



УДК 547.952.057

© 1990 г.

В. В. Бессонов, А. С. Бушинъв, Е. В. Хлопотова,
Е. Н. Звонкова

СИНТЕЗ *D*- И *L*-ЭРИТРО-ТИОГЛЮКОЦЕРЕБРОЗИДОВ

Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

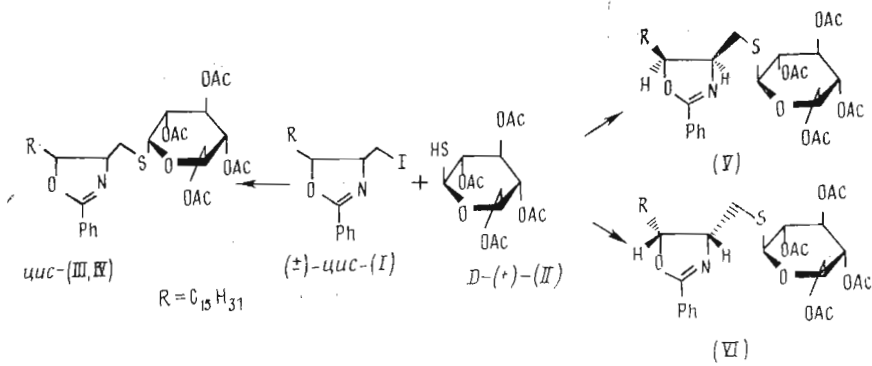
Осуществлен синтез тиоаналогов глюкоцереброзида — *D*- и *L*-эритро-1- β -*D*-глюкопиранозил-2-стеароил-1-дезоксиганганоидов исходя из рацемического *цис*-4-иодметил-5-пентадецил-2-фенил- Δ^2 -оксазолина и тетраацетата β -*D*-тиоглюкозы, причем оптически активные диастереомерные продукты тиогликозилирования были разделены методом жидкостной колоночной хроматографии.

Интерес к изучению специфических к сфинголипидам ферментов обмена [1, 2], лизосомальных ферментов [3], сфинголипидпереносящих белков [4, 5], липидзависимых белков-активаторов сфинголипаз [6, 7] вызвал необходимость использования в качестве инструментов исследования аналогов этого класса липидов.

Тиогликозилсфинголипиды, обладающие специфичным сходством с гликозилсфинголипидами, могут быть применены для решения ряда задач в качестве субстратных аналогов и лигандов для проведения аффинной хроматографии при работе со сфинголипидспецифичными гликозидазами. Как известно, недостаточная активность лизосомальных ферментов этой группы приводит к возникновению ряда патологических состояний, так называемых липидозов, например болезней Гоше и Краббе [3].

В этой связи недавно был осуществлен синтез *D*-эритро-глюкоцидцереброзида с использованием в качестве ключевого соединения неустойчивого 3-бензоил-1-дезоксиганганоид-1-иодцерамида [8]. Не была подробно изучена стереоспецифичность реакции тиогликозилирования и не было приведено достоверных данных по отнесению α - и β -аномерных соединений — продуктов тиогликозилирования. Авторы работы [8] применяли при проведении реакции тиогликозилирования пространственно затрудненное основание 1,8-диазабидцикло[5.4.0]ундец-7-ен, полагая, что это обеспечит β -конфигурацию искомого продукта.

В нашей работе предложен другой способ синтеза тиоглюкоцереброзида на основе рацемического 4-иодметил-*цис*-оксазолина (I) (схемы 1—3), получаемого из промежуточного в синтезе дигидросфингозиновых оснований *цис*-4-гидроксиметил-5-пентадецил-2-фенил- Δ^2 -оксазолина по методу [9]. Использование иодпроизводного (I) в синтезах сфинголипидов ранее было описано при получении фосфонатных аналогов сфингозинфосфата [9], церамидфосфата [10] и сфингомиелина [11]. В последней работе [11] была продемонстрирована возможность приготовления набора производных, различающихся жирнокислотными остатками. Некоторые из них могут быть дополнительно функционализированы и служить якорными группами для получения аффинных сорбентов. Предполагалось, что параллельно с проведением гликозилирования оптически активным тетраацетатом β -*D*-тиоглюкозы (II) будет решен и вопрос расщепления рацемического сфингозинового производного (I) на основе различий в хроматографическом поведении образующихся на этой стадии диастереомеров. С другой стороны, наряду с синтезом тиопроизводного (XII) с природной *D*-эритро-конфигурацией асимметрических центров сфингозинового основания планировалось и получение тиоаналога не природного *L*-эритро-глюкоцереброзида (IX).



Тиогликозилирование рацемического оксазолина (I) проводили в условиях, гарантирующих преимущественное образование продукта с β -конфигурацией образующегося аномерного центра (при 20° С в ацетоне в присутствии триэтиламина) [12]. Как и следовало ожидать, в результате мы наблюдали образование четырех хроматографически различных изомеров — небольших количеств, предположительно α -аномеров (III) и (IV) и, по-видимому, β -аномеров (V) и (VI). Каждая пара аномеров должна различаться абсолютной конфигурацией сфингозинового основания. С помощью жидкостной колоночной хроматографии на силикагеле нам удалось частично разделить эти соединения на смесь минорных продуктов (III) и (IV) и индивидуальные (V) и (VI). Изомерный характер полученных веществ был подтвержден данными элементного анализа и ИК-спектроскопии. В ИК-спектрах соединений (III)—(VI) имеются характеристические полосы поглощения связи C=N оксазолинового цикла (1640 см⁻¹) и связей C=O и C—O сложноэфирных групп (1725, 1250, 1070 см⁻¹). Отнесение образующегося аномерного центра для (III)—(VI) к α - и β -конфигурации осуществлено по хроматографической подвижности этих соединений сравнением с литературными данными [8, 12], а также с помощью ПМР-спектроскопии. Соединениям с R_f 0,54 и 0,57 мы приписали α -конфигурацию (III) и (IV), поскольку именно α -аномеры образуются как минорные продукты реакции тиогликозилирования иодгидринов тиоглюкозой в синтезе тиоаналогов глицерогликолипидов [12]. В этой же работе было показано, что α -аномеры обладают большей по сравнению с β -аномерами хроматографической подвижностью.

Окончательное подтверждение конфигурации аномерных центров в образующихся продуктах следует из анализа данных ПМР-спектроскопии. Характер расщепления сигналов аномерных протонов при 5,76 и 5,68 м. д. и величина константы спин-спинового взаимодействия ($J_{1,2}$ 5 Гц) в обоих случаях несомненно свидетельствуют о *цис*-расположении протонов при C1 и C2 пиранозного цикла остатка глюкозы, что имеет место в соединениях α -конфигурации. Соединениям с R_f 0,43 и 0,29, в ПМР-спектрах которых имеются дублеты 4,73 и 4,70 м. д. с $J_{1,2}$ 10,0 Гц, следует приписать β -конфигурацию аномерного центра (V) и (VI).

Выделенные в индивидуальном состоянии соединения (V) и (VI), как и ожидалось, оказались оптически активными, из чего следует, что нам удалось получить из рацемического оксазолина (I) индивидуальные диастереомерные производные с хиральным остатком (II). Таким образом, отпала необходимость предварительного разделения (\pm) -(I) на энантиомеры в ходе синтеза.

Для установления *D*-эритро- или *L*-эритро-структуры продуктов (V) и (VI) нами проведена корреляция с литературными данными [8]. С этой целью соединения (V) и (VI) повзрось подвергали кислотному гидролизу до аминокэфиров (VII) и (X), которые без выделения в индивидуальном состоянии ацилировали до полностью защищенных тиоглюкоцереброзидов (VIII) и (XI) (см. схемы 2 и 3). Последние соединения обработкой метаноль-

Схема 2

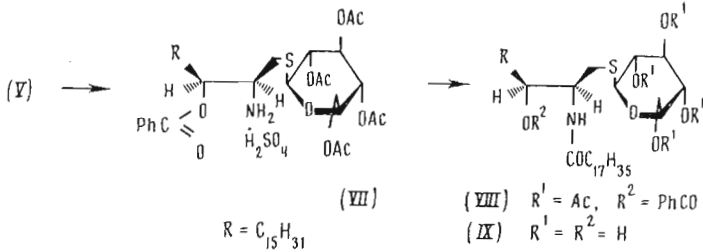
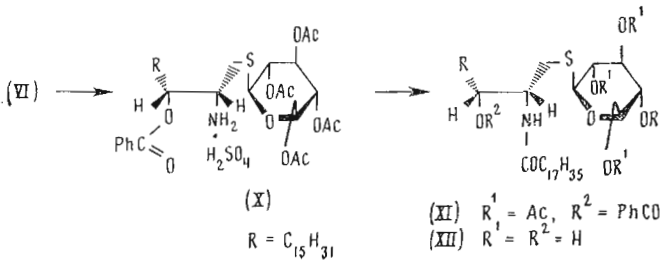


Схема 3



ным раствором метилата натрия переводили в соединения (IX) и (XII). Оказалось, что характеристики защищенного и незащищенного глюкоцереброзидов (XI) и (XII) ($[\alpha]_D^{20}$, данные ПМР-спектроскопии, т. пл.), полученных из вещества с R_f 0,29, идентичны характеристикам соединений, получаемых из насыщенного *D*-эритро-3-бензоилцерамида [8]. На этом основании соединению с R_f 0,29 приписана *D*-эритро-конфигурация (VI), а соединению с R_f 0,43 — *L*-эритро-конфигурация (V).

Таким образом, предложенный нами путь синтеза глюкоциocereброзидов позволяет получить вещества природной конфигурации из рацемических предшественников через стадию хроматографического разделения диастереомерных соединений — продуктов тиогликозилирования, причем такое деление возможно как для смеси веществ (V) и (VI), так и в случае (VIII) и (XI).

Экспериментальная часть

Спектры ПМР снимали на импульсном ЯМР-спектрометре Bruker WM-(ФРГ), рабочая частота 250,13 МГц в дейтерохлороформе, внутренний стандарт — тетраметилсилан. ИК-спектры получали на приборе Shimadzu IR-435 (Япония) в виде пасты в вазелиновом масле для кристаллических веществ и в пленке для маслообразных. Значения углов оптического вращения и данные ДОВ получены на спектрополяриметре Perkin—Elmer 241-МС (Великобритания) при 20° С. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле *L* 40/100 мкм (Chemapol, ЧССР), ТСХ — на силуфоле UV-254 (Chemapol, ЧССР) и кизельгеле 60F-254 (Merck, ФРГ) в системах растворителей петroleйный эфир — эфир, 1 : 3 (А), 1 : 1 (Б), гексан — этилацетат, 2 : 1 (В), хлороформ — метанол — ацетон, 10 : 0,5 : 0,5 (Г). Обнаружение пятен при ТСХ проводили прокаливанием при 350° С, обугливанием с серной кислотой или в парах иода. Вещества, поглощающие в УФ-области, обнаруживали и в УФ-свете. Вещества, содержащие оксазолиновые циклы, проявляли молибденовым синим при нагревании до 100° С. Температуры плавления измеряли на приборе Voetius (ГДР). Рацемический иодметилоксазолин (I) получен по методу [10]. Тетраацетат β -*D*-тиоглюкозы (II) синтезирован по методу [13], т. пл. 75–76° С (MeOH), $[\alpha]_D^{20} + 6,5^\circ$ (*c* 1, хлороформ); литературные данные [13]: т. пл. 75° С, $[\alpha]_D^{20} + 5,0 \pm 0,5^\circ$ (*c* 1, хлороформ). Данные элементного анализа соединений (V, VI, VIII, XI) на С, Н, N удовлетворительно совпали с вычисленными значениями.

цис-4-(2,3,4,6-Тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил-1-тиометил)-5-пентадецил-2-фенил-Δ²-оксазолины (III—VI). Раствор 0,25 г иодоксазолина (±)-(I), 0,35 г 2,3,4,6-тетра-О-ацетил-β-D-тиоглюкозы (II) и 0,18 мл триэтиламина в 10 мл ацетона выдерживали 24 ч при 20° С, упаривали, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм, элюируя смесью петролейный эфир — эфир, 1 : 3; получали:

1) 0,05 г (13,2%) смеси α-аномеров D- и L-оксазолинов (III) и (VI), масло, кристаллизующееся при стоянии, т. пл. 50—51° С, R_f 0,54 и 0,57 (A), ИК-спектр (см^{-1}): 1740 (с), 1635 (с), 1440 (с), 1360 (с), 1220 (с), 1080 (с), 1030 (с). ПМР-спектр (δ , м. д.): 7,71—7,23 (м), 5,76 (д, 5,0 Гц), 5,68 (д, 5,0 Гц), 5,29 (м), 5,03 (м), 4,38 (м), 4,22 (м), 4,05 (м), 3,80 (м), 3,55 (м), 2,80 (м), 2,49 (дд), 2,25—1,95 (м), 1,60 (м), 1,45—1,05 (м), 0,88 (т);

2) 0,14 г (37,0%) β-аномера L-ряда (V), т. пл. 98—100° С (гексан), R_f 0,43 (A). ИК-спектр (см^{-1}): 1730 (с), 1640 (с), 1240 (с), 1040 (с). ПМР-спектр (δ , м. д.): 8,00—7,50 (м), 5,15 (т), 5,10 (дд), 5,05 (дд), 4,73 (д, 10,0 Гц), 4,55 (дд), 4,25 (дд), 4,10 (м), 3,85 (м), 3,20 (дд), 2,73 (дд), 2,16—1,86 (м), 1,65 (м), 1,35—1,15 (м), 0,86 (т). ДОВ $[\alpha]$ (с 1, хлороформ), град (λ , нм): —9,1 (589), —10,7 (546), —20,0 (435), —25,0 (407), —35,5 (366).

3) 0,14 г (37,0%) β-аномера D-ряда (VI), масло, кристаллизующееся при стоянии, т. пл. 61—62° С, R_f 0,29 (A). ИК-спектр (см^{-1}): 1740 (с), 1640 (с), 1440 (с), 1360 (с), 1220 (с), 1020 (с). ПМР-спектр (δ , м. д.): 7,80—7,40 (м), 5,23 (т), 4,98 (дд), 4,76 (дд), 4,70 (д, 10,0 Гц), 4,40 (дд), 4,15 (м), 3,80 (м), 3,69 (м), 2,90 (д), 2,15—1,95 (м), 1,83 (с), 1,65 (м), 1,35—1,15 (м), 0,85 (т). ДОВ $[\alpha]$ (с 1, хлороформ), град (λ , нм): —19,0 (589), —22,5 (546), —39,4 (435), —46,7 (407).

L-эритро-1-(2,3,4,6-Тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)-3-бензоил-2-стеароил-1-дезоксигангидин (VIII). К раствору 0,033 г соединения (V) в 0,4 мл ТНФ прибавляли 0,13 мл 3 н. H_2SO_4 , через 3 ч одновременно добавляли раствор ацетата натрия (1,32 мл насыщенного раствора) и 0,33 г стеароилхлорида в 0,4 мл ТНФ, перемешивали 3 ч при 20° С, разбавляли 25 мл эфира, промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (2 × 10 мл), водой, сушили сульфатом натрия, упаривали. Выход 0,052 г (89,0%), т. пл. 55—57° С, R_f 0,54 (B). ИК-спектр (см^{-1}): 1740 (с), 1630 (с), 1520 (с), 1230 (с), 1080 (с). ПМР-спектр (δ , м. д.): 8,1—7,50 (м), 6,12 (д), 5,39 (т), 5,15 (м), 4,53 (д, 10,0 Гц), 4,15 (м), 3,95 (м), 3,75 (т), 2,90 (дд), 2,34 (т), 2,13—1,88 (м), 1,58 (м), 1,45—1,10 (м), 0,81 (т). ДОВ $[\alpha]$ (с 0,7, хлороформ), град (λ , нм): —13,8 (589), —15,7 (546), —21,1 (435), —26,3 (407).

L-эритро-1-(β-D-Глюкопиранозил)-2-стеароил-1-дезоксигангидин (IX). К раствору 0,038 г защищенного цереброзида (VIII) в смеси 0,8 мл метанола и 0,2 мл хлороформа прибавляли 0,3 мл 2 н. раствора метилата натрия в метаноле, выдерживали 1 ч при 20° С, разбавляли 4 мл воды, выпавший осадок отделяли, промывали водой, сушили на фильтре. Выход 0,022 г (96,0%), т. пл. 166—168° С, R_f 0,22 (Г). ИК-спектр (см^{-1}): 3300 (с), 1630 (ср), 1550 (ср), 1460 (ср), 1430 (сл), 1360 (сл), 1180 (сл), 1110 (сл), 1060 (с), 1030 (с), 960 (сл). ДОВ $[\alpha]$ (с 1, ТНФ), град (λ , нм): +4,4 (589), +5,0 (546), +5,8 (435), +6,4 (407).

1-(2,3,4,6-Тетра-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)-3-бензоил-2-стеароил-1-дезоксигангидин (XI) получали аналогично соединению (VIII), выход 82,0%, т. пл. 163—164° С, R_f 0,23 (B). ИК-спектр (см^{-1}): 1730 (с), 1640 (с), 1520 (с), 1240 (с), 1040 (с). ПМР-спектр (δ , м. д.): 7,90—7,40 (м), 6,04 (дд), 5,43 (т), 5,25 (м), 4,49 (д, 10,0 Гц), 4,25 (м), 3,95 (м), 3,06 (дд), 2,79 (дд), 2,28 (т), 2,16—1,90 (м), 1,56 (м), 1,43—1,12 (м), 0,80 (т). ДОВ $[\alpha]$ (с 0,7, хлороформ), град (λ , нм): —48,0 (589), —55,0 (546), —66,0 (435), —81,0 (407). Литературные данные [8]: т. пл. 163—164° С, $[\alpha]_D^{27}$ —46° (с 0,7, хлороформ).

1-(β-D-Глюкопиранозил)-2-стеароил-1-дезоксигангидин (XII) получали аналогично соединению (IX), выход 98,0%, т. пл. 186—188° С, R_f 0,13 (Г). ИК-спектр (см^{-1}): 3300 (с), 1630 (ср), 1520 (ср), 1460 (с), 1420 (сл), 1360 (сл), 1180 (ср), 1060 (с), 1030 (с), 960 (ср). ДОВ $[\alpha]$ (с 1, ТНФ), град (λ , нм): —6,4 (589), —7,1 (546), —9,3 (435), —10,8 (407), —13,0 (366). Литературные данные [8]: т. пл. 187—189° С, $[\alpha]_D^{17}$ —6,8 (с 1, ТНФ).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ben-Yoseph Y., Shapira E., Edelman D., Burton B. K., Nadler H. L. // Arch. Biochem. and Biophys. 1977. V. 184. № 2. P. 373—379.
2. Reddy P. U. M., Murray C. J., Barranger J. A. // Biochem. Med. 1985. V. 33. № 2. P. 200—210.
3. Видершайн Г. Я. Биохимические основы гликозидов. М.: Медицина, 1980. 288 с.
4. Дятловицкая Э. В., Тимофеева Н. Г., Бергельсон Л. Д. // Биоорг. химия. 1977. Т. 3. № 6. С. 848—849.
5. Brown R. E. // Chem. and Phys. Lipids. 1985. V. 38. № 1—2. P. 79—93.
6. Datta S. C., Radin N. S. // Lipids. 1986. V. 21. № 11. P. 702—709.
7. Datta S. C., Snider R. M., Radin N. S. // Biochim. et biophys. acta. 1986. V. 877. № 3. P. 387—389.
8. Weis A. L., Brady R. O., Shapiro D. // Chem. and Phys. Lipids. 1985. V. 38. № 3. P. 391—396.
9. Stoffel W., Grol M. // Chem. and Phys. Lipids. 1974. V. 13. № 4. P. 372—378.
10. Бушнев А. С., Тазабекова Н. Т., Николаевская И. В., Звонкова Е. Н., Евстигнеева Р. П. // Биоорг. химия. 1983. Т. 9. № 4. С. 553—555.
11. Тазабекова Н. Т., Бушнев А. С., Какимжанова Ж. А., Звонкова Е. Н., Евстигнеева Р. П. // Биоорг. химия. 1987. Т. 13. № 5. С. 648—653.
12. Битюкова И. И., Волкова Л. В., Евстигнеева Р. П. // Журн. общ. химии. 1985. Т. 55. № 4. С. 930—932.
13. Černý M., Vrkoč J., Stanel J. // Chem. Listy. 1958. V. 52. № 2. P. 311—315.

Поступила в редакцию
14.VIII.1989

V. V. BESEONOV, A. S. BUSHNEV, E. V. KHLCPCTOVA, E. N. ZVONKOVA
SYNTHESIS OF *D*- AND *L*-erythro-THIOGLUCOCEREBROSIDES

M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow

D- and *L*-erythro-1-β-*D*-glucopyranosyl-2-stearoyl-1-deoxy-1-thiosphinganine have been synthesized using racemic *cis*-4-iodomethyl-5-pentadecyl-2-phenyl-Δ²-oxazoline and tetraacetyl-β-*D*-thioglucose as starting compounds. The optically active diastereoisomers were separated by column liquid chromatography.