



УДК 547.455.623'29'141.057:542.944

СИНТЕЗ ГЛЮКУРОНОЗИЛИРУЮЩЕГО РЕАГЕНТА —
МЕТИЛ(2,3,4-ТРИ-О-АЦЕТИЛ- α -
D-ГЛЮКОПИРАНОЗИЛБРОМИД) УРОНАТА — ИЗ ЛЕВОГЛЮКОЗАНА

Голубовская Л. Е., Пивницкий К. К.

*Институт экспериментальной эндокринологии и химии гормонов
Академии медицинских наук СССР, Москва*

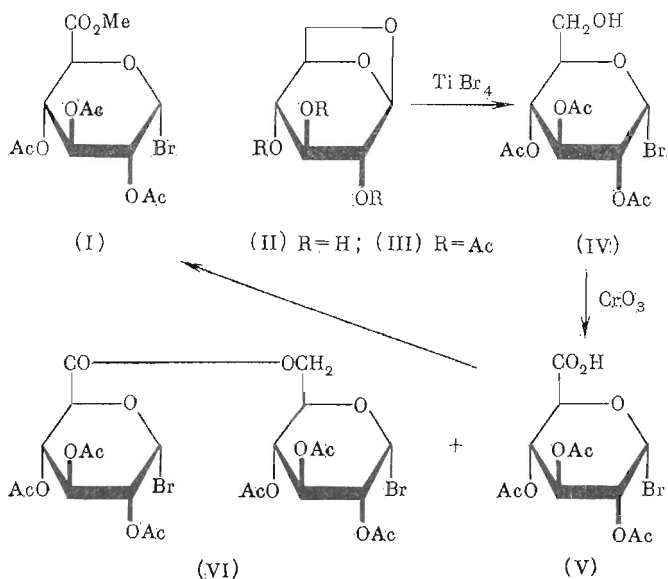
Разработан синтез широко используемого глюкуронозиллирующего реагента — метил(2,3,4-три-О-ацетил- α -*D*-глюкопиранозилбромид)уроната из доступного левоглюкозана. Расщепление ангидрокольца триацетата левоглюкозана действием $TiBr_4$ приводит к 2,3,4-три-О-ацетил- α -*D*-глюкопиранозилбромиду, в котором оксиметильную группу окисляют по Джонсу в карбоксильную и обработкой диазометаном получают указанное производное глюкуроновой кислоты. Общий выход в четырехстадийной схеме достигает 38%.

В последние годы наблюдается значительно возросший интерес к синтезу и изучению *D*-глюкуроноидов стероидных [1–9] и нестероидных [10, 11] агликонов. В качестве реагента глюкуронозиллирования в большинстве случаев используется метил(2,3,4-три-О-ацетил- α -*D*-глюкопиранозилбромид)уронат (I) [1–8, 11] или получаемые из него реагенты [12]. Единственный известный нам метод получения реагента (I) заключается в четырехстадийном синтезе из *D*-глюкуроновой кислоты [7, 8, 12, 13] — вещества ограниченной доступности [14]. Будучи заинтересованными в получении относительно больших количеств реагента (I), мы разработали методику синтеза этого реагента из левоглюкозана (II), производимого сейчас в промышленном масштабе.

По методу [15] из триацетата (III) левоглюкозана (II) при действии четырехбромистого титана получен пиранозилбромид (IV). Метод оказался легко воспроизводимым и дающим выход кристаллического продукта (IV) до 62%, что на 10% выше, чем указано в работе [15]. Бромид (IV) разлагается за сутки при комнатной температуре, но выдерживает хранение в течение нескольких суток при 0° С. Правильность структуры и стереохимии при С-1 подтверждается наличием в спектре ПМР дублета аномерного протона с δ 6,67 м.д. с константой спин-спинового взаимодействия J 4 Гц [16] и сигнала ОН-группы в ИК- и ПМР-спектрах.

Окисление бромида (IV) большим избытком хромового ангидрида в ацетоне по методу Джонса [17] приводит к бромкислоте (V) с высоким выходом (82%). При меньших количествах окислителя выход бромкислоты (V) понижается и образуются следы димерного эфира (VI), легко выделяемого благодаря его нейтральности и малой растворимости. Для установления структуры эфира (VI) особенно диагностичен масс-спектр с изотопным кластером иона $(M - Br)^+$ (m/z 655/653, 1 : 1), свидетельствующий о наличии двух атомов брома в молекуле. Образование подобных димерных эфиров при окислении хромовым ангидридом первичных спиртов уже отмечалось [18].

Метилирование бромкислоты (V) диазометаном количественно приводит к хроматографически чистому реагенту (I), пригодному для использования в реакции глюкуронозиллирования. Интересно, что при кристаллизации бромэфира (I) кроме уже неоднократно описанной [7, 8, 13, 19–21] формы с т. пл. 104–105° С была получена форма с т. пл. 80–81° С, не меняющаяся при повторных кристаллизациях, но переходящая в высокоплавкую модификацию при кристаллизации из расплава. Обе кристаллические модификации имеют одинаковые хроматографическую подвиж-



ность, углы вращения и идентичные спектры ПМР, но ИК-спектры в кристаллическом состоянии заметно различны.

Реагент (I) нестойк при хранении (несколько суток при 0° С) [13, 24]. Удобнее хранить непосредственный предшественник этого реагента — бромкислоту (V), не показавшую никаких следов разложения за 8 мес при 0° С, и получать из нее метилированием реагент (I) непосредственно перед употреблением, что при использовании диазометана занимает несколько минут.

Предлагаемый метод получения глюкуронозиллирующего реагента (I) в четыре стадии из левоглюкозана с общим выходом в 38% (на технический левоглюкозан) по числу стадий идентичен синтезу из *D*-глюкуроновой кислоты и, как мы считаем, делает реагент (I) более доступным.

Экспериментальная часть

Температуры плавления определены на нагревательном столике Voetius (ГДР), углы вращения измерены на поляриметре Palamat A (ГДР) в хлороформе. Спектры ПМР получены на приборе Tesla BS-487C (80 МГц; ЧССР), внутренний стандарт — тетраметилсилан, в дейтерохлороформе. Сигналы ОН-группы идентифицированы обменом с D₂O. ИК-спектры сняты на приборе Spesord 75 IR (ГДР) для образцов в таблетках KBr, кроме оговоренных случаев. Масс-спектры получены на хромато-масс-спектрометре LKB 2091 (Швеция) при энергии ионизирующих электронов 22,5 эВ прямым вводом образцов в ионный источник при указанной температуре пробника.

ТСХ проводили на пластинках марки силуфол UV₂₅₄ (ЧССР) в системе бензол — эфир (1:1), вещества обнаруживали 10% спиртовым раствором фосфорномolibденовой кислоты [22].

Диазометан получали из диазальда по методу [23]. Использовали технический левоглюкозан, TiCl₄ отечественного производства, ос. ч. Хлороформ промывали конц. H₂SO₄, затем водой, насыщенным раствором NaHCO₃, сушили CaCl₂ и перегоняли над CaH₂. Остальные растворители и реактивы — отечественного производства, ос. ч. и х. ч., без дополнительной очистки. Растворы упаривали в вакууме при 40° С.

2,3,4-Три-О-ацетил-1,6-ангидро-β-D-глюкопираноза (III) получена известным способом [15] действием уксусного ангидрида в присутствии AcONa на технический левоглюкозан (II). Выход 84%, т. пл. 110–111° С (из воды), $[\alpha]_D^{25} -63^\circ$ (*c* 1,05), *R_f* 0,31. Лит. данные см. [15].

2,3,4-Три-О-ацетил-α-D-глюкопиранозилбромид (IV) [15]. К раствору 10 г (34,7 ммоль) триацетата (III) в 80 мл 1% раствора абс. этанола в абс. хлороформе при 20° С при перемешивании порциями быстро добавляли раствор 27 г (73,4 ммоль) TiBr₄ (получен из TiCl₄ и HBr по методу [24]) в 20 мл абс. хлороформа. Темно-красный раствор кипятили 30 мин, при этом наблюдалось бурное выделение газа, замедляющееся к концу

кипячения. Горячий раствор выливали на ~0,5 кг измельченного льда, хлороформный слой отделяли, промывали ледяной водой (2×100 мл), сушили прокаленным CaCl₂, упаривали до небольшого объема (~40 мл), добавляли гексан до помутнения. Выпавшие при стоянии кристаллы растворяли нагреванием, раствор медленно охлаждали до 20° С. Кристаллы отфильтровывали. Получили 7,8 г (62%) бромиды (IV), т. пл. 127–128° С (из смеси хлороформ – гексан), $[\alpha]_D^{25} +241^\circ$ (с 0,96), R_f 0,21. Лит. данные – см. [15]. ИК (ν, см⁻¹): 513, 533, 557, 570, 1730, 1750, 3560. ПМР (δ, м.д.): 6,67 (д, 1Н, 1-Н), 5,61 (т, 1Н, 3-Н), 5,13 (т, 1Н, 4-Н), 4,79 (д, 1Н, 2-Н), 4,05 (м, 1Н, 5-Н), 3,75 и 3,55 (2 дд, 2Н, 6,6-Н₂), 2,76 (уш. с, ОН), 2,01 и 2,05 (2с, 9Н, 3 ОАс); $J_{1,2}=J_{5,6}=4$ Гц, $J_{2,3}=J_{3,4}=J_{4,5}=10$ Гц, $J_{5,6}$ 2 Гц, $J_{6,6}$ 13,5 Гц. Масс-спектр, 70° С, m/z (интенсивность, %): 289 ($[M-Br]^+$, 15), 229 (43), 187 (13), 160 (80), 145 (11), 139 (33), 127 (86), 115 (10), 109 (100), 97 (39), 81 (16).

2,3,4-Три-О-ацетил-α-D-глюкопиранозилбромидуроновая кислота (V). К раствору 16,9 г (45,8 ммоль) бромида (IV) в 700 мл ацетона при 5° С и перемешивании добавляли за 15 мин 70 мл раствора Дижона (26,72 г CrO₃ растворяли в 23 мл конц. H₂SO₄, разбавленной водой до объема 100 мл). Желтый раствор перемешивали 3 ч при 20° С, разбавляли 800 мл воды и экстрагировали хлороформом (4×300 мл). Хлороформный экстракт промывали водой (2×100 мл), сушили прокаленным CaCl₂ и растворитель удаляли в вакууме. Получили 14,4 г (82%) бромкислоты (V), т. пл. 135–140° С (с разложением) (из смеси хлороформ – гексан), $[\alpha]_D^{25} +187^\circ$ (с 1,03), R_f 0,32. ИК (ν, см⁻¹): 510, 547, 570, 1712, 1733, 1750, 3230. ПМР (δ, м.д.): 8,85 (уш. с, ОН), 6,66 (д, 1Н, 1-Н), 5,60 (т, 1Н, 3-Н), 5,26 (т, 1Н, 4-Н), 4,88 (дд, 1Н, 2-Н), 4,56 (д, 1Н, 5-Н), 2,01; 2,03 и 2,06 (3с, 9Н, 3 ОАс); $J_{1,2}$ 4 Гц, $J_{2,3}=J_{3,4}=J_{4,5}=10$ Гц. Масс-спектр, 80° С, m/z (интенсивность, %): 382/384 (M^+ , 0,5/0,5), 340/342 (5/5), 303 ($[M-Br]^+$, 4), 280/282 (16/18), 243/245 (11/8), 217/219 (3/3), 201 (14), 183 (51), 157/159 (12/18), 155 (18), 154 (11), 141/143 (27/19), 127 (10), 126 (10), 113/115 (13/15), 112 (13), 103 (100), 97 (11), 83/85 (15/17), 61 (10).

В аналогичном опыте с меньшим избытком окислителя (3 моль-экв. по активному кислороду) фракционной кристаллизацией наряду с 32% кислоты (V) выделено 0,7% труднорастворимого (*2,3,4-три-О-ацетил-α-D-глюкопиранозилбромид-6-ил*)-(2',3',4'-три-О-ацетил-α-D-глюкопиранозилбромид)уроната (VI), т. пл. 196–200° С (из хлороформа), $[\alpha]_D^{25} +208^\circ$ (с 0,51), R_f 0,37. ИК (ν, см⁻¹): 500, 509, 525, 534, 1750, 1775. ПМР (δ, м.д.): 6,61 и 6,66 (2д, 2Н, 1-Н и 1'-Н), 5,56 и 5,61 (2т, 2Н, 3-Н и 3'-Н), 5,16 и 5,20 (2т, 2Н, 4-Н и 4'-Н), 4,89 и 4,91 (2 дд, 2Н, 2-Н и 2'-Н), 4,61 (м, 2Н, 5-Н и 5'-Н), 4,29 (м, 2Н, 6,6-Н₂), 1,99; 2,01 и 2,04 (3 с, 18Н, 6 ОАс); $J_{1,2}=J_{1',2'}=4$ Гц, $J_{2,3}=J_{2',3'}=J_{3,4}=J_{3',4'}=J_{4,5}=J_{4',5'}=10$ Гц. Масс-спектр, 135° С, m/z (интенсивность, %): 653/655 ($[M-Br]^+$, 12/14), 491/493 (63/63), 472 (9), 365/367 (47/43), 351/353 (14/12), 337/339 (25/23), 329/331 (8/8), 309 (50), 301/303 (6/10), 249 (19), 241 (10), 183 (19), 175/177 (10/10), 169 (80), 155 (100), 139/141 (19/11), 127 (23), 113 (12), 109 (67), 97 (20), 81 (13), 47 (83).

Исчерпывающая экстракция водных растворов после 18-часового стояния при 5° С хлороформом (3×200 мл) привела к 600 мг (4,1%) *2,3,4-три-О-ацетил-α-D-глюкуроновой кислоты*, масло, $[\alpha]_D^{25} +50^\circ$ (с 1,49), R_f 0,13. ИК (ν, см⁻¹, жидкая пленка): 609, 1762, 3450. ПМР (10% CD₃OD в CDCl₃, δ, м.д.): 5,51 (т, 1Н, 3-Н), 5,39 (д, 1Н, 1-Н), 5,13 (т, 1Н, 4-Н), 4,83 (д, 1Н, 2-Н), 4,74 (уш. с, ОН), 4,50 (д, 1Н, 5-Н), 1,98 и 2,02 (2с, 9Н, 3 ОАс); $J_{1,2}$ 4 Гц, $J_{2,3}=J_{3,4}=J_{4,5}=10$ Гц. Масс-спектр, 100° С, m/z (интенсивность, %): 245 (8), 215 (13), 203 (11), 200 (18), 183 (14), 157 (67), 156 (11), 154 (19), 143 (34), 130 (10), 129 (8), 126 (11), 115 (100), 114 (29), 112 (43), 101 (16), 98 (8), 96 (29), 85 (25), 84 (13), 73 (27), 68 (13), 60 (49).

Метил(2,3,4-три-О-ацетил-α-D-глюкопиранозилбромид)уронат (I). К 250 мг кислоты (V) добавляли 6 мл 0,5 М эфирного раствора диазометана до устойчивой желтой окраски [23], при этом кислота растворялась с выделением газа. Желтый раствор упаривали досуха и полученное светлое масло кристаллизовали растиранием с 2 мл холодного абс. эфира

(0°С). Полученные кристаллы отфильтровывали, промывали 1 мл холодного абс. эфира. Получили 231 мг (89%) метилового эфира (I), т. пл. 80–81°С (не меняется после трех перекристаллизаций из абс. этанола), $[\alpha]_D^{25} + 202^\circ$ (с 0,75), R_f 0,46. ПМР (δ , м.д.): 6,64 (д, 1H, 1-H), 5,59 (т, 1H, 3-H), 5,21 (т, 1H, 4-H), 4,81 (дд, 1H, 2-H), 4,53 (д, 1H, 5-H), 2,00 (уш. с) и 2,04 (с) (9H, 3 OAc); $J_{1,2}$ 4 Гц, $J_{2,3}=J_{3,4}=J_{4,5}=10$ Гц. Расплав вещества при потирании кристаллизуется. Кристаллическое вещество имеет т. пл. 100°С, повторная кристаллизация низкоплавкого образца с затравлением полученным высокоплавким образцом дает модификацию с т. пл. 104–105°С, $[\alpha]_D^{25} + 200^\circ$ (с 0,71), R_f 0,46. Лит. данные — см. [7, 8, 13, 19–21]. ИК (ν , см⁻¹): 500, 513, 563, 573, 1757, 1773. Спектры модификаций имеют заметные различия в соотношениях интенсивностей пиков или в количестве малонинтенсивных пиков. Масс-спектр, 60°С, m/z (интенсивность, %): 396/398 (M^+ , 0,4/0,4), 354 (2,5), 317 ($[M-Br]^+$, 3), 257 (12), 215 (13), 197 (15), 173 (10), 155 (100), 127 (40), 99 (4), 83 (4). Спектр ПМР эфира (I) идентичен вышеприведенному и описанному в литературе [12, 25].

Работа выполнена по планам и при финансовой поддержке Комиссии по репродукции человека Всемирной организации здравоохранения. Авторы очень признательны В. И. Бетанели (ИОХ АН СССР) за консультацию и А. Ф. Свиридову (ИОХ АН СССР) за предоставление образца левоглюкозана.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mattox V. R., Goodrich J. E., Nelson A. N. Steroids, 1982, v. 40, № 1, p. 23–40.
2. Goto J., Suzuki K., Nambara T. Chem. and Pharm. Bull. (Japan), 1982, v. 30, № 12, p. 4422–4428.
3. Shimada K., Shinkai H., Nambara T. Chem. and Pharm. Bull. (Japan), 1982, v. 30, № 12, p. 4417–4421.
4. Mattox V. R., Nelson A. N., Vrieze W. D., Jardine I. Steroids, 1983, v. 42, № 4, p. 349–365.
5. Numazawa M., Nagaoka M., Tsuji M. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1983, v. 1, p. 121–125.
6. Samarajeeva P., Kellie A. E. J. Steroid Biochem., 1985, v. 22, № 6, p. 843–849.
7. Kumar R., Londowski J. M., Murari M. P., Nagubandi S. J. Steroid Biochem., 1982, v. 17, № 5, p. 495–502.
8. Hadd H. E., Slikker W., Miller D. W., Helton E. D., Duax W. L., Strong P. D., Swenson D. C. J. Steroid Biochem., 1983, v. 18, № 1, p. 81–87.
9. Hadd H. E., Slikker W., Helton E. D. J. Steroid Biochem., 1980, v. 13, № 9, p. 1107–1114.
10. Чкаников Н. Д., Толкачев В. Н., Корнвейц М. З., Преображенская М. Н. Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 8, с. 1143–1148.
11. Oatis J. E., Baker J. P., McCarthy J. R., Knapp D. R. J. Med. Chem., 1983, v. 26, № 12, p. 1687–1691.
12. Литвак М. М., Бетанели В. И., Бакиновский Л. В., Кочетков Н. К. Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 8, с. 1133–1142.
13. Bowering W. D. S., Timell T. E. J. Amer. Chem. Soc., 1960, v. 82, № 11, p. 2827–2828.
14. Войтенко А. Д., Фельдман Д. П., Шиманская М. В., Лидик М. Ю. Хим.-фармацевт. журн., 1983, т. 17, № 1, с. 82–89; 1984, т. 18, № 11, с. 1356–1360.
15. Zemplen G., Gerecs A. Chem. Ber., 1931, v. 64, № 2, p. 1545–1554.
16. Matsui M., Okada M. Chem. and Pharm. Bull. (Japan), 1970, v. 18, № 18, p. 2129.
17. Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза. Т. IV. М.: Мир, 1971, с. 176.
18. Cohen N., Banner B. L., Lopresti R. L., Wong F., Rosenberger M., Lin Y.-Y., Thom E., Liebman A. A. J. Amer. Chem. Soc., 1983, v. 105, № 11, p. 3661–3672.
19. Goebel W. H., Babers F. H. J. Biol. Chem., 1935, v. 111, № 2, p. 347–349.
20. Seto A., Schultze M. O. J. Amer. Chem. Soc., 1956, v. 78, № 8, p. 1616–1618.
21. Bollenback G. N., Long J. W., Benjamin D. G., Lindquist J. A. J. Amer. Chem. Soc., 1955, v. 77, № 12, p. 3310–3315.
22. Вальди Д. В кн.: Хроматография в тонких слоях. М.: Мир, 1965, с. 488.
23. Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза. Т. I. М.: Мир, 1971, с. 243.
24. Cayer K. H., Tennenhouse G. Can. J. Chem., 1959, v. 37, № 8, p. 1373–1374.
25. Heyns K., Trautwein W.-P., Espinosa F. G., Paulsen H. Chem. Ber., 1966, v. 99, № 4, p. 1183–1191.

Поступила в редакцию
21.I.1986
После доработки
24.III.1986

SYNTHESIS OF THE GLUCURONIDIZING REAGENT, METHYL(2,3,4-TRI-O-ACETYL- α -D-GLUCOPYRANOSYLBROMIDE) URONATE, FROM LEVOGLUCOSANE

GOLUBOVSKAYA L. E., PIVNITSKY K. K.

*Institute of Experimental Endocrinology and Hormone Chemistry,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

The synthesis of methyl(2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromide)uronate, widely used glucuronidizing reagent,— is developed starting from the readily available levoglucosane. The scission of anhydro-ring of levoglucosane triacetate by $TiBr_4$ affords 2,3,4-tri-O-acetyl- α -D-glucopyranosylbromide. Oxidation of the hydroxymethyl group by Jones method followed by methylation with diazomethane results in the desired glucuronic acid derivative. The total yield of this four-step procedure amounts to 38%.