

УДК 615.012.1:547.655.6.076

О.П. Бондарчук

БІООРГАНІЧНИЙ СИНТЕЗ ГЛІКОЗИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ АНТРАХІНОНІВ. ЧАСТИНА 2. СИНТЕЗ ПОХІДНИХ АЛІЗАРИНУ.

Івано-франківський національний медичний університет,
м. Івано-Франківськ, Україна

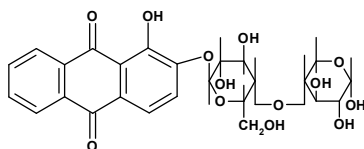
e-mail: syan@ukr.net

Резюме: Було одержано методом біоорганічного синтезу глікозилізовані похідні алізарину за допомогою штаму культури ґрунтової бактерії *Saccharothrix espanaensis*. Розділення отриманих продуктів проводили методом *LC/ESI-MS* (ВЕРХ-мас-хроматографії), підтвердження будови отриманих похідних проводили спектральними методами (УФ, ІЧ, ^1H і ^{13}C ЯМР, *COSY*, *HSQC*, *HMBC*, *2D-NOESY*, *ROESY*).

Ключові слова: глікозилізовані похідні, алізарин, антрахінони, *Saccharothrix espanaensis*, біоорганічний синтез.

Вступ. У зв'язку з особливою цінністю нафтохінонів та антрахінонів безумовний інтерес викликає їх модифікація глікозидними фрагментами. Це зумовлено попередніми науковими дослідженнями, які показали високу різноманітну біологічну активність хіноїдних сполук, а введення в їх структуру глікозидного фрагменту з метою зменшення токсичності та надання сполукам нових біологічних та фізико-хімічних властивостей, має як теоретичний, так і практичний інтереси.

Глікозидні похідні антрахінонів, що зустрічаються в рослинному світі, яскраво забарвлені і є природними барвниками. Так, здавна відомий алізарин жовто-червоного кольору, у вигляді руберитринової кислоти **1** міститься у коренях *Rubia tinctorum* та інших видах *Rubia*, в якій аглікон (алізарин) в положенні C^2 сполучений з дисахаридом на основі D-глюкози і D-ксилози².

Руберитринова кислота **1**

Необхідно відзначити, що глікозилування за класичними методами органічного синтезу багатостадійний і тривалий процес при доволі мізерному виході продукту і без необхідної специфічності та просторової орієнтації, тому наявність мікроорганізмів, здатних здійснювати ефективну глікозиляцію, дає можли-

вість значно розширити синтетичні можливості та спектр біологічної активності речовин³.

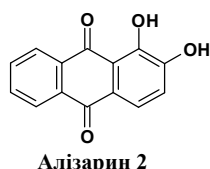
Показана раніше¹ можливість біоорганічного синтезу за допомогою *Saccharothrix espanaensis* глікозилізованих похідних емодину, спонукала на розвиток наукових досліджень у цьому напрямі.

Мета дослідження. Розробка методик та одержання шляхом біоорганічного синтезу глікозилізованих похідних алізарину за допомогою штаму культури ґрунтової бактерії *Saccharothrix espanaensis*.

Матеріали та методи дослідження. Контроль за перебігом реакцій та індивідуальності сполук проводили методом тонкошарової хроматографії (ТПХ) на пластинках «Merk Kieselgel-60F254» і «Silufol UV-254». Препаративну хроматографію виконували на силікагелі марки «LS 5/40» (Merck).

Спектри ^1H і ^{13}C ЯМР, *COSY*, *HSQC*, *HMBC*, *2D-NOESY*, *ROESY* реєстровані на спектрофотометрах «Varian XL-400», «Bruker Avance DRX 400», «JEOL Alpa», «Bruker WP-200», «Varian XL-200». Хромато-мас-спектри записані на «Agilent 1100». При визначенні температури плавлення сполук поправка на виступаючий стовпчик ртуті не проводилась.

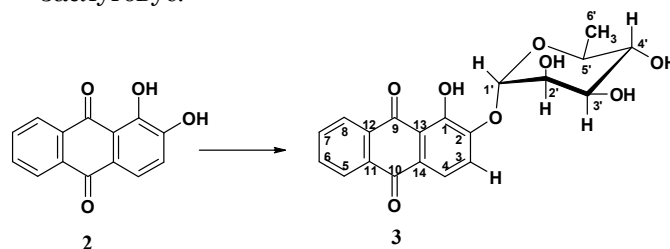
Результати дослідження та їх обговорення. Знаходження в природі глікозилізованих похідних алізарину² та його доступність одержання синтетичним шляхом зумовили його вибір як об'єкта досліджень.



Біоорганічний синтез проводили за стандартними методиками⁷ протягом 6-денного інкубаційного періоду. Екстракт трансформаційних продуктів спочатку аналізували за допомогою рідинної хромато-мас-спектроскопії, а утворення нових глікозилізованих антрахінонів підтверджувалось за допомогою порівняння УФ-спектрів вихідних та кінцевих продуктів.

Алізарин 2 біотрансформується з 87% виходом з утворенням чотирьох продуктів, основним з яких є 2-О- α -L-рамнозилалізарин (*AliPro1*) 3 з виходом 65%; решта утворених

продуктів була виділена у дуже незначній кількості (від 7% до 10%) і суттєвої уваги не заслуговує.



Як свідчать результати *LC/ESI-MS* аналізу етилацетатного екстракту реакційної суміші алізарину 2 з *S. espanaensis* (рис. 1), основним продуктом біотрансформації є глікозилізований алізарин 3 з масовим піком $m/z = 385$ $[M-H]^-$ та смугою адсорбції з $\lambda_{max} = 417$ нм (гіпсохромний зсув).

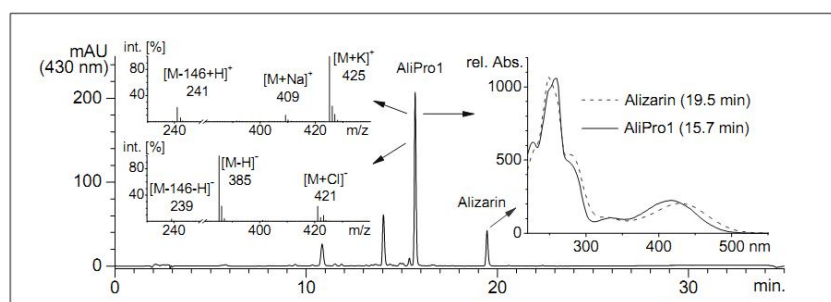


Рис. 1. *LC/ESI-MS* аналіз етилацетатного екстракту реакційної суміші алізарину 2 з *S. espanaensis*

Іон молекулярної маси продукту біоорганічного синтезу збільшився на 145 в.о., що однозначно вказує на введення в структуру алізарину 2 глікозидного фрагменту – рамнози з утворенням 2-О- α -L-рамнозилалізарину (*AliPro1*) 3 з молекулярною масою у 386 в.о.

Інтерпретація спектрів ЯМР (1H , ^{13}C , *NOESY*) однозначно підтверджує структуру 3 (рис. 2, 3). Визначення OH^2 як позиції глікозилування вдається із застосуванням двомірних 2D ЯМР *H-H-COSY* і *NOESY*, які використовуються для виміру міжпротонної відстані та визначення просторової структури у

конформаційно жорстких системах в різноманітних розчинах. Підтвердженням наявності зв'язку C^2-O-C1' є присутність протонного синглету з типовим зсувом α -протону гідроксильної групи ($\Delta H = 12,68$ ppm) і взаємодія H^3 ($\delta = 5,60$ ppm) і $H^{1'}$ ($\delta = 7,58$ ppm). Протонний сигнал $H^{3'}$ у *H-H-COSY* знаходиться при $\delta = 3,72$ ppm та проявляється тільки при цьому подібному зсуві, як і еквівалентний протонний сигнал H^6 , що знаходиться при $\delta = 3,49$ ppm. Залежність хімічного переміщення $H^{3'}$ сигналу від позиції глікозилування підтверджується і ілюстровано на рис. 2.

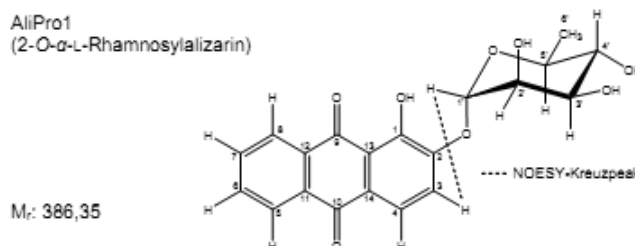


Рис. 2. Структура 2-О- α -L-рамнозилалізарину 3

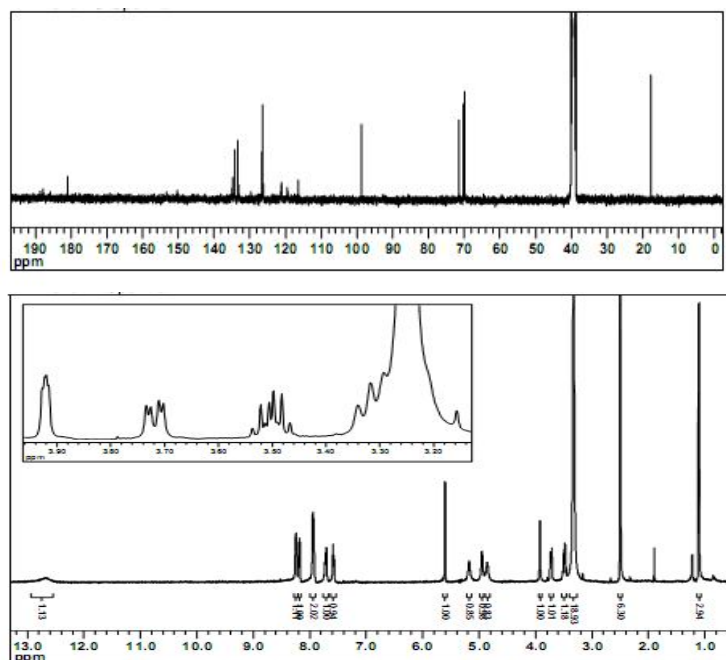


Рис. 3. Спектри ^1H , ^{13}C ЯМР 2-О- α -L-рамнозилалізарину **3** у $\text{DMSO-}d_6$, (δ/ppm)

Таким чином, складність проведення синтезу за класичною методикою, з успіхом було компенсовано біоорганічним синтезом за допомогою штаму *Saccharothrix espanaensis*.

Вдалося селективно і з достатньо добрими виходами ввести глікозидний фрагмент в структуру алізарину.

Висновки:

1. Вперше було одержано біосинтетичним шляхом глікозилізовані похідні алізарину, використовуючи штам бактерій *Saccharothrix espanaensis*.
2. Проведений аналіз даних LC/ESI-MS показав, що у ході біосинтезу утворюється суміш продуктів з загальним виходом 87% з утворенням чотирьох сполук, ос-

новним з яких є 2-О- α -L-рамнозилалізарин (*AliPro1*) **3** з виходом 65% будова якого була підтверджена даними спектрів ЯМР (^1H , ^{13}C , *HMBC*, *H-COSY*, *ROESY*), решта утворених продуктів не виділялася у зв'язку з низькими виходами.

Література:

1. Бондарчук О.П. Біоорганічний синтез глікозилізованих похідних антрахінонів. Частина 1. Синтез похідних емодину / О.П. Бондарчук // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. – 2013. – №4. – С. 100-105.
2. Химия биологически активных природных соединений / Евстигнеева Р.П., Серебренникова Г.А., Звонкова Е.Н. [и др.]; Под ред Н.А. Преображенского и Р.П. Евстигнеевой. – М.: Химия, 1976. – 456 с.
3. Bacterial biosynthesis of a multipotent stilbene / S.A. Joyce, A.O. Brachmann, I. Glazer [et all.] // *Angewandte Chemie-International Edition*. – 2008. – № 47. – P. 1942-1945.

УДК 615.012.1:547.655.6.076

БИООРГАНИЧЕСКОЙ СИНТЕЗ ГЛИКОЗИЛИРОВАННОГО ПРОИЗВОДНЫХ АНТРАХИНОНА. ЧАСТЬ 2. СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ АЛИЗАРИНА.

О.П. Бондарчук

Ивано-Франковский национальный медицинский университет, г. Ивано-Франковск, Украина

Резюме: Была разработана методика и получены способом биорганіческой синтеза гликозилірованные производные ализарина с помощью штамма культуры почвенной бактерии *Saccharothrix espanaensis*. Раз-

ISSN 2070-3112

«Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація»

2014, №1-2

деление полученных продуктов проводили методом *LC/ESI-MS* (ВЭЖХ-масс-хроматографии), подтверждение строения полученных производных проводили спектральными методами (УФ, ИК, ^1H и ^{13}C ЯМР, *COSY*, *HSQC*, *HMBC 2D-NOESY*, *ROESY*).

Ключевые слова: гликозилированные производные, *Saccharothrix espanaensis*, биоорганический синтез, ализарин, антрахиноны.

UDC 615.012.1:547.655.6.076

BIOORGANIC SYNTHESIS OF GLYCOSYLATED ANTHRAQUINONE DERIVATIVES. PART 2. SYNTHESIS OF ALIZARIN DERIVATIVES.

O.P. Bondarchuk

Ivano-Frankivsk national medical university, Ivano-Frankivsk, Ukraine

Summary: The method of bioorganic synthesis of glycosylated alizarin derivatives was developed using soil bacterium strain culture *Saccharothrix espanaensis*. Separation of the resulting products was performed by LC/ESI-MS (HPLC-mass chromatography). To confirm the structure of the obtained derivative the spectral methods (UV, IR, ^1H and ^{13}C NMR, *COSY*, *HSQC*, *HMBC*, *2D-NOESY*, *ROESY*) were performed.

Keywords: glycosylated derivatives, *Saccharothrix espanaensis*, bioorganic synthesis, alizarin, anthraquinones.

Надійшла до редакції 16.12.2013 р.