



УДК 547.295.94'781.3.057

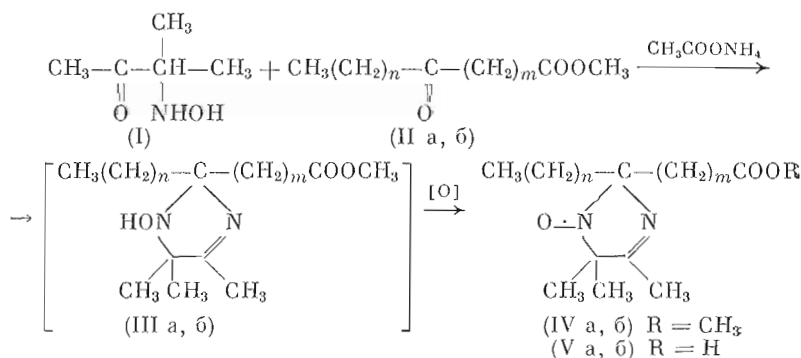
УЛУЧШЕННЫЙ МЕТОД СИНТЕЗА СПИН-МЕЧЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ С ОСТАТКОМ ТРИМЕТИЛИМИДАЗОЛИН-N-ОКСИЛА

Карышев Н. П., Олькин С. Е., Самуков В. В.

*Всероссийский научно-исследовательский институт молекулярной биологии,
пос. Кольцово Новосибирской обл.*

Предложена методика для синтеза в мягких условиях производных стеариновой кислоты с имидазолиновым нитроксильным фрагментом в положениях 5 и 12 углеводородной цепи.

Предложенный ранее [1, 2] метод синтеза производных высших жирных кислот с имидазолиновым нитроксильным фрагментом* заключается в многочасовом кипячении в метаноле смеси хлоргидрата 3-гидроксиламино-3-метилбутан-2-ола (I) (см. схему), соответствующего кетэфира типа (II) и ацетата аммония в качестве донора аммиака. Нами установлено, что в таких условиях наблюдается интенсивная утечка аммиака через обратный холодильник, а также заметное уменьшение концентрации гидроксилламинокетона (I) в течение первых 3–5 ч кипячения, возможно, в результате его самоконденсации [4]. Это ставит под сомнение целесообразность длительного (до 30 ч) кипячения, предложенного авторами препаративного метода [2]**.



a : m = 3, n = 12; б : m = 10, n = 5

Лучшие результаты получены нами при проведении конденсации при комнатной температуре и большом избытке ацетата аммония. Образовавшиеся дизамещенные гидроксилламины (III) не выделяли ввиду легкости их автоокисления. По данным ТСХ, через сутки после начала конденсации в реакционной смеси обычно присутствует продукт окисления (IV), легко идентифицируемый по желтой окраске и поглощению в УФ-свете. Полное окисление может быть достигнуто или выдерживанием смеси продукта конденсации на воздухе в течение нескольких суток, или, значительно быстрее, обработкой двуокисью марганца. После выделения спин-меченых эфиров (IV) колоночной хроматографией и последующего омыления были выделены кислоты (V) в кристаллическом виде (таблица). Строение син-

* Авторы недавней публикации радикалы подобного типа предлагают называть «имоксильными» [3].

** Наши многочисленные попытки воспроизвести методику [2] не увенчались успехом.



Спектры ЭПР спи́н-меченых кислот (Va) (1) и (Vб) (2) в суспензии липосом из яичного фосфатидилхолина в изотоническом растворе NaCl, содержащем 10 мМ трис и 1 мМ EDTA (рН 7,2). Концентрация зонда 10^{-4} М, липида 8 мг/мл, температура 20° С

тезированных радикалов (IVа, б) и (Va, б) подтверждено данными ИК, УФ- и ЭПР-спектроскопии (ср., например, обзор [5]) и элементного анализа. Спектры ЭПР радикалов (Va, б) в липосомах (см. рисунок) напоминают спектры соответствующих докисильных радикалов [6].

Экспериментальная часть

Спектры ЭПР снимали на приборе Varian E-112 (США) при амплитуде модуляции 0,1 мТ, частоте 100 кГц, микроволновой мощности 10 мВт. ИК-спектры записывали на спектрометре Ассу Lab 8 (Beckman, США) в таблетках с KBr для твердых веществ и в пленке для маслообразных, УФ-спектры — на спектрофотометре Perkin — Elmer 550 (ФРГ) в этаноле. ТСХ осуществляли на пластинках с закрепленным слоем силикагеля 60 F₂₅₄ (Merck, ФРГ) в системе гексан — эфир (1 : 2), обнаружение производили 10% хлорной кислотой с последующим нагревом при 150° С, а также в УФ-свете (для радикалов). Колоночную хроматографию проводили на колонке (3,3×30 см) с силикагелем 50—125 мкм (Serva, ФРГ). Использовали гидроксиламинокетон (I) опытного производства Института органической химии СО АН СССР и двуокись марганца катализаторную марки ч. Зонды в липосомы из яичного фосфатидилхолина вводили по описанной методике [2].

Характеристики синтезированных радикалов

Соединение	(IVа)	(Va)	(IVб)	(Vб)
Выход, %	50 *	84	70 *	85
Т. пл., °С (из гексана)	36—37	58—60	Масло	47—49
R_f^{**}	0,39	0,10	0,61	0,40
ν (C=O), см ⁻¹	1745	1700	1735	1700
ν (C=N), »	1640	1635	1640	1635
ϵ при λ_{\max} 240 нм	1190	1290	1370	1300
Спектр ЭПР, a_N^{***} (мТ) в этаноле (спин/моль · ·10 ⁻²³)		1,43 (5,6)		1,42 (5,8)
Найдено, %:				
С	71,19	70,22	70,82	69,97
Н	11,62	11,38	11,13	10,85
N	6,67	7,01	6,76	7,08
Брутто-формула	C ₂₄ H ₄₅ N ₂ O ₃	C ₂₃ H ₄₃ N ₂ O ₃	C ₂₄ H ₄₅ N ₂ O ₃	C ₂₃ H ₄₃ N ₂ O ₃
Выяслено, %:				
С	70,37	69,83	70,37	69,83
Н	11,07	10,95	11,07	10,95
N	6,84	7,08	6,84	7,08

* Выход на прореагировавший кетостеарат (IVа, б). Конверсия кетоэфиров (IIа) и (IIб) 35 и 40% соответственно.

** R_f для соединений (IIIа) и (IIIб) 0,32 и 0,51 соответственно.

*** Константа сверхтонкого расщепления.

Метилловый эфир 5-кетостеариновой кислоты (IIa) получали из тридецилбромидом и метилового эфира 4-хлорформилмасляной кислоты, как описано для метил-5-кетопальмитата [7]. Выход 70%, т. пл. 53–54° С (из пентана), R_f 0,80. ИК-спектр (ν , см⁻¹): 1740 (сложный эфир), 1717 (кетон). Лит. данные: т. пл. 53,4–54,5° С [8]. Метилловый эфир 12-кетостеариновой кислоты (IIб) получали по методу [9].

Метилловые эфиры октадекан-спиро-2'-(1-оксил-4',4',5'-триметилимидазолин)овых кислот (IVa, б). Раствор 1,5 г хлоридрата (I), 3,0 г метилкетостеарата (IIa, б) и 10 г ацетата аммония в 120 мл абс. этанола выдерживали 28 ч при 25° С и упаривали в вакууме. Остаток обрабатывали 50 мл насыщенного водного K₂CO₃ и экстрагировали гексаном (3×100 мл). Экстракт промывали водой (3×50 мл), высушивали сульфатом натрия, упаривали до объема 30 мл и оставляли на 18 ч при 4° С. Выпавший метилкетостеарат отфильтровывали и промывали на фильтре 20 мл холодного гексана. К фильтрату добавляли 5 г MnO₂ и оставляли на 24 ч при эпизодическом встряхивании. Осадок отфильтровывали, промывали 20 мл хлороформа, фильтрат упаривали. Из остатка хроматографией в градиентной системе этилацетат – бензол (от 0:10 до 2:10; общий объем элюента 1000 мл) выделяли непрореагировавший кетостеарат (IIa, б) и желтый радикал (IVa, б).

Октадекан-спиро-2'-(1-оксил-4',4',5'-триметилимидазолин)овые кислоты (Va, б). К раствору 0,5 г эфира (IVa, б) в 7 мл 96% этанола добавляли 2 мл 4% водного KOH, выдерживали 5 ч при 25° С, подкисляли CH₃COOH до pH 5 и экстрагировали бензолом (3×20 мл). Экстракт промывали водой (3×20 мл), упаривали досуха и перекристаллизовывали из гексана. Выходы и характеристики синтезированных соединений даны в таблице.

Авторы выражают благодарность В. А. Резникову за любезно предоставленный 3-гидроксиламино-3-метилбутан-2-он и участие в обсуждении результатов работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жданов Р. И. Парамагнитные модели биологически активных соединений, М.: Наука, 1981. 280 с.
2. Борин М. Л., Кедик С. А., Володарский Л. Б., Швец В. И. Биоорганическая химия, 1984, т. 10, № 2, с. 251–255.
3. Борин М. Л., Кедик С. А., Володарский Л. Б., Швец В. И. Биоорганическая химия, 1984, т. 10, № 11, с. 1553–1559.
4. Жданов Р. И., Ромашина Т. Н., Володарский Л. Б., Розанцев Э. Г. Докл. АН СССР, 1977, т. 236, № 3, с. 605–608.
5. Volodarsky L. B., Grigor'ev I. A., Sagdeev R. Z. In: Biological magnetic resonance. V. 2/Eds Berliner L. J., Reuben J. N. Y.: Plenum Press, 1980, p. 169–241.
6. Гриффит О., Джост И. В кн.: Метод спиновых меток: теория и применение/Пер. с англ. под ред. Розанцева Э. Г. М.: Мир, 1979, с. 489–569.
7. Гаффни Б. Дж. В кн.: Метод спиновых меток: теория и применение/Пер. с англ. под ред. Розанцева Э. Г. М.: Мир, 1979, с. 207–263.
8. Bergström S., Aulin-Erdman G., Rolander B., Stenhagen E., Ostling S. Acta chem. scand., 1952, v. 6, № 17, p. 1157–1174.
9. Waggoner A. S., Kingzett T. J., Rottschaefer S., Griffith O. H. Chem. Phys. Lipids, 1969, v. 3, № 3, p. 245–253.

Поступила в редакцию
5.II.1985

После доработки
26.III.1985

A MODIFIED METHOD FOR SYNTHESIS OF SPIN-LABELED FATTY ACIDS BEARING THE TRIMETHYLIMIDAZOLINE-N-OXYL RESIDUE

KARPYSHEV N. N., OL'KIN S. E., SAMUKOV V. V.

All-Union Research Institute of Molecular Biology, Kol'tsovo,
Novosibirsk Region

A mild procedure for synthesis of stearic acid derivatives comprising an imidazoline nitroxyl fragment in the 5 and 12 positions of the hydrocarbon chain has been developed.