



УДК 547.455.623'118'364.057

© 1992 г. Ю. Л. Себякин, Ю. В. Смирнова, Р. П. Евстигнеева

СИНТЕЗ ГЛИКОЛИПИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ СИСТЕМЫ
СОПРЯЖЕННЫХ И МЕТИЛЕНРАЗДЕЛЕННЫХ ДВОЙНЫХ СВЯЗЕЙМосковский институт тонкой химической технологии
им. М. В. Ломоносова

Осуществлен синтез 3-{*rac*-1,2-ди[(9 Z ,11 E)-октадекадиен-9,11-оилокси]пропил-3-тио}пропил- и 3-{*rac*-1,2-ди(линолеоилокси)пропил-3-тио}пропил- α,β -*D*-галактопиранозидов, которые получены ацилированием углеводного производного глицерина хлорангидридом сопряженной диеновой или линолевой кислотой в присутствии дидиклогексилкарбодиамида и 4-диметиламинопиридина с последующим удалением защитных ацетильных группировок.

Для изучения направленного транспорта липосом к органу-мишени в последнее время предложено использовать в составе мембранных моделей различные гликолипиды [1, 2]. Распределение модифицированных липосом в организме в этом случае будет зависеть от способности углеводного маркера, находящегося на поверхности липосомы, специфически и обратимо взаимодействовать с различными белковыми системами, например лектинами [3–5]. Способность остатка углевода, входящего в состав гликолипида, вступать в такие взаимодействия может быть исследована при использовании в качестве модельных мембран плоских монослоев [6]. Наличие спейсера, разделяющего углеводную и липидную части молекулы, способствует удалению углеводного компонента от поверхности модельной мембраны и более эффективному взаимодействию с белком [7, 8].

Однако существенным недостатком искусственных мембран (липосом, везикул, монослоев) является их относительная нестабильность во времени и чувствительность к внешним факторам среды [9]. Для повышения устойчивости мембран предложено включать в структуру липидов группировки (диацетиленовые, бутадиеновые, метакриловые, сульфид-рильные и др.), способные к полимеризации в условиях УФ-облучения или контролируемого окисления [10].

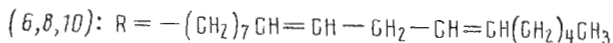
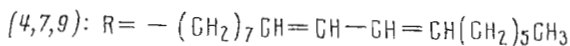
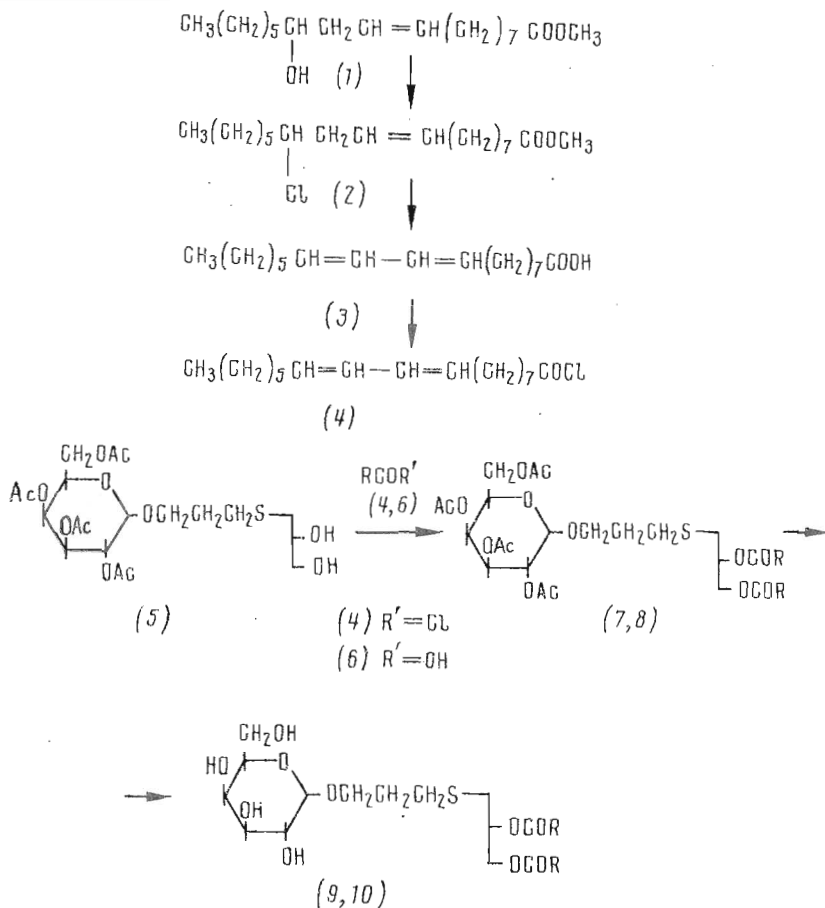
Таким образом, для изучения специфического взаимодействия лектин–углевод в составе липосом и плоских монослоев синтетическая структура, используемая для модификации этих мембран, должна содержать остаток углевода (углеводный маркер), спейсер и липидный компонент, имеющий группировки, способные к полимеризации.

При этом характерная особенность лектинов – специфичность к определенному остатку углевода, тогда как специфичность к аномерной конфигурации либо вообще не проявляется, либо проявляется в слабой степени. Например, лектин из арахиса (PL) и агглютинин из *Ricinus communis* типа I (RCA_I) специфически взаимодействуют с остатками α - и β -галактозы [5]. В связи с этим в большинстве случаев для моделирования взаимодействия углевод–лектин могут быть использованы гликолипиды с различной аномерной конфигурацией остатка углевода или смесь аномеров.

В данной работе, продолжающей исследования в области модифицированных гликолипидов [11, 12], нами осуществлен синтез гликолипидов,

содержащих в качестве углеводного маркера остаток галактозы (наиболее распространенный рецептор для лектинов), тиопрпиленовую группировку в качестве снейсера и остатки (9*Z*,11*E*)-октадекадиен-9,11-овой и линолевой кислот в составе диглицерида.

Синтез галактолипидов (9) и (10) осуществлен по схеме



Исходным соединением для синтеза (9*Z*,11*E*)-октадекадиен-9,11-овой кислоты (3) послужил метиловый эфир рицинолевой кислоты, который для получения хлорида (2) обрабатывали смесью четыреххлористый углерод — трифенилфосфин. Реакция элиминирования приводила к образованию диеновой кислоты с высоким выходом без примеси изомера с метилеяразделенными двойными связями. Конфигурацию диеновой группировки полученной кислоты (3) определяли как *E*, *Z* (константа спин-спинового взаимодействия протонов при двойных связях $J=15$ и $10,5$ Гц). (Детальный синтез диеновой кислоты (3) описан в следующей публикации [13].)

Хлорангидрид (4) получали кипячением кислоты (3) в безводном четыреххлористом углероде с трифенилфосфином и сразу по получении использовали на следующей стадии.

Исходный галактопиранозид (5), полученный по методу [14], представлял собой, по данным ПМР-спектра, смесь α - и β -аномеров в соотношении 1 : 1 (см. «Экспериментальную часть»).

Ацилирование соединения (5) проводили в безводном хлороформе в присутствии пиридина. По данным ПМР-спектра, продукт ацилирования (7) также был смесью α - и β -аномеров. Ацетильные защитные группы соединения (7) удаляли гидразинолизом и получали гликолипид (9) с системой сопряженных двойных связей, аномерные характеристики которого совпадали с таковыми для исходного соединения (5).

Для синтеза гликолипида (10) с системой метиленразделенных двойных связей углеводный компонент (5) ацилировали линолевой кислотой (6) в присутствии DCC и 4-диметиламинопиридина (DMAP) [15]. Продукт реакции (8), представляющий собой смесь α, β -аномеров, дезацетилировали как описано выше.

Строение синтезированных соединений подтверждено данными ПМР-, ИК- и УФ-спектров, а также величинами угла оптического вращения.

Экспериментальная часть

В работе использовали DCC отечественного производства, DMAP (Fluka, Швейцария). Метилловый эфир рицинолевой кислоты получали из касторового масла щелочным гидролизом, последующей этерификацией свободных кислот и хроматографическим разделением метиловых эфиров на колонке с силикагелем. Линолевую кислоту выделяли из подсолнечного масла и очищали с помощью низкотемпературной кристаллизации по методу [16]. (9*Z*,11*E*)-Октадекадиен-9,11-овую кислоту синтезировали как описано в работе [13]. Соединение (5) получали по методу [14].

Спектры ПМР регистрировали в дейтерохлороформе на импульсном ЯМР-спектрометре Bruker WM-250 (ФРГ) с рабочей частотой 250 МГц. Внутренний стандарт — гексаметилдисулфоксан. ИК-спектры снимали на спектрофотометре Shimadzu IR-435 (Япония), УФ-спектры — на спектрофотометре Shimadzu UV-240 (Япония). Данные ДЮВ получали на спектрополяриметре Perkin — Elmer MC 241 (Англия). Температуры плавления определяли на приборе Voetius (ГДР) и не корректировали. Для ТСХ применяли силуфол UV-254 (ЧСФР) в системах: гексан — эфир, 10 : 1 (А); гексан — эфир, 3 : 1 (Б); эфир — гексан, 2 : 1 (В); хлороформ — метанол — ацетон, 18 : 2 : 1 (Г) с последующим обугливанием при 350°С; вещества, содержащие двойные связи, обнаруживали раствором марганцовокислого калия; препаративную ТСХ проводили на силикагеле L 40/100 мкм (ЧСФР).

Данные элементного анализа вновь синтезированных соединений (9) и (10) удовлетворительно совпадали с рассчитанными значениями.

*Хлорангидрид (9*Z*,11*E*)-октадекадиен-9,11-овой кислоты (4)*. Раствор 0,5 г (1,79 ммоль) (9*Z*,11*E*)-октадекадиен-9,11-овой кислоты (3) и 0,5 г (1,91 ммоль) трифенилфосфина в 10 мл безводного CCl_4 кипятили 2 ч до полного прохождения реакции (контроль по ТСХ). Реакционную массу охлаждали до 20°С, вышавший осадок отфильтровывали, промывали безводным CCl_4 (5 мл). Фильтрат выпаривали в вакууме, получали 0,42 г (78%) хлорангидрида (4) в виде масла, который без дополнительной очистки использовали на следующей стадии, *R*, 0,5 (А), 0,72 (Б).

*3-[α -1,2-Ди[(9*Z*,11*E*)-октадекадиен-9,11-оилокси]пропил-3-тио]пропил- α, β -D-галактопиранозид (9)*. К раствору 0,36 г (0,738 ммоль) соединения (5) в 0,27 мл безводного пиридина добавляли при перемешивании раствор 0,42 г (1,41 ммоль) хлорангидрида (4) в 1,7 мл безводного хлороформа. После охлаждения до 20°С к реакционной массе приливали 1 мл безводного хлороформа и выдерживали 12 ч в темноте. Затем к смеси добавляли 15 мл воды, перемешивали 1 ч, экстрагировали гекса-

ном (2×15 мл). Объединенные экстракты промывали 10% HCl (2×20 мл), водой до нейтральной реакции (4×20 мл), сушили Na₂SO₄. Продукты реакции разделяли ТСХ на пластинках (200×200 мл) в системе эфир—гексан, 2:1, с обнаружением зон иодом. Получали 0,55 г (72,2%) ацетилированного гликолизида (7), $[\alpha]_{579}^{20} +3,75^\circ$ (с 0,8, хлороформ), R_f 0,57 (В). ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 2950, 2820 (С—Н); 1725, 1710 (С=О); 1640 (С=C); 1420 (С—Н); 1362 (СН₃); 1320 (СО); 1200, 1150, 1070, 1040 (СО углеводного скелета); 1000, 950, 900. ПМР-спектр (δ , м. д.): 0,85 (м, 6H, 2СН₃), 1,3 (с, 32H, СН₂), 1,6 (м, 4H, 2СН₂—; 2H, ОСН₂—СН₂—СН₂—); 1,9—2,15 (м, 12H, 4СН₃СО; 8H, 4СН₂—СН=), 2,35 (м, 4H, 2СН₂О), 2,5—2,7 (м, 4H, СН₂—S—СН₂); 3,5—3,85 (м, 3H, Н-5, Н-6; 3H, ССН₂—СН—СН₂О; 2H, ОСН₂—СН₂—СН₂—); 3,85—4,00 (м, 4H, —СН=СН—СН=СН—); 4,05 (дд, 0,5H, $J_{1,2}$ 7,5 Гц, Н-1), 5,1—5,45 (м, 4H, СН=СН—СН=СН); 3H, Н-2, Н-3, Н-4, 0,5H, $J_{1,2}$ 3,5 Гц, Н-1). УФ-спектр (хлороформ, λ_{\max} , нм; ϵ): 321,5; 2400.

К раствору 0,55 г (0,539 ммоль) соединения (7) в 45 мл метанола добавляли 0,22 мл гидразингидрата, кипятили 2 ч в токе аргона, смесь охлаждали, нейтрализовали 85% НСООН и упаривали в вакууме. Из остатка с помощью препаративной ТСХ в системе (Г) выделяли 184 мг (40%) соединения (9) в виде масла, $[\alpha]_{579}^{20} +3^\circ$ (с 1, хлороформ—метанол, 1:1), R_f 0,39 (Г). ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 3216 (ОН); 2930, 2820 (СН), 1720 (С=О); 1640 (С=C); 1320 (С=О); 1150, 1058 (СО углеводного скелета); 1420 (СН); 1360 (СН₃), 1000, 975, 900. УФ-спектр (хлороформ—метанол, 1:1, λ_{\max} , нм; ϵ): 321; 1400.

3-[*гас*-1,2-Ди(линолеоилокси)пропил-3-тио]пропил- α,β -D-галактопираниозид (10). К раствору 265 мкл (0,853 ммоль) линолевой кислоты (6) в 4 мл безводного ССl₄ при 0°С и перемешивании добавляли раствор 200 мг (0,426 ммоль) соединения (5) в 2 мл хлороформа, затем в смеси растворяли 104 мг (0,853 ммоль) ДМАР, после чего добавляли раствор 176 мг (0,853 ммоль) ДСС в 3 мл хлороформа. Реакционную массу выдерживали в темноте при комнатной температуре 1,5 ч. Отфильтровывали осадок, промывали безводным ССl₄ (5 мл). Фильтрат упаривали в вакууме, получали 400 мг неочищенного продукта (8): $[\alpha]_{579}^{20} +3,2^\circ$ (с 0,5, хлороформ), R_f 0,59 (В). ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 2920, 2850 (СН); 1745 (С=О); 1720 (С=О), 1665 (С=C), 1480, 1385 (СН₃); 1240, 1120, 1045, 1000, 980, 900. ПМР-спектр идентичен соответствующему производному в синтезе соединения (9), за исключением области 4,0—5,5 м. д., где присутствуют сигналы (δ , м. д.): 4,15 (дд, 0,5H, $J_{1,2}$ 7,5 Гц, Н-1); 5,1—5,45 (м, 3H, Н-2, Н-3, Н-4; 8H, —СН=СН; 0,5H $J_{1,2}$ 3,5 Гц, Н-1).

400 мг (0,403 ммоль) соединения (8) дезацетилировали действием 0,163 мл гидразингидрата как описано выше. Получали 36,4 мг (10%) соединения (10) в виде масла, $[\alpha]_{579}^{20} +3^\circ$ (с 1, хлороформ—метанол, 1:1), R_f 0,32 (Г). ИК-спектр (в пленке, ν_{\max} , см⁻¹): 3420 (ОН); 2800, 2930 (СН), 1720 (С=О), 1640 (С=C); 1420 (СН); 1362 (СН₃); 1320; 1200; 1020, 1000 (СО углеводного скелета), 969, 900.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Roserman S. // Cell Membrans, Biochemistry, Cell Biology and Pathology/Eds G. Wiessamann and R. Claiborn. N. Y.: HP. Publishing, 1975. P. 55.
2. Wum S., Robbing J. C., Bugianisi R. J. // Biochim. et biophys. acta. 1981. V. 674. № 1. P. 19—29.
3. Torchilin V. P., Goldmacher V. S., Smirnov V. N. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1979. V. 85. № 3. P. 989—990.
4. Mauk M. R., Comble R. C., Baldeschwieler J. P. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1980. V. 77. № 8. P. 4430—4434.
5. Hoekstra D., Düzgünes N. // Subcell. Biol. 1989. V. 14. № 1. P. 229—278.

6. Bader H., Ringsdorf H., Shura J. // *Angew Chem*. 1981. В. 93. № 1. S. 109–110.
7. Orr G. A., Rando R. R., Bangert W. F. // *J. Biol. Chem.* 1979. V. 254. № 14. P. 4721–4725.
8. Sungler R. // *Biochim. et biophys. acta*. 1984. V. 771. № 1. P. 59–61.
9. Исков В. Г., Берестовский Г. Н. Динамическая структура липидного бислоя. М.: Наука, 1981. С. 142–195.
10. Бадер Х., Дорн К., Хунфер Б., Рингсдорф Х. // *Успехи химии*. 1987. Т. 56. № 12. С. 2028–2075.
11. Себякин Ю. Л., Ким Е. Н., Абилова Д. Б., Евстигнеева Р. П. // *Биоорганич. химия*. 1989. Т. 15. № 5. С. 681–685.
12. Любешкин А. В., Ким Е. Н., Себякин Ю. Л., Евстигнеева Р. П. // *Журн. орган. химии*. 1990. Т. 26. № 6. С. 1537–1540.
13. Себякин Ю. Л., Ким Е. Н., Евстигнеева Р. П. // *Биоорганич. химия*. 1992. Т. 18. № 5. С. 731–736.
14. Roy R., Tropper F. D. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1988. № 7. P. 1058–1060.
15. Daralski A. A., Paul J. R., Watts S., Watts A. // *Tetrahedron Lett.* 1989. V. 30. № 27. P. 3585–3588.
16. Бергельсон Л. Д., Дятловицкая Э. В., Моложковский Ю. Г., Баграков С. Г., Барсуков Л. И., Проказова Н. В. *Препаративная биохимия липидов*. М.: Наука, 1981. С. 43–44.

Поступила в редакцию
26.VIII.1991
После доработки
1.XI.1991

Yu. L. SEBYAKIN, Yu. V. SMIRNOVA, R. P. EVSTIGNEEVA

SYNTHESIS OF GLYCOLIPIDS CONTAINING CONJUGATED AND NONCONJUGATED DIENES

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

Novel glycolipids containing of (9Z, 11E)-octadecadien-9, 11-oyl or linoyl residues are synthesized by acylation of the glycosides with the corresponding acids followed by deprotection.