



УДК 547.455.623'623'16.057

ФТОРИДЫ САХАРОВ КАК ГЛИКОЗИЛИРУЮЩИЕ АГЕНТЫ.
СИНТЕЗ β -D-ГЛЮКУРОНОПИРАНОЗИДОВ
n-НИТРОФЕНОЛА, 4-МЕТИЛУМБЕЛЛИФЕРОНА
И 4-ТРИФТОРМЕТИЛУМБЕЛЛИФЕРОНА

Возный Я. В., Каличева Ш. С., Галоян А. А.

Институт биохимии Академии наук АрмССР, Ереван

Осуществлен синтез метил(2,3,4-три-O-ацетил- β -D-глюкопиранозилфторид)уроната. Взаимодействием этого соединения с триметилсилиловыми эфирами n-нитрофенола, 4-метилумбеллиферона и 4-трифторметилумбеллиферона при катализе эфиратом трехфтористого бора с хорошим выходом синтезированы производные арилглюкуроноидов, которые после удаления защитных групп могут служить удобными субстратами для глюкуроноидаз.

Синтетические арилглюкуроноиды находят применение в качестве хромогенных или флуорогенных субстратов глюкуроноидаз, а также для изучения метаболитов различных лекарственных средств. Для их синтеза используется в основном метод Кенигса — Кнорра и его модификации, различающиеся, как правило, природой промотора (карбонат серебра, оксиды серебра и ртути, карбонат кадмия и др.). Нестабильность глюкуронопиранозилбромидов при хранении [1], необходимость вести конденсацию длительное время [1, 2] и умеренные выходы целевых соединений [3] стимулируют разработку новых подходов к синтезу арилглюкуроноидов [1, 4], характеризующихся резким повышением выхода на стадии взаимодействия гликозилирующего агента с агликоном, достигаемым путем усложнения синтеза самого гликозилирующего агента на предварительных стадиях.

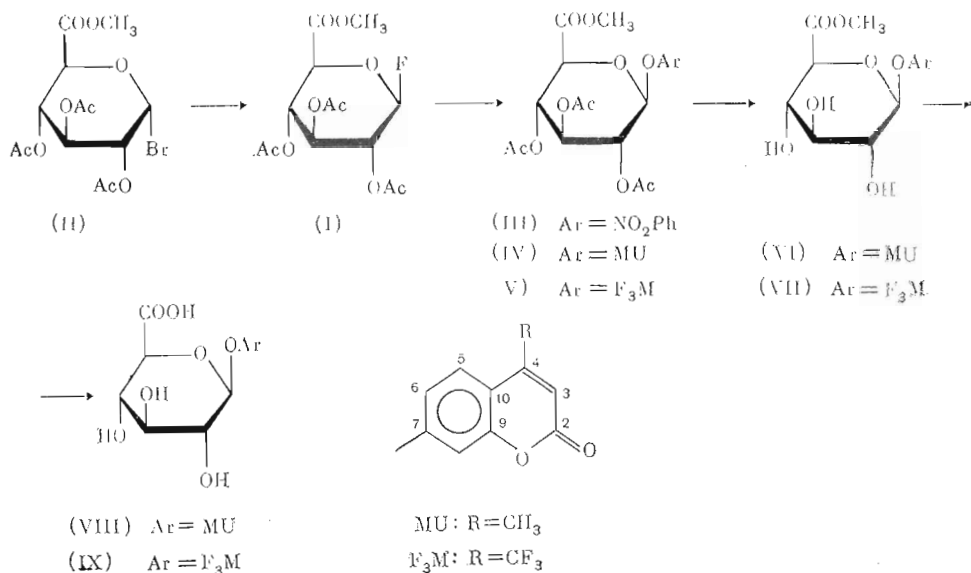
В русле указанной тенденции развития гликозидного синтеза находятся методы, основанные на применении ацилгликозилфторидов нейтральных альдоз [5—7], которые в перспективе могут явиться альтернативной методу Кенигса — Кнорра. Это побудило нас изучить применимость ацилгликозилфторидов урановых кислот для синтеза арилглюкуроноидов.

С другой стороны, помимо хорошо известных гликозидов n-нитрофенола и 4-метилумбеллиферона весьма интересным мог бы оказаться глюкуроноид 4-трифторметилумбеллиферона, флуоресцентного фенола, у которого по сравнению с 4-метилумбеллифероном больший сдвиг Стокса, а максимум флуоресценции находится в более длинноволновой области (~505 нм).

Исходный метил(2,3,4-три-O-ацетил- β -D-глюкопиранозилфторид)уонат (I) был получен с выходом 49% из сиропообразного бромида (II) по методике, разработанной для получения 1,2-транс-ацилгликозилфторидов нейтральных альдоз [8], путем кипячения с гидрофторидом коаллидиния в среде нитрометана в присутствии бромной ртути. В его ^{13}C -ЯМР-спектре (см. «Экспериментальную часть») имеются сигналы шести углеродных атомов моносахарида, метоксигруппы, трех ацетильных групп. Константа спин-спинового взаимодействия $J_{\text{C}_1, \text{F}}$ 222,5 Гц соответствует β -конфигурации.

Триметилсилиловые эфиры n-нитрофенола и 4-трифторметилумбеллиферона получены аналогично описанному ранее [7] для 4-метил-7-триметилсилилоксикумарина, путем взаимодействия фенолов со смесью гексаметилдисулазан — триметилхлорсилан при нагревании.

Далее полученные триметилсилиловые эфиры вводились в конденсацию с фторидом (I) в условиях, описанных ранее для синтеза 4-метилумбеллиферилгликозидов [7]. Следует отметить, что по сравнению с превращением ацилгликозилфторидов нейтральных альдоз реакция протекает несколько медленнее и завершается за 15–20 ч. Выход соединений (III)–(V) 59–82%.



Строение полученных соединений (III) и (IV) следует из совпадения констант с лит. данными [1, 3, 9], а для соединения (V) выводы основаны на результатах анализа его ¹³C-ЯМР-спектра, в котором имеются сигналы трех ацетильных групп, карбметоксигруппы, пяти углеродных атомов пиранозного цикла и 10 углеродных атомов агликона.

При попытке дезацетилирования соединения (V) действием каталитических количеств метилата натрия в метаноле наблюдалось отщепление трифторметилумбеллиферона и выход соединения (VII) был невысок (52%). Более удобным способом удаления защитных ацетильных групп оказалась кислотный метанолиз, приводящий к соединениям (VI) и (VII) с выходом 80%. Интересно, что в случае трифторметилумбеллиферилпроизводного (VII) легко проводится кислотный гидролиз карбметоксильной группы действием 1 н. HCl, в то же время для метилумбеллиферилпроизводного (VI) такое превращение идет намного хуже, и поэтому переход от соединения (VI) к соединению (VIII) проводили действием 1 н. NaOH (суммарный выход 65%). Описанное ранее [9] одностадийное удаление ацетильных и метоксильной группы действием щелочи приводит к соединению (VIII) с выходом 35%.

Сравнение выходов соединений (III) и (IV) с описанными в литературе показывает, что предлагаемый способ позволяет повысить выход соединения (IV) с 33 до 59%. В то же время выход соединения (III) составляет 82%, что лишь немногим ниже, чем в методике с использованием трихлорацетимидонильных производных глюкуроновой кислоты [1].

Таким образом, конденсация триметилсилиловых эфиров фенолов и защищенных 1,2-*транс*-гликозилфторидов глюкуроновой кислоты является новым способом синтеза арилглюконидов, применимым для синтеза хромогенных и флуорогенных субстратов глюкуронидаз.

Экспериментальная часть

4-Трифторметилумбеллиферон (т. пл. 183° С, хлороформ) получен по способу [10] и очищен колоночной хроматографией в системе эфир – бензол, 1:3 (здесь и в других случаях использовали силикагель L 100/250 (ЧССР)). Триметилсилиловые эфиры 4-метилумбеллиферона (т. пл. 61–62° С, гептан, выход 86%) и 4-трифторме-

тилумбеллиферона (т. пл. 82° С, гептан, выход 80%) получены взаимодействием фенолов со смесью триметилхлорсилан — гексаметилдисилазан при кипячении в течение 1—2 ч. Сиропообразный триметилсилиловый эфир 4-нитрофенола получен аналогично, очищен перегонкой (т. кип. 282—283° С, выход 100%). Фторид коллидиния (т. пл. 95—97° С) получен по способу [8]. Эфират трехфтористого бора и бромная ртуть — коммерческие. Нитрометан и бензол очищены перегонкой над гидридом кальция, сухой хлороформ готовили непосредственно перед использованием с помощью короткой колонки с силикагелем в качестве осушителя. Катионит КРС-2п (H⁺-форма, фракция 0,25—0,5 мм) перед применением промывали водой. Фторид (I) хранили в стеклянной посуде при комнатной температуре, триметилсилиловые эфиры фенолов — в эксикаторе над фосфорным ангидридом. Соединения (I) и (II) обнаруживали на пластинках Silufol UV-254 (ЧССР) нагреванием, в остальных случаях использовали лампы ДБ-15 (СССР) с подходящим светофильтром и ДРУФЗ 125 (СССР) без светофильтра. ¹³C-ЯМР-спектры снимали на приборе Bruker AM-300 (ФРГ); для ацетатов использовали раствор в CDCl₃. Химические сдвиги приведены в миллионных долях от тетраметилсилана.

Метил(2,3,4-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозилфторид)уронат (I). В 5 мл нитрометана растворяли при кипячении 4,00 г (28,3 ммоль) фторида коллидиния, 0,36 г (1,0 ммоль) бромной ртути, отгоняли 1—2 мл растворителя и добавляли по каплям раствор 4,10 г (10,32 ммоль) метил(2,3,4-три-О-ацетил-α-D-глюкопиранозилбромид)уроната (II) [11] в 10 мл нитрометана, продолжая отгонку растворителя и кипячение в течение 0,5 ч. К остатку (5—8 мл) после охлаждения прибавляли эфир, промывали водой, упаривали. Хроматографировали на колонке с силикагелем в системе растворителей эфир — бензол, 1:3. После кристаллизации из смеси эфир — гептан получили 1,70 г (49%) фторида (I), т. пл. 108—109° С, [α]_D +18° (с 1,0, хлороформ), R_f 0,47 (эфир — бензол, 1:1). ¹³C-ЯМР: 105,9 (C1, дублет, J_{C, F} 222,5 Гц); 70,9 (C2), 72,2 (C3), 68,0 (C4); 70,5 (C5); 20,5 (CH₃CO); 53,0 (COOCH₃); 166,9 (COOCH₃); 169,0; 169,2; 169,7 (CH₃CO).

Метил(п-нитрофенил-2,3,4-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)уронат (III). К раствору 0,34 г (1,01 ммоль) соединения (I) и 0,50 мл (2,53 ммоль) триметилсилилового эфира п-нитрофенола в 2 мл абс. бензола прибавляли при перемешивании раствор 0,13 мл (1,05 ммоль) эфирата трехфтористого бора в 1 мл абс. бензола. Через 20 ч смесь упаривали, ацетилировали 4 мл смеси пиридин — уксусный ангидрид, 1:3, разбавляли хлороформом (20 мл), промывали водой (2×50 мл), упаривали, хроматографировали на колонке с силикагелем в системе эфир — бензол, 1:2. Получили 0,38 г (82,5%) соединения (III), R_f 0,47 (бензол — эфир, 1:1). После кристаллизации из 10 мл этанола т. пл. 153—154° С, [α]_D -51° (с 1,0, хлороформ), что совпадает с данными работ [1, 9].

Метил(4-метилумбеллиферил-2,3,4-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)уронат (IV). Аналогично соединению (III) из 0,68 г (2,02 ммоль) фторида (I), 0,50 г (2,01 ммоль) триметилсилилового эфира 4-метилумбеллиферона и 0,26 мл (2,10 ммоль) эфирата трехфтористого бора в 6 мл абс. бензола получили 0,59 г (59%) кристаллического глюкуронида (IV), R_f 0,22 (эфир — бензол, 1:1), т. пл. 193—194° С (этанол), [α]_D -44° (с 1,0, хлороформ), что совпадает с данными работы [3].

Метил(4-трифторметилумбеллиферил-2,3,4-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)уронат (V). Аналогично соединению (III) из 0,68 г (2,02 ммоль) фторида (I), 0,66 г (2,18 ммоль) триметилсилилового эфира 4-трифторметилумбеллиферона и 0,26 мл (2,10 ммоль) эфирата трехфтористого бора в 6 мл абс. бензола получили после ацетилирования и хроматографии на колонке с силикагелем 0,87 г (79%) глюкуронида (V), R_f 0,52 (бензол — эфир, 1:1), т. пл. 153—154° С (этанол), [α]_D -41,3° (с 0,9, хлороформ). ¹³C-ЯМР: 98,3 (C1), 71,7 (C2), 72,9 (C3); 69,0 (C4); 71,1 (C5); 166,7 (COOCH₃); 53,0 (COOCH₃); 20,5 (COCH₃); 169,1; 169,3; 169,9 (COCH₃); атомов агликона: 158,9 (C2); 113,94; 114,03 (C3); 141,2 (C4, кватер, J_{C, F} 33Гц); 126,7 (C5); 114,9 (C6); 160,1 (C7); 105,0 (C8); 156,0 (C); 121,6 (CF₃, кватер, J_{C, F} 276 Гц). Отнесения сигналов углеродных атомов агликона сделаны с учетом данных работы [12].

Метил(4-метилумбеллиферил-β-D-глюкопиранозил)уронат (VI). К смеси 10 мл абс. метанола и 4 мл сухого хлороформа прибавляли при охлаждении до 0° С 0,4 мл хлористого ацетила, а затем 0,40 г (0,81 ммоль) гликозида (IV). Выдерживали при 20° С 24 ч, упаривали, кристаллизовали из 5 мл метанола. Выход соединения (VI) 0,24 г (80%), R_f 0,29 (этилацетат — ацетон, 5:1), т. пл. 246—247° С, [α]_D -100° (с 0,6, пиридин).

Метил(4-трифторметилумбеллиферил-β-D-глюкопиранозил)уронат (VII). Аналогично соединению (VI) из 0,50 г соединения (V) получили 0,31 г (80%) метилового эфира (VII), R_f 0,54 (этилацетат — ацетон, 5:1), т. пл. 179—180° С (этилацетат), [α]_D -85° (с 0,9, этанол). ¹³C-ЯМР, дейтеропиридин: 101,6 (C1); 74,3 (C2); 77,5 (C3); 72,8 (C4); 77,3 (C5); 52,3 (COOCH₃); 170,1 (COOCH₃); атомов агликона: 159,1 (C2); 114,2; 114,3 (C3); 140,5 (C4, кватер, J_{C, F} 31,7 Гц); 126,7 (C5); 114,7 (C6); 161,6 (C7); 105,0 (C8); 156,4 (C9); 122,3 (CF₃, кватер, J_{C, F} 275,3 Гц).

4-Метилумбеллиферил-β-D-глюкопиранурионид (VIII). К 0,18 г (0,49 ммоль) соединения (VI) прибавили 1 мл 1 н. NaOH, оставили при 20° С на 0,5 ч, нейтрализовали катионитом, отфильтровали, упарили. Остаток растворили в 3 мл 96% этанола, прибавили эфир до помутнения и после кристаллизации при охлаждении выделили 0,14 г (81%) соединения (VIII) с т. пл. 148—150° С, [α]_D -105° (с 0,25, вода), что соответствует данным работы [3]. R_f 0,18 (ацетон — этилацетат, 1:1).

4-Трифторметилумбеллиферил- β -D-глюкопиранурионид (IX). Смесь 0,28 г (0,67 ммоль) соединения (VII) и 16 мл 1 н. HCl перемешивали 3 сут при 20° С. Упаривали, хроматографировали на колонке с силикагелем в системе ацетон – этилацетат, 1 : 5. Получили 0,22 г (81%) соединения (IX), R_f 0,32 (ацетон – этилацетат, 1 : 1). Кристаллизовали из смеси этилацетат – эфир, температура плавления нечеткая; разлагается при 180° С, $[\alpha]_D -88^\circ$ (с 1,1, этанол). ^{13}C -ЯМР (D_2O): 100,2 (C1); 73,4 (C2); 76,1 (C3); 72,1 (C4); 75,6 (C5); 172,3 (COOH); атомов углерода: 161,6 (C2); 113,7 (C3); 142,0 (C4, кватрет, $J_{\text{C, F}}$ 31,7 Гц); 126,9 (C5); 115,5 (C6); 160,9 (C7); 105,2 (C8); 155,7 (C9); 122,0 (CF₃, кватрет, $J_{\text{C, F}}$ 274,5 Гц).

ЛИТЕРАТУРА

1. Fischer B., Nudelman A., Ruse M., Herzig J., Gottlieb H.E. // J. Org. Chem. 1984. V. 49. № 25. P. 4988–4992.
2. Bollenback G. N., Long J. W., Benjamin D. G., Lindquist J. A. // J. Amer. Chem. Soc. 1955. V. 77. № 12. P. 3310–3315.
3. Woollen J. W., Walker P. G. // Clin. chim. acta. 1965. V. 12. № 6. P. 659–670.
4. Schmidt R. R., Grundler G. // Synthesis. 1981. № 11. P. 885–887.
5. Schmidt R. R. // Angew. Chem. Int. Ed. 1986. V. 25. № 3. P. 213–236.
6. Возный Я. В., Чижов О. С., Галоян А. А. // Биооргани. химия. 1985. Т. 11. № 2. С. 276–278.
7. Возный Я. В., Каличева И. С., Галоян А. А. // Биооргани. химия. 1986. Т. 12. № 4. С. 521–525.
8. Возный Я. В., Каличева И. С., Галоян А. А. // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 3. С. 406–409.
9. Robinson D., Smith J. N., Williams R. T. // Biochem. J. 1951. V. 50. № 2. P. 221–227.
10. Whalley W. B. // J. Chem. Soc. 1951. № 11. P. 3235–3238.
11. Bowering W. D. S., Timell T. E. // J. Amer. Chem. Soc. 1960. V. 82. № 11. P. 2827–2830.
12. Cussans N. J., Buckerby T. N. // Tetrahedron. 1975. V. 31. № 21. P. 2719–2726.

Поступила в редакцию
19.I.1987
После доработки
21.IV.1987

SUGAR FLUORIDES AS GLYCOSYLATING AGENTS. SYNTHESIS OF p-NITROPHENYL, 4-METHYLUMBELLIFERYL AND 4-TRIFLUOROMETHYL- UMBELLIFERYL β -D-GLUCOPYRANOSYLURONIDES

VOZNY Ya. V., KALICHEVA I. S., GALOYAN A. A.

Institute of Biochemistry, Academy of Sciences of the Armenian SSR, Yerevan

Methyl 2,3,4-tri-O-acetyl- β -D-glucopyranosylfluoride uronate has been synthesised. Its condensation with 4-methyl-7-trimethylsilyloxy coumarine, 4-trifluoromethyl-7-trimethylsilyloxy coumarine or trimethylsilyloxy-4-nitrobenzene catalyzed by boron trifluoride etherate lead to the corresponding aryl glucuronide derivatives with good yields. After deprotection, these derivatives may be used as convenient chromo- and fluorogenic substrates for glucuronidases.