O-metylo-5-C-winylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (12)

Miesza się chlorek oksalilu (0,35 ml, 4,0 mmol) i bezwodny DMSO (0,57 ml, 8,0 mmol) w bezwodnym dwuchlorometanie (10 ml) w -78°C w ciągu 30 minut. Związek 10 (1,4 g, 2,0 mmol) w bezwodnym dwuchlorometanie (10 ml) dodaje się do roztworu i jeszcze miesza się w ciągu 45 minut. Mieszaninę reakcyjną zobojętnia się przez dodanie bezwodnej trójetyloaminy (1,7 ml, 12,0 mmol), a następnie rozcieńcza się za pomocą dwuchlorometanu. Po przemyciu wodą, fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zatęże i pozostałość 11 stosuje się bezpośrednio do następnej reakcji bez oczyszczania. Keton 11 rozpuszcza się w bezwodnym czterohydrofuranie (15 ml) i dodaje się 1N roztwór super wodorku w czterohydrofuranie (4 ml, 4,0 mmol) w -78°C. Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu 1 godziny, a następnie dodaje się 5% wodorotlenek sodowy (2 ml) i nadtlenek wodoru (1 ml). Rozpuszczalnik odparowuje się i pozostałość rozpuszcza się za pomocą octanu etylu i przemywa wodą. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zatęże i pozostałość oczyszcza się za pomocą chromatografii (octan etylu/cykloheksan 2/1 udziały objętościowe) w celu otrzymania związku 12 (1,0 g, 70 %).

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

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

Otrzymywanie 7

Metylo 2,3,6-tri-O-benzylo-4-O-(2-O-acetylo-3-O-metylo-5-C-winylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (14)

Związek 12 (940 mg, 1,3 mmol) rozpuszcza się w pirydynie (3 ml) i dodaje się bezwodnik octowy (0,3 ml). Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu 3 godzin. Nadmiar pirydyny i bezwodnika octowego zatęże się i pozostałość 13 stosuje się bezpośrednio do usuwania grup ochronnych izopropylidenu, stosując 80% kwas octowy (5 ml) w 60°C w ciągu 2 godzin. Nadmiar kwasu octowego odparowuje się i pozostałość oczyszcza się za pomocą chromatografii na kolumnie z żelazem krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 4/1 udziały objętościowe) w celu otrzymania glikolu 14 (660 mg, 70 %) w postaci ciała stałego. Temperatura topnienia 53°C.

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

CI-MS : 709 (M + 1), 726 (M + 18).

Otrzymywanie 8

Metylo 2,3,6-tri-O-benzylo-4-O-(2-O-acetylo-3-O-metylo-6-O-tosylo-5-C-winylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)- $\alpha$ -D-glukopiranoza (15)

Związek 14 (600 mg, 0,9 mmol) rozpuszcza się w pirydynie (3 ml) i dodaje się chlorek tosylo (240 mg, 1,3 mmol). Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu 3 godzin.

Rozpuszczalnik odparowuje się, pozostałość rozcieńcza się za pomocą chloroformu i przemywa wodą. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zateża i pozostałość oczyszcza się za pomocą chromatografii na kolumnie z żelom krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 1/1 udziały objętościowe) w celu otrzymania związku tosyłowego 15 (297 mg, 80 %) w postaci syropu.

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

Otrzymywanie 9

Metylo 2,3,6-tri-O-benzyl-4-O-(2,6-anhydro-3-O-metylo-5-C-winylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (16)

Związek 15 (550 mg, 0,6 mmol) rozpuszczono w etanolu (3 ml), a następnie dodaje się 0,1N roztwór etanolowy wodorotlenku sodowego (5 ml). Mieszaninę reakcyjną podgrzewa się do  $70^\circ\text{C}$  w ciągu 3 godzin, następnie zobojętnia się za pomocą żywicy IR-120 (forma  $\text{H}^+$ ) i filtruje się na celicie. Pozostałość po zateżeniu oczyszcza się za pomocą chromatografii na kolumnie z żelom krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 1/1 udziały objętościowe) w celu otrzymania związku 16 (292 mg, 70%) w postaci syropu.

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

CI-MS: 666 (M + 18).

Otrzymywanie 10

Metylo 2,3,6-tri-O-benzyl-4-O-(benzyl 3-O-metylo-2-O-5-C-metylideno- $\alpha$ -L-idopiranouronian)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (17)

Związek 16 (260 mg, 0,4 mmol) rozpuszcza się w dwuchlorometanie (20 ml), roztwór miesza się w  $-78^\circ\text{C}$ , a następnie miesza się za pomocą ozonu w ciągu 30 sekund. Kolor roztworu staje się jasno żółty. Dodaje się do roztworu siarczek metylu, następnie mieszaninę reakcyjną przemywa się wodą. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zateża i przechodzi się bezpośrednio do reakcji następnej, bez dodatkowego oczyszczania. Nieprzetworzony aldehyd rozpuszcza się w tert-butanolu (16 ml) i dodaje się 2-metylo-2-buten (5 ml) i wodę (16 ml). Następnie dodaje się kolejno do mieszaniny  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (700 mg) i  $\text{NaClO}_2$  (700 mg). Zawiesinę miesza się energicznie w temperaturze otoczenia w ciągu jednej nocy, rozcieńcza się wodą i ekstrahuje się octanem etylu. Fazę organiczną suszy się na siarczanie magnezowym, zateża i przechodzi się bezpośrednio do reakcji następnej. Nieprzetworzony kwas rozpuszcza się w dwumetyloformamidzie (25 ml) i dodaje się jodek czterobutylamonowy (0,7 g, 2,0 mmol), kwaśny węgiel potasowy (0,25 g, 2,5 mmol), bromek benzylu (0,250 ml, 2,1 mmol). Mieszaninę reakcyjną miesza się w temperaturze otoczenia w ciągu 5 godzin. Mieszaninę reakcyjną ekstrahuje się za pomocą wody i eteru etylowego. Fazę eterową suszy się na siarczanie magnezowym, zateża, a pozostałość oczyszcza się za pomocą chromatografii na kolumnie z żelom krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 2/1 udziały objętościowe) w celu otrzymania pochodnej 17 (236 mg, 80 %) w formie syropu.

CI-MS: 774 (M + 18).

Otrzymywanie 11

Metylo O-(6-O-acetylo-2,3,4-tri-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(benzyl 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyloouronian)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(3,6-di-O-acetylo-2-O-benzyl- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-benzylksykarbonylo-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (19).

W obojętnej atmosferze miesza się imidate 18 (Van der Heijden et al., abstr. 9<sup>th</sup> Eur. Carbohydr. Symp., Utrecht, July 6-11, 1997; A74, p 154) (81 mg, 78,2  $\mu\text{mol}$ ) akceptor 17 (65 mg, 86,0  $\mu\text{mol}$ ) i drobne sito molekularne (70 mg, 4 A) w mieszaninie dwuchlorometan/eter etylowy, 1/2 (obj./obj.) (2,4 ml).

Mieszaninę reakcyjną miesza się w ciągu 30 minut, następnie dodaje się  $\text{NaHCO}_3$ , aż do zobojętnienia. Po przefiltrowaniu i zateżeniu, pozostałość oczyszcza się na kolumnie z żelom Sephadex<sup>®</sup> LH 20 (dwuchlorometan/etanol 1/1 obj./obj.), następnie na kolumnie z żelom krzemionkowym (octan etylu/cykloheksan 1/1 obj./obj.) w celu otrzymania związku 19 (86 mg, 67%).

$[\alpha]_D +66^\circ\text{C}$  (c 1,0,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

<sup>1</sup>HRMN przedstawiony w poniższej tabeli 1.

Otrzymywanie 12

Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyloouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-( $\alpha$ -D-glucopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (20).

Według M. PETITOU i C.A.A. van BOECKEL. Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Eds. W. Herz et al., Wein, Springer-Verlag, New York, 1992, 143-210.



W atmosferze wodoru miesza się (3,5 MPa) w ciągu 12 godzin w 40°C, roztwór związku 19 (49 mg, 30,0 μmol) w kwasie octowym (3 ml) w obecności 5% palladu na węglu (73 mg, 35 b). Filtruje się na celicę, zatęcza i równocześnie przesącza za pomocą wody (4 x 5 ml). Pozostałość rozpuszcza się w 1M wodnym roztworze NaOH (3 ml) podgrzewa w 55°C w ciągu 3 godzin. Ochładza się roztwór i przepuszcza przez kolumnę Sephadex® 625 F (170 ml) wymywaną za pomocą wody. Frakcje zawierające związek 20 przepuszcza się przez kolumnę z żywicą Dowex H<sup>+</sup>. Zatęcza się w celu wydzielenia związku 20 (25 mg, 86%).

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

<sup>1</sup>HMRN przedstawiony w poniższej tabeli 1.

Tabela 1

	Jednostka	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	J <sub>1-2</sub> (Hz)
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	4,98	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	3,98	~1
	H	4,58	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	4,82	3,64	3,84	3,73	3,70 to 3,90			3,7

#### Otrzymywanie 13

Metylo O-(4,6-O-izopropylideno-2,3-di-O-metylo-5-C-winylo-β-D-glukopiranozylo)-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzylo-α-D-glukopiranozyd (22).

Dodaje się w 0°C, woderek sodowy (0,31 g, 13,0 mmol) do roztworu metylo O-(4,6-O-izopropylideno-3-O-metylo-5-C-winylo-β-D-glukopiranozylo)-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzylo-α-D-glukopiranozydu (10) (6,11 g, 8,65 mmol) jodku metylu (0,80 ml, 13,0 mmol) w N,N-dwumetyloformamidzie (9,00 ml). Pozostawia się mieszając w ciągu 2 godzin (CCM), dodaje się metanol i wlewa się mieszaninę reakcyjną do wody. Ekstrahuje się za pomocą octanu etyleu, przemywa się wodą, suszy się i zatęcza. Oczyszcza się na kolumnie krzemionkowej (cykloheksan/eter etylowy 3/2 (udziały objętościowe)) w celu uzyskania 22 (5,92 g, 88%). CCM R<sub>f</sub> 0,28, (cykloheksan/eter etylowy 3/2 (udziały objętościowe)).

#### Otrzymywanie 14

Metylo O-(4,6-O-izopropylideno-2,3-di-O-metylo-5-C-etylo-β-D-glukopiranozylo)-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzylo-α-D-glukopiranozyd (23).

Dodaje się tlenek platyny (160 mg) do roztworu 22 (5,80 g, 8,04 mmol) w octanie etylu (400 ml). Wprowadza się wodór. Pozostawia się mieszając w ciągu 40 minut (CCM), filtruje, odparowuje w celu otrzymania 23. CCM R<sub>f</sub> 0,60, (toluen/octan etylu 4/1 (udziały objętościowe)).

#### Otrzymywanie 15

Metylo O-(2,3-di-O-metylo-5-C-etylo-β-D-glukopiranozylo)-(1→4)-2,3,6-tri-O-benzylo-α-D-glukopiranozyd (24).

Nieprzetworzony związek 23 rozpuszcza się w 70% kwasie octowym (60 ml) i miesza się w ciągu 2 godzin w 80°C. Mieszaninę zatęcza się pod próżnią i współodparowuje za pomocą toluenu w celu otrzymania 24. CCM R<sub>f</sub> 0,52, (dwuchlorometan/metanol 4/1 (udziały objętościowe)).

#### Otrzymywanie 16

Metylo O-(benzylo 2,3-di-O-metylo-5-C-etylo-β-D-glukopiranozylouronian) (1→4)-2,3,6-tri-O-benzylo-α-D-glukopiranozyd (25).

Do roztworu związku 24 (5,75 g) w czterohydrofuranie (28 ml) dodaje się 2,2,6,6-tetrametylo-1-piperidynyloksy (17,5 mg), roztwór kwaśnego węgla sodowego (17,5 ml), bromek potasowy (87 mg), chlorek czterobutyloamonowy (115,5 mg). Mieszaninę ochładza się do 0°C i dodaje się w ciągu 15

minut mieszaninę nasyconego roztworu chlorku sodowego (17 ml), mieszaninę nasyconego roztworu kwaśnego węgla sodowego (8,70 ml) i podchlorynu sodowego (1/3 M, 20 ml). Po mieszanii w ciągu godziny, mieszaninę rozcieńcza się wodą i ekstrahuje (trzykrotnie) za pomocą dwuchlorometanu. Fazę organiczną przemywa się wodnym roztworem chlorku sodowego, suszy się na siarczanie magnezowym, filtruje i odparowuje do sucha w celu otrzymania nieprzetworzonej pochodnej kwasowej.

W atmosferze azotu, pochodną kwasową rozpuszcza się w N,N-dwumetyloformamidzie (107 ml). Dodaje się kwaśny węgiel potasowy (4,10 g) i bromek benzylu (9,70 ml) i mieszaninę miesza się w ciągu 16 godzin. Dodaje się octan etylu i wodę, następnie po ekstrakcji, fazę organiczną zatęża się. Oczyszczanie za pomocą chromatografii na kolumnie z żelalem krzemionkowym umożliwia otrzymanie 3,81 g związku 25 (60 % wydajności ze związku 23).

$[\alpha]_D^{+24}$  (c = 0,15, dwuchlorometan).

Otrzymywanie 17

Metylo O-(benzylo 5-C-etylo-4-O-lewulinylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozylouronian)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzylo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (26).

Rozpuszcza się związek 25 (3,51 g, 4,46 mmol) w bezwodnym dioksanie (45 ml). Dodaje się kwas lewulinowy (1,00 g, 8,93 mmol), chlorowodorek 1-(3-dwumetyloaminopropyl)-3-etylocyanamidu (1,70 g, 8,93 mmol) i 4-dwumetyloaminopirydinę (0,11 g, 8,93 mmol). Pozostawia się mieszaninę reakcyjną mieszając w ciągu 16 godzin, ekstrahuje za pomocą octanu etylu, kolejno przemywa się 5% wodnym roztworem kwaśnego siarczanu potasowego, wodą, nasyconym wodnym roztworem kwaśnego siarczanu sodowego, wodą, suszy się i zatęża.

Oczyszcza się na kolumnie krzemionkowej (cykloheksan/octan etylu 2/1 następnie 3/2 (udziały objętościowe)) w celu otrzymania czystego 26 (3,64 g, 85 %).

$[\alpha]_D^{+26}$  (c = 0,9, dwuchlorometan).

Otrzymywanie 18

O-(Benzylo 5-C-etylo-4-O-lewulinylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozylouronian)-(1 $\rightarrow$ 4)-1,3,6-tri-O-acetylo-2-O-benzylo-D-glukopiranoza (27).

Rozpuszcza się związek 26 (3,35 g, 3,78 mmol) w bezwodniku octowym (22 ml). Ochładza się w -20°C, dodaje się 22 ml zimnego roztworu kwasu siarkowego w bezwodniku octowym (1 ml kwasu siarkowego w 10 ml bezwodnika octowego).

Rozcieńcza się za pomocą octanu etylu, przemywa nasyconym wodnym roztworem kwaśnego węgla sodowego, wodą, suszy się, zatęża. Czyści się na kolumnie krzemionkowej (cykloheksan/octan etylu 1/1 (udziały objętościowe)) w celu otrzymania 27 (2,20 g, 65,5%). CCM  $R_f$  0,24, (cykloheksan/octan etylu 1/1 (udziały objętościowe)).

Otrzymywanie 19

O-(Benzylo 5-C-etylo-4-O-lewulinylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozylouronian)-(1 $\rightarrow$ 4)-3,6-di-O-acetylo-2-O-benzylo-D-glukopiranoza (28).

Dodaje się benzyloaminę (11 ml, 101,4 mmol) do roztworu związku 27 (2,18 g, 2,67 mmol) w czterohydrofuranie (50 ml). Pozostawia się mieszając w ciągu 4 godzin. Ekstrahuje za pomocą octanu etylu, przemywa 1M wodnym roztworem kwasu chlorowodorowego (102 ml), wodą, suszy się i zatęża. Oczyszcza się na kolumnie krzemionkowej (toluen/octan etylu 1/1 (udziały objętościowe)) w celu otrzymania mieszaniny ( $\alpha/\beta$  = 50/50) związku 28 (1,33 g, 65%). CCM  $R_f$  0,22, (toluen/octan etylu 1/1 (udziały objętościowe)).

Otrzymywanie 20

O-(Benzylo 5-C-etylo-4-O-lewulinylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozylouronian)-(1 $\rightarrow$ 4)-3,6-di-O-acetylo-2-O-benzylo-D-glukopiranozylo trichloroacetimid (29).

Rozpuszcza się związek 28 (1,32 g, 1,71 mmol) w dwuchlorometanie (34 ml) i dodaje się w atmosferze argonu trójchloroacetonitryl (0,87 ml, 8,50 mmol) i węgiel cezu (0,90 g, 2,73 mmol). Pozostawia się mieszając w ciągu 2 godzin (CCM) i filtruje się. Oczyszcza się na kolumnie krzemionkowej (cykloheksan/octan etylu 3/2 (udziały objętościowe)) w celu otrzymania mieszaniny ( $\alpha/\beta$  = 85/15) imidates 29 (1,20 g, 77%). CCM  $R_f$  0,36, (cykloheksan/octan etylu 1/2 (udziały objętościowe))

Otrzymywanie 21

Metylo O-(benzylo 5-C-etylo-4-O-lewulinylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozylouronian)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(3,6-di-O-acetylo-2-O-benzylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-benzyloksycarbonylo-3-O-metylo-3-D-miannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzylo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (30).

Roztwór triflate czterobutyldwumetylosilylu w dwuchlorometanie (1M, 0,19 ml) dodaje się, w atmosferze argonu, w -20°C, do roztworu imidate 29 (1,19 g, 1,29 mmol) i metylo 2,3,6-tri-O-

-benzylo-4-(benzylo 3-O-metylo- 2-O-5-C-metylideno- $\alpha$ -L-idopyranouranion)- $\alpha$ -D-glukopiranozydu 17 (1,02 g, 1,35 mmol) w toluenie (40 ml) w obecności sita molekularnego 4 Å (1,93 g). Po 30 minutach (CCM), dodaje się ponownie roztwór triflate czterobutyldwumetylosilylu w dwuchlorometanie (1M, 0,19 ml). Po 30 minutach (CCM), dodaje stały kwaśny węgiel sodowy. Roztwór filtruje się, przemywa wodą, suszy i odparowuje do sucha. Oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej Sephadex<sup>®</sup> LH20, następnie na kolumnie krzemionkowej (toluen/octan etylu 2/1 (udziały objętościowe)) w celu otrzymania czystego tetrasacharydu 30- $\alpha$  (1,14 g, 58%).

$[\alpha]_D +47$  (c = 0,21, dwuchlorometan).

Otrzymywanie 22

Metylo O-(benzylo 5-C-etylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyouronian) (1 $\rightarrow$ 4)-O-(3,6-di-O-acetylo-2-O-benzylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-benzyloksykarbonylo-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzyl- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (31).

Rozpuszcza się związek 30 (1,13 g, 0,75 mmol) w mieszaninie etanol/toluen 2/1 (udziały objętościowe) (150 ml) i dodaje się octan hydrazyny (0,35 g, 3,73 mmol). Pozostawia się mieszając w ciągu 1 godziny (CCM) i zatęża się. Oczyszcza się na kolumnie krzemionkowej (toluen/octan etylu 3/2 (udziały objętościowe)) w celu otrzymania 31 (0,816 g, 83%).

$[\alpha]_D +35$  (c = 1,01, dwuchlorometan).

Otrzymywanie 23

Metylo O-(6-O-acetylo-2,3,4-tri-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(benzyle 5-C-etylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyouronian)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(3,6-di-O-acetylo-2-O-benzylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-benzyloksykarbonylo-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-benzylo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (33).

Podaje się obróbce trichloroacetimidate 6-O-acetylo-2,3,4-tri-O-metylo-D-glukopiranozy 32 (34,7 mg, 0,0245 mmol) (P. Westerduin et al. BioOrg. Med. Chem., 1994, 2, 1267) i akceptor glikozylowy 31 (80 mg, 0,056 mmol) według sposobu otrzymywania 21. Oczyszcza się związek na kolumnie chromatograficznej Sephadex<sup>®</sup> LH-20 (dwuchlorometan/etanol 1/1 (udziały objętościowe)), następnie na kolumnie krzemionkowej (eter dwuizopropylowy/octan etylu 3/2 (udziały objętościowe)) w celu otrzymania pochodnej 33 (54,6 mg, 58%).

$[\alpha]_D +55$  (c = 1, dwuchlorometan).

Otrzymywanie 24

Metylo O-(6-O-acetylo-2,3,4-tri-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 5-C-etylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(3,6-di-O-acetylo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (34).

Roztwór związku 33 (40 mg, 0,024 mmol) w kwasie octowym (2 ml) miesza się w atmosferze wodoru w obecności palladu na węglu 10% (80 mg) w ciągu 16 godzin i filtruje. Filtrat zatęża się w celu otrzymania związku 34.

Otrzymywanie 25

Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopyranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 5-C-etylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-( $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (35).

Dodaje się 5M wodny roztwór wodorotlenku sodowego (216  $\mu$ l) do roztworu nieprzetworzonego związku 34 w metanolu (866  $\mu$ l). Po 25 godzinach dodaje się wodę i przepuszcza mieszaninę reakcyjną przez kolumnę żelową Sephadex<sup>®</sup> G-25 (2 x 38 cm) wymywaną za pomocą wody. Zatęża się, przepuszcza się przez kolumnę Dowex<sup>®</sup> 50 H<sup>+</sup> (2 ml) i liofilizuje się. Na tym etapie sprawdza się za pomocą <sup>1</sup>HMRN, że wszystkie grupy ochronne zostały usunięte.

P r z y k ł a d 1

Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,4-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd (21), sól sodowa.

Według C.A.A. van BOECKEL et M. PETITOU, Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1993, 32, 1671-1690.

Roztwór związku 20 (20 mg, 20,7  $\mu$ mol) i kompleks trójetyloamina/trójtlenek siarki (164 mg, 0,90  $\mu$ mol) w dwumetyloformamidzie (2 ml) podgrzewa się do 55°C, zabezpieczony przed światłem, w ciągu 18 godzin i 30 minut. Ochładza się mieszaninę reakcyjną do temperatury pokojowej, następnie rozcieńcza 0,2M wodnym roztworem NaCl. Umieszcza się następnie roztwór na szczycie kolumny Sephadex<sup>®</sup> G25F (170 ml) wymywanej za pomocą 0,2M wodnego roztworu NaCl.

Fracje zawierające pentasacharyd zateżą się i wysalą, stosując tę samą kolumnę eluowaną wodą. Po liofilizacji otrzymuje się związek 21 (30,5 mg, 85%).

$[\alpha]_D -49^\circ\text{C}$  (c=0,63, H<sub>2</sub>O)

<sup>1</sup>HRMN przedstawiony w poniższej tabeli 2.

Tabela 2

	Jednostka	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	J <sub>1-2</sub> (Hz)
21 (D <sub>2</sub> O)	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

## Przykład 2

Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 5-C-etylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozylo-uronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa (36).

Dodaje się kompleks trójetyloamina/trójtlenek siarki (91 mg) do roztworu w dwumetyloformamidzie (1,3 ml) nieprzetworzonego związku 35. Po 20 godzinach w 55°C umieszcza się roztwór na szczycie kolumny Sephadex<sup>®</sup> G-25 (2 x 38 cm) wymywanej za pomocą 0,2M chlorku sodowego. Zateżą się frakcje zawierające produkt i wysalą, stosując tę samą kolumnę wymywaną za pomocą wody. Po liofilizacji otrzymuje się związek 36 (21,9 mg, 52%) ze związku 33.

<sup>1</sup>HRMN przedstawiony w poniższej tabeli 3.

Tabela 3

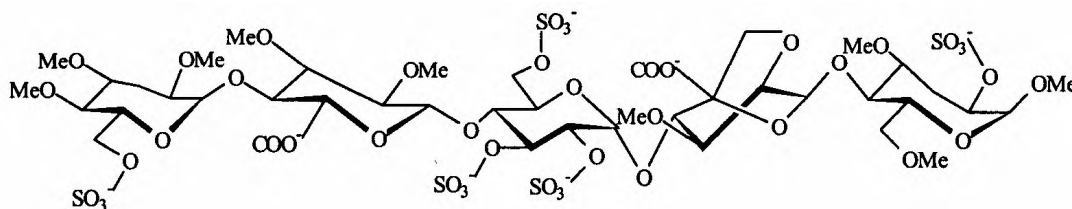
	H-1 (J <sub>1-2</sub> Hz)	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	H-6'	inne
D	5,43(3,9)	3,28	3,53	3,30	4,02	4,27	4,14	
E	4,68(8,1)	3,27	3,60	3,98	-	-	-	2,04/1,80: CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> 09,4:CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
F	5,50(3,7)	4,35	4,50	3,84	4,07	4,61	4,30	
G	5,47(1,1)	4,39	3,72	4,16	-	4,23	4,08	
H	5,16(3,7)	4,36	4,81	4,00	4,17	4,50	4,39	

Postępując tak jak w poprzednich przykładach 1 i 2 otrzymuje się związki 37 do 40 następujących przykładów 3 do 6. Widma RMN<sup>1</sup>H otrzymane dla tych związków są zgodne z konfiguracjami podanymi poniżej.

## Przykład 3

Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozylo-uronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-O-sulfo-3,6-di-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa (37).

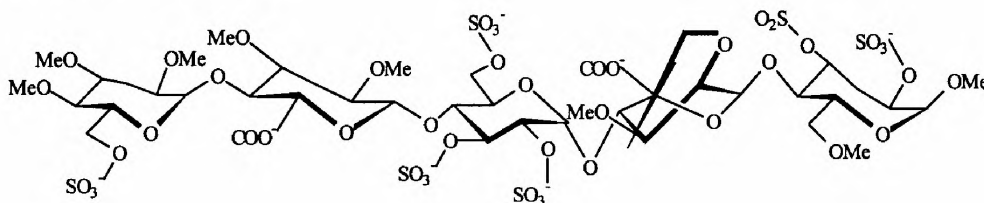
$[\alpha]_D +51^\circ$  (c = 0,48, woda)



## Przykład 4

Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyliouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3-di-O-sulfo-6-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa (38).

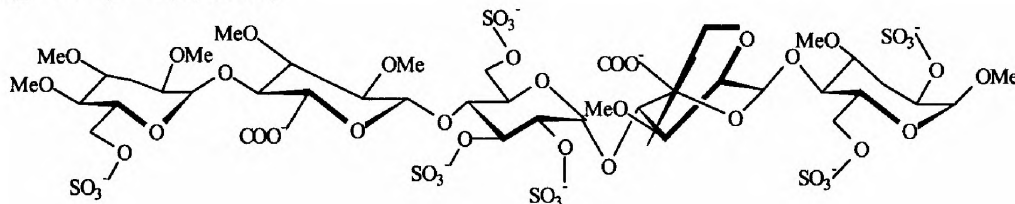
$[\alpha]_D^{+57}$  (c = 0,28, woda)



## Przykład 5

Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyliouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,6-di-O-sulfo-3-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa (39).

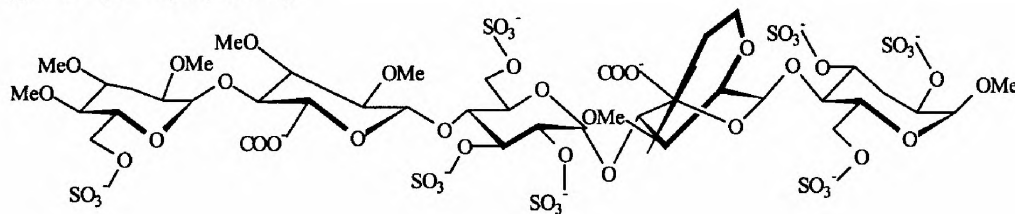
$[\alpha]_D^{+53}$  (c = 0,3, woda)



## Przykład 6

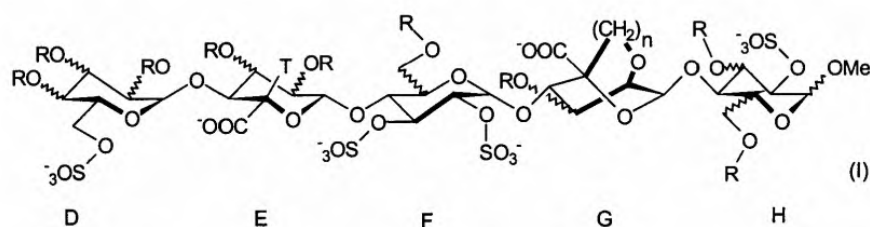
Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyliouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,7-anhydro-5-C-karboksy-6-dezoksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannoheptopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa (40).

$[\alpha]_D^{+49}$  (c = 0,25, woda)



## Zastrzeżenia patentowe

1. Pentasacharyd w postaci kwasu lub jego soli farmaceutycznie dopuszczalnych, którego postać anionowa ma wzór:



w którym:

- R oznacza wodór, grupę  $-SO_3^-$ , grupę alkilową ( $C_1-C_3$ ) lub grupę acylową ( $C_2-C_3$ );
- T oznacza wodór lub grupę etylową;
- n oznacza 1 lub 2.

2. Pentasacharyd według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jest w postaci soli sodowej lub potasowej.

3. Pentasacharyd według zastrz. 1 albo 2, wybrany spośród:

- Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyliouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,4-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-gluko-piranozyd, sól sodowa;
- Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 5-C-etylo-2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-gluko-piranozyliouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa;
- Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyliouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,6-anhydro-5-C-karboksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2-O-sulfo-3,6-di-O-metylo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa;
- Metylo O-(2,3,4-tri-O-metylo-6-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(kwas 2,3-di-O-metylo- $\beta$ -D-glukopiranozyliouronowy)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-O-(2,7-anhydro-5-C-karboksy-6-dezoksy-3-O-metylo- $\beta$ -D-mannoheptopiranozylo)-(1 $\rightarrow$ 4)-2,3,6-tri-O-sulfo- $\alpha$ -D-glukopiranozyd, sól sodowa.

4. Kompozycja farmaceutyczna zawierająca związek aktywny i farmaceutycznie dopuszczalny nośnik, **znamienna tym**, że jako związek aktywny zawiera pentasacharyd według zastrz. 1 albo 3 w postaci soli z zasadą akceptowaną farmaceutycznie lub w postaci kwasu, w połączeniu lub w mieszaninie z nośnikiem obojętnym, nietoksycznym, akceptowanym farmaceutycznie.

5. Kompozycja farmaceutyczna według zastrz. 4, **znamienna tym**, że jest w postaci dawki jednostkowej a związek aktywny jest zmieszany z przynajmniej jednym nośnikiem farmaceutycznym.

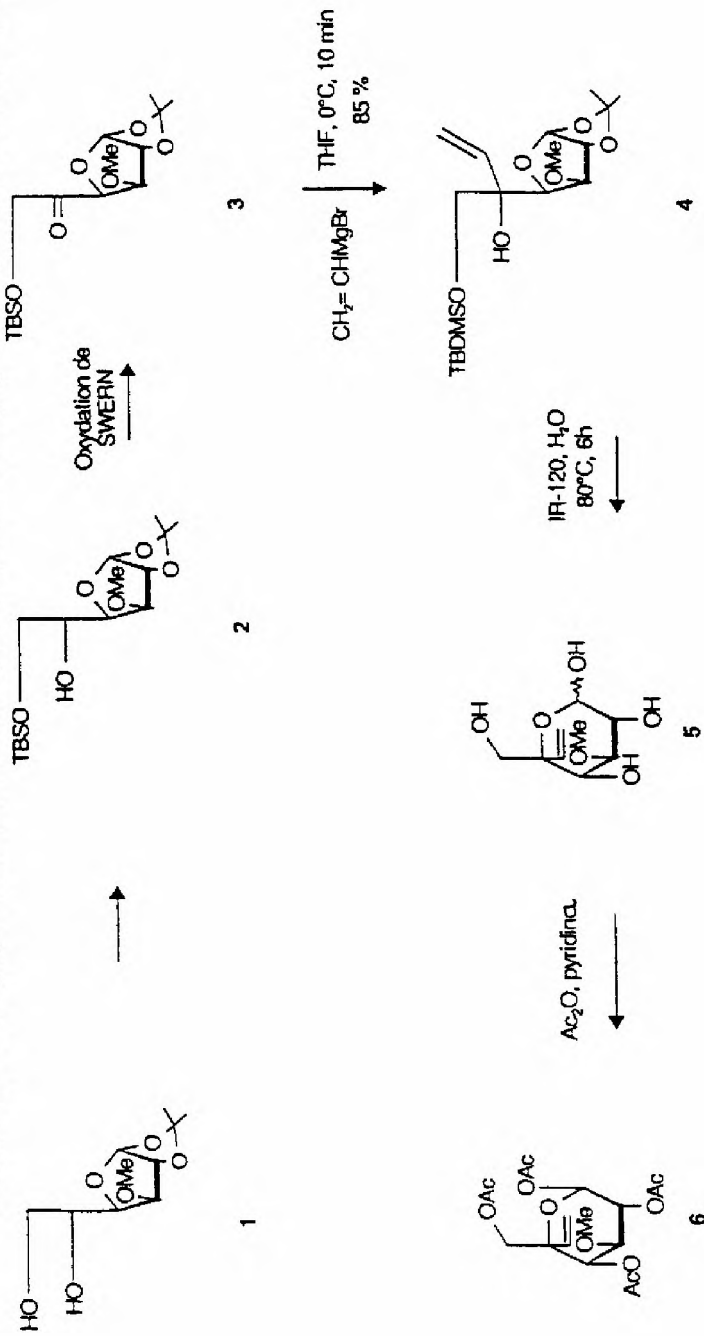
6. Kompozycja farmaceutyczna według zastrz. 5, **znamienna tym**, że każda dawka jednostkowa zawiera od 0,1 do 100 mg związku aktywnego.

7. Kompozycja farmaceutyczna według zastrz. 6 **znamienna tym**, że każda dawka jednostkowa zawiera od 0,5 do 50 mg związku aktywnego.

8. Zastosowanie polisacharydu według zastrz. 1 albo 3 do otrzymywania leku do leczenia patologii związanych z zaburzeniem koagulacji.

Rysunki

**SCHEMAT 1** : Otrzymywanie monosacharydu donora: otrzymywanie prekursora GH (17)



75 % don : elaty

**FIGURA 1**

SCHEMATI (c.d. 1): Otrzymywanie i pierwsze przekształcenia dwusacharydu

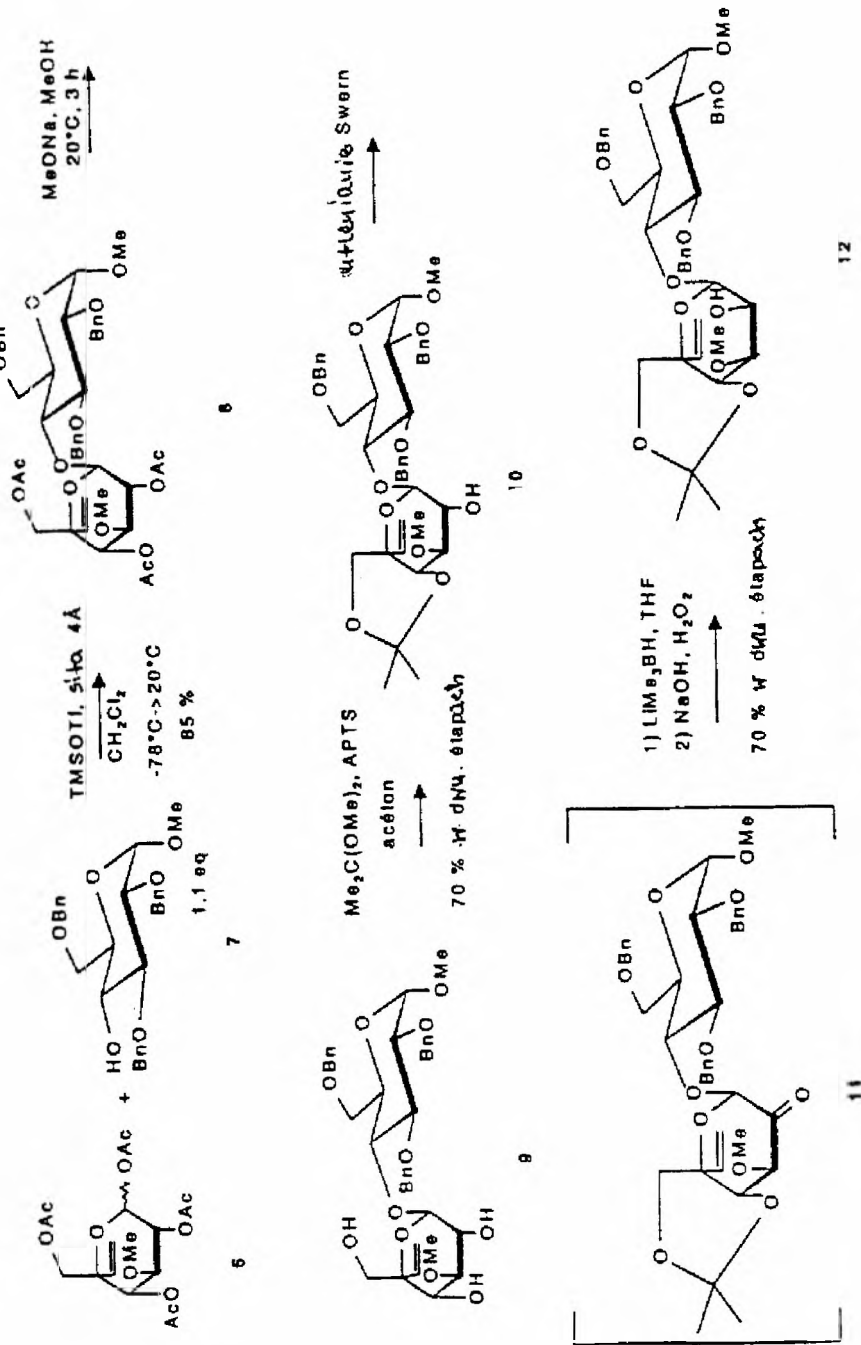


FIGURA 2



SCHEMAT 1 (c.d.2): Konstrukcja układu bicyklicznego

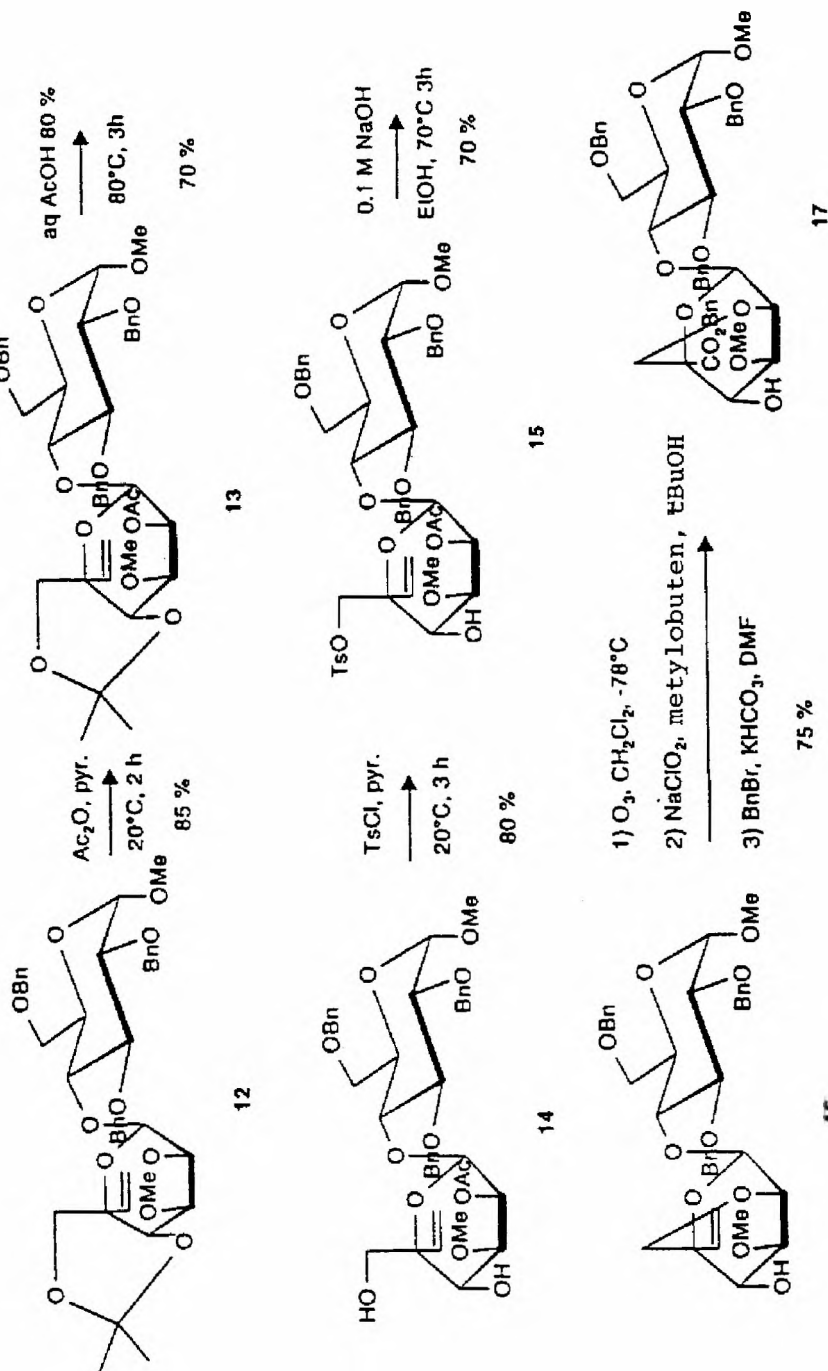
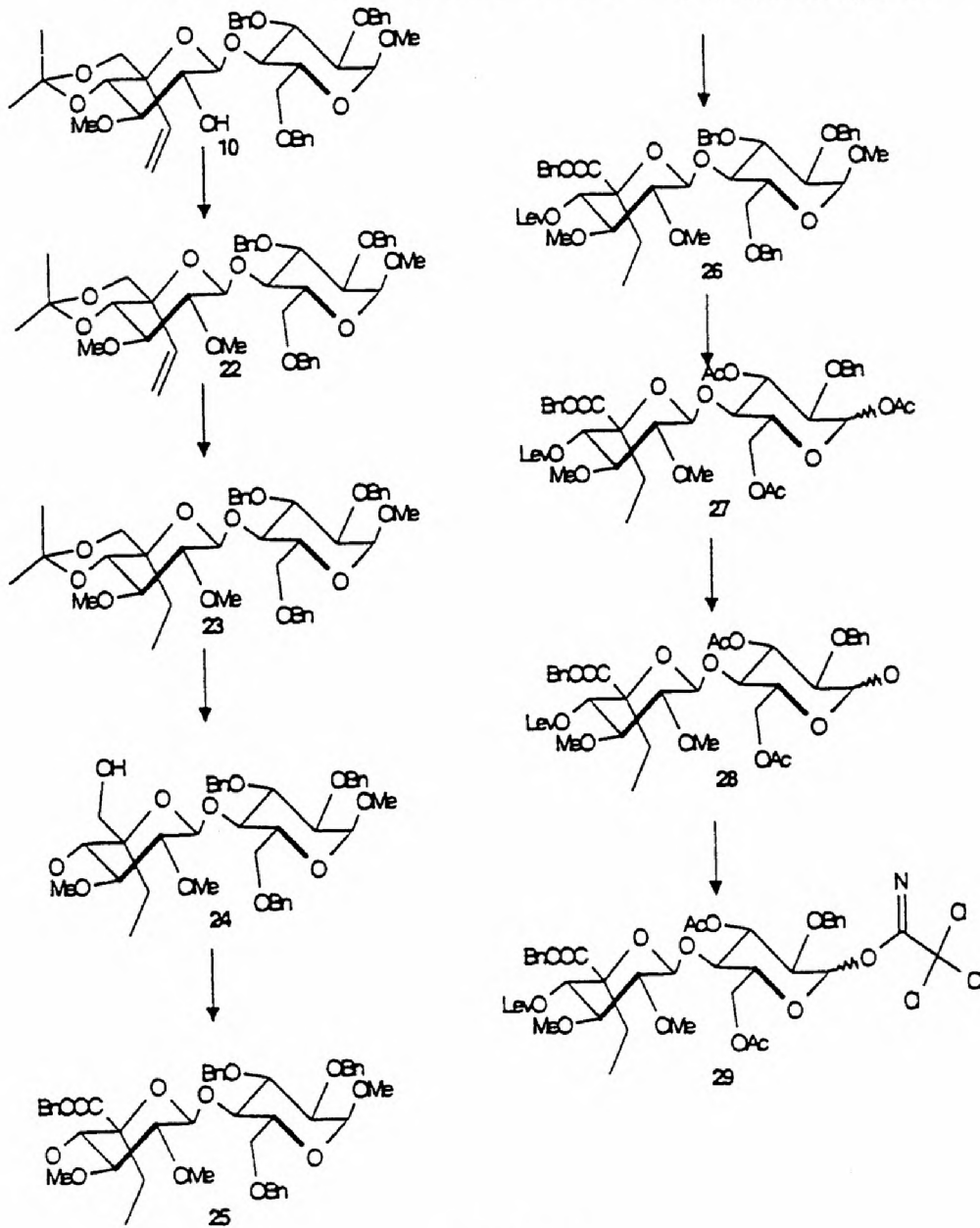


FIGURA 3



**SCHEMAT3 : Otrzymywanie donora EF, dwusacharyd 29**



**FIGURA 5**

## SCHEMAT 4: Otrzymywanie czterosacharydu akceptora 31

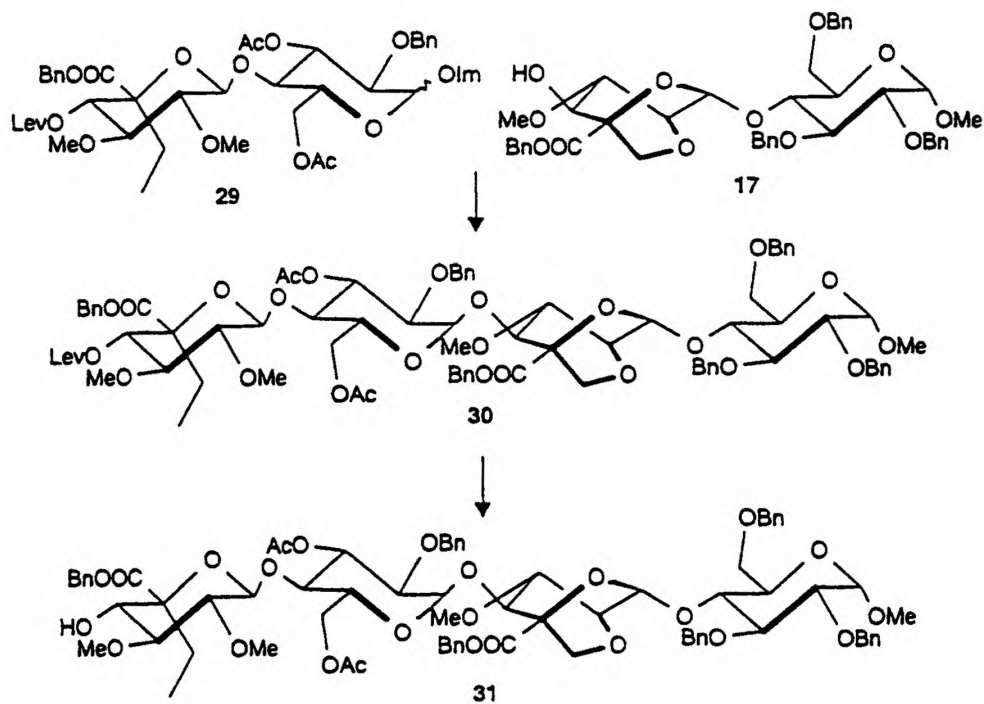
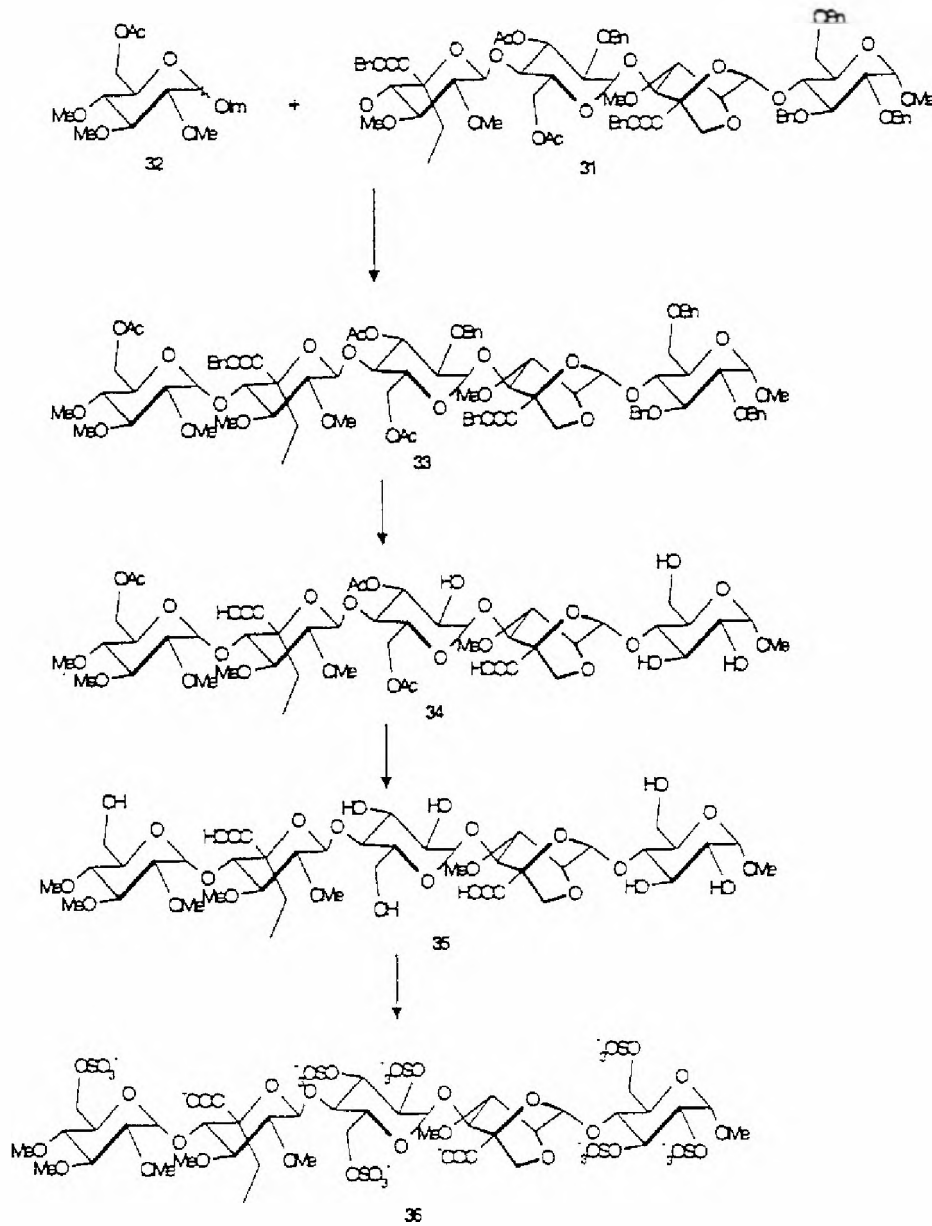


FIGURA 6

**SCHEMAT 5:** Kondensacja czterosacharydu EFGH (31) z donorem glikozy lub (32) usunięcie grup ochronnych i siarczanowanie



**FIGURA 7**

