



УДК 547.426.22'458.223.342.057

© 1994 Н. Г. Морозова, Т. Б. Коробова, М. В. Аникин,
В. В. Чупин, Г. А. Серебренникова

СИНТЕЗ ЦЕЛЛОБИОЗИЛДИГЛИЦЕРИДОВ С ПРОСТОЙ И СЛОЖНОЙ ЭФИРНОЙ СВЯЗЬЮ

*Московская государственная академия тонкой химической технологии им.
М. В. Ломоносова*

Осуществлен синтез ряда β -целлобиозилглицеринов с гидрофобными заместителями алкильной и ацильной природы в глицериновой части молекулы с целью использования их в биологических и мембранологических исследованиях.

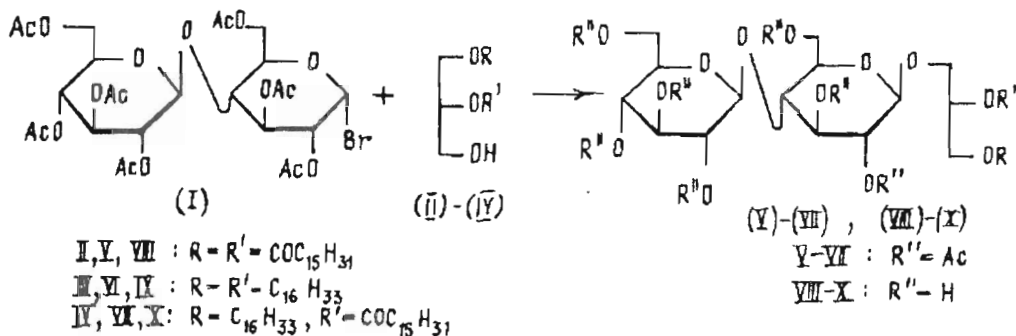
Углеводсодержащие глицеролипиды широко распространены в природе. В основном это структурные компоненты мембран прокариот, эукариот и микоплазм, которые в составе плазматических клеток ориентированы таким образом, что их углеводные остатки расположены на наружной поверхности и в значительной степени определяют явления межклеточного взаимодействия: процессы узнавания, рецепции, агрегации. Дополнительным стимулом к изучению данного класса соединений является обнаружение у них иммуностимулирующей и противоопухолевой активности [1].

Модельные мембраны заслужили всеобщее признание как инструмент функционального изучения различных классов липидов, в том числе и гликозилдиглицеридов [1–3]. Установлено, что способность гликозилдиглицеридов формировать при гидратации ламеллярную (L) или инвертированную гексагональную (H_{II}) фазу определяется температурой, длиной и степенью ненасыщенности гидрофобных заместителей. В предыдущей работе [3] мы рассмотрели влияние природы гидрофобных компонентов на фазовое поведение моногликозилдиглицеридов. Показано, что замена ацильных групп при глицерине на алкильные влияет на температурный интервал фазовых переходов. Различия в свойствах гликозилдиглицеридов с простой и сложной эфирной связью проявляются и в структурной организации гидратной оболочки липидного бислоя [3].

С целью дальнейшего развития исследований по изучению поведения гликозилдиглицеридов в составе модельных мембран нами осуществлен синтез целлобиозилдиглицеридов. Включение дисахаридного фрагмента в их состав вместо моносахаридного, сопровождающееся увеличением числа водородных связей и изменением баланса гидрофобность/гидрофильность, по-видимому, должно оказать существенное влияние на фазовые переходы, стабильность и другие параметры мембран [4].

Наиболее общим подходом в синтезе гликозилдиглицеридов является гликозилирование в условиях реакции Кенигса—Кнорра или Гельфериха. Вариации внутри избранного метода связаны с выбором катализатора, растворителей и температурных условий. При выполнении данной работы синтез требуемых соединений был осуществлен по методу Гельфериха. При выборе условий мы

исходили из комбинаций растворителей, соотношения реагентов, катализаторов и температурного режима, предложенных в предыдущих работах по синтезу моногликозилдиглициридов [5—7].



Таким образом, гликозирование диглициридов (II) — (IV) осуществлялось в среде бензол — нитрометан (1 : 1) при трехкратном избытке ацетобромцеллобиозы (I) в присутствии бромида и цианида ртути(II). Через 4—6 ч наблюдалось почти полное исчезновение исходных диглициридов (по данным ТСХ). Выход полученных соединений (V) — (VII) колебался в пределах 77—87%.

Основным продуктом гликозирования *rac*-1,2-дипальмитоилглицерина (II) и *rac*-1-гексадецил-2-пальмитоилглицерина (IV) явились гликозиды (V) и (VII) с β -конфигурацией гликозидного центра. Примесь α -аномера для этих соединений, по данным ВЭЖХ, составила 18 и 2% соответственно. В случае гликозирования 1,2-дигексадецилглицерина (III) образования α -аномера замечено не было. Разделение α - и β -аномеров соединений (V) и (VII) было проведено с помощью ВЭЖХ. β -Конфигурация аномерных центров в соединениях (V) — (VII) подтверждена ¹H- и ¹³C-ЯМР-спектрами.

Деацетилирование целлобиозида (VI) проводили по методу Земплена действием метилата натрия в метаноле. Продолжительность реакции составила 20 ч. Выход продукта деацетилирования после перекристаллизации из метанола — 78%. Удаление ацетильных групп из молекул целлобиозиддиглициридов диацильного (V) и смешанного (VII) типов во избежание потери пальмитиновых остатков осуществлялось в условиях гидразинолиза при нагревании в течение 1,5—2 ч.

Экспериментальная часть

Спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР снимали в дейтерохлороформе или смеси дейтерохлороформа с дейтерометанолом на импульсном ЯМР-спектрометре MSL 200 (Германия) с рабочей частотой 200,13 (на ¹H-) и 52,43 МГц (на ¹³C-); внутренний стандарт — дейтерохлороформ. Температуры плавления определяли на приборе Voetius (Германия). Углы оптического вращения измерены на поляриметре Dugytor Jasco, модель DIP-360 (Япония). ИК-спектры получены на спектрофотометре Shimadzu IR-435 (Япония). ТСХ проводили на пластинках Silufol (ЧСФР) в системах растворителей: А — гексан — этилацетат (1,25 : 1), Б — хлороформ — метанол — вода (65 : 15 : 1). Пятна обнаруживали прокаливанием при 350° С. Анализ аномерных смесей проводили на хроматографе Kovo (ЧСФР) с использованием рефрактометрического детектора Ridk-102; колонка (2 × 150 мм) с сорбентом Silasorb 600, 8 мкм (МНПП «Диагностикум», Москва); подвижная фаза — гептан — этилацетат (7 : 4), расход 0,3 мл/мин. Препаративное разделение осуществляли в рециркуляционном режиме на оборудовании Knauer (Германия). Детектор — дифференциальный рефрактометр. Колонка (10 × 250 мм) с сорбентом Silasorb 600, 8 мкм. Подвижная фаза — гептан — метилхлорид — этилацетат (2 : 1 : 1), расход 8 мл/мин. В каждом разделении на колонку наносили 50 мг аномерной смеси в 0,5 мл подвижной фазы. В работе использовали цианид

ртути(II) (Merck), бромид ртути(II) (Aldrich), гидразингидрат («Союзреактив») без дополнительной перегонки.

Гликозилирование диглицеридов. Общая методика. Раствор 1 ммоль диглицерида в 45 мл безводной смеси бензол — нитрометан (1 : 1) перемешивали при 40—45° С с 20 ммоль прокаленного драйерита. Через 30 мин в реакционную массу вносили 3 ммоль бромида ртути, 3 ммоль цианида ртути и в течение 7—10 мин добавляли по каплям раствор 3 ммоль ацетобромцеллобиозы (I) в 15 мл этой же смеси растворителей. Через 4—6 ч реакционную массу отфильтровывали, осадок промывали хлороформом, фильтрат упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 50 мл хлороформа, промывали 20% водным раствором KI (3 × 10 мл), водой, высушивали Na₂SO₄. После удаления растворителя остаток хроматографировали на колонке с силикагелем L 40/100 мкм. Перацетаты целлобиозидов (V) — (VII) элюировали смесью петролейный эфир — эфир (2 : 3).

гас-1,2-Дипальмитоил-3-О-(2, 3, 6, 2', 3', 4', 6'-гепта-О-ацетил-β-D-целлобиозил)глицерин (V). Общий выход аномерной смеси составил 82,5% (на диглицерид) при соотношении α : β 18 : 82. Для β-аномера: ВЭЖХ — $k' = 5,0$, т. пл. 117—120° С, $[\alpha]_D^{20} +4^\circ$ (с 2, хлороформ), R_f 0,54 (А). Найдено, %: С 61,86; Н 8,41. C₆₁H₁₀₂O₂₂. Вычислено, %: С 61,70; Н 8,66. ¹³С-ЯМР (δ, м. д.): 13,9 (2 СН₂СН₃); 20,4, 20,5, 20,6 (7 СОСН₃); 22,5, 24,7, 27,0, 29,1, 29,2, 29,3, 29,5, 31,8 (2 (СН₂)₁₃СН₃); 33,9, 34,1 (2 СОСН₂); 61,4, 61,6, 62,1, 67,7, 71,5, 71,9, 72,2, 72,7, 72,8 (Gro; C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 Glu); 100,5, 100,9, 101,0 (C-1 Glc); 168,9, 169,1, 169,5, 170,1, 170,3 (7 СОСН₃); 172,6, 172,8 (СОСН₂). Спектр ¹Н-ЯМР (δ, м. д.): 0,86 (6H, м, 2 СН₂СН₃); 1,23 (48H, уш. с, 2 (СН₂)₁₂СН₃); 1,54 (4H, м, 20 СОСН₂СН₂); 1,95 (3H, с, СОСН₃); 1,98 (6H, с, 2 СОСН₃); 2,00 (6H, с, 2 СОСН₃); 2,06 (3H, с, СОСН₃); 2,10 (3H, с, СОСН₃); 2,27 (4H, т, 5,75 Гц, 2 СОСН₂СН₂); 3,50—5,20 (19H, протоны Gro, Glc).

гас-1,2-Дигексадецил-3-О-(2, 3, 6, 2', 3', 4', 6'-гепта-О-ацетил-β-D-целлобиозил)глицерин (VI). Выход 77%, т. пл. 120—123° С, $[\alpha]_D^{20} -14,05^\circ$ (с 2, хлороформ), R_f 0,55 (А). ВЭЖХ: $k' = 2,8$. Найдено, %: С 63,24; Н 8,99. C₆₁H₁₀₆O₂₀. Вычислено, %: С 63,19; Н 9,21. Спектр ¹³С-ЯМР (δ, м. д.): 13,8 (2 СН₂СН₃); 20,2, 20,5 (7 СОСН₃); 22,4, 25,8, 29,0, 29,5, 29,8, 31,6 (2 (СН₂)₁₄СН₃); 61,3, 61,6, 67,5, 68,8, 70,0, 70,2, 70,6, 71,3, 71,6, 72,3, 72,7, 76,1, 77,1, 77,6 (2 ОСН₂СН₂, Gro; C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 целлобиозы); 100,5 (C-1 Glc); 168,7, 169,0, 169,1, 169,4, 169,9 (7 СОСН₃). Спектр ¹Н-ЯМР (δ, м. д.): 0,87 (6H, м, 2 СН₂СН₃); 1,25 (52H, уш. с, 2 (СН₂)₁₃СН₃); 1,52 (4H, м, 2 ОСН₂СН₂); 1,98 (3H, с, СОСН₃); 2,01 (6H, с, 2 СОСН₃); 2,02 (3H, с, СОСН₃); 2,03 (3H, с, СОСН₃); 2,08 (3H, с, СОСН₃); 2,12 (3H, с, СОСН₃); 3,36—5,21 (23H, протоны целлобиозы, Gro, 2 ОСН₂СН₂).

гас-1-Гексадецил-2-пальмитоил-3-О-(2, 3, 6, 2', 3', 4', 6'-гепта-О-ацетил-β-D-целлобиозил)глицерин (VII). Общий выход аномерной смеси 87% при соотношении α : β = 2 : 98. Для β-аномера: ВЭЖХ — $k' = 4,1$, т. пл. 121—124° С, $[\alpha]_D^{20} -5,6^\circ$ (с 2, хлороформ), R_f 0,55 (А). Найдено, %: С 62,35; Н 8,75. C₆₁H₁₀₄O₂₁. Вычислено, %: С 62,43; Н 8,93. Спектр ¹³С-ЯМР (δ, м. д.): 13,8 (2 СН₂СН₃); 20,4, 20,6 (7 СОСН₃); 22,5, 24,7, 25,9, 29,2, 29,5, 31,7 (ОСН₂(СН₂)₁₄СН₃ и ОСОСН₂(СН₂)₁₃СН₃); 34,2 (СОСН₂); 61,4, 63,4, 64,0, 67,6, 69,9, 70,4, 71,5, 71,6, 71,8, 72,4, 72,8 (ОСН₂СН₂; Gro; C-2, C-3, C-4, C-5, C-6 Glc); 100,4, 100,6 (C-1 Glc); 168,9, 169,1, 169,3, 169,6, 170,0, 170,3 (7 СОСН₃); 173,3 (СОСН₂). Спектр ¹Н-ЯМР (δ, м. д.): 0,87 (6H, м, 2 СН₂СН₃); 1,24 (50H, уш. с, (СН₂)₁₃СН₃ и (СН₂)₁₂СН₃); 1,53 (4H, м, ОСН₂СН₂ и ОСОСН₂СН₂); 1,98 (3H, с, СОСН₃); 2,00 (9H, м, 3 СОСН₃); 2,02 (3H, с, СОСН₃); 2,07 (3H, с, СОСН₃); 2,10 (3H, с, СОСН₃); 2,28 (2H, т, J 7,5 Гц, ОСОСН₂); 3,30—5,18 (21H, протоны целлобиозы, Gro, ОСН₂СН₂).

гас-1,2-Дипальмитоил-3-О-β-D-целлобиозилглицерин (VIII). 0,41 г (0,34 ммоль) гептаацетата (V) кипятили 1,5 ч с 0,24 мл (5,1 ммоль) гидразингидрата в 15 мл метанола. Охлажденную реакционную массу нейтрализовали 85% му-

равьиной кислотой, выдерживали при 0° С в течение ночи. Выпавший осадок перекристаллизовывали из метанола. Выход 0,15 г (51%), т. пл. 231—233° С, $[\alpha]_D^{20} -4^\circ$ (с 1,3, хлороформ—метанол, 1 : 1), R_f 0,57 (Б). Найдено, %: С 63,05; Н 9,65. $C_{47}H_{88}O_{15}$. Вычислено, %: С 63,20; Н 9,93. Спектр 1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,86 (6Н, м, 2 CH_2CH_3); 1,23 (48Н, уш. с, $(CH_2)_{12}CH_3$); 1,57 (4Н, м, 2 $OSCOCH_2CH_2$); 2,31 (2Н, т, J 7,5 Гц) и 2,32 (2Н, т, J 7,5 Гц) (2 $OSCOCH_2$); 3,24—4,50 (18Н, протоны целлобиозы и С-1 и С-3 Gro); 5,22 (1Н, м, $CH_{CO}CH_2$).

гас-1,2-Дигексадецил-3-О-β-D-целлобиозилглицерин (IX). К суспензии 0,43 г (0,37 ммоль) соединения (VI) в 7,3 мл метанола прибавляли 2,3 мл раствора метилата натрия (0,1 г натрия в 20 мл метанола) и выдерживали 18 ч при 20° С. Реакционную массу нейтрализовали ионообменной смолой Dowex 50w × 8, отфильтровывали и перекристаллизовывали из метанола. Выход 0,25 г (78%), т. пл. 208—211° С, $[\alpha]_D^{20} -9,7^\circ$ (с 1, хлороформ—метанол, 1 : 1), R_f 0,68 (Б). Найдено, %: С 65,28; Н 10,78. $C_{47}H_{92}O_{13}$. Вычислено, %: С 65,24; Н 10,72. Спектр ИК (в вазелиновом масле, ν , cm^{-1}): 3370 (ОН), 2865, 1450 (CH_2), 1020—1076 (С—О—С). Спектр 1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,87 (6Н, м, 2 CH_2CH_3); 1,24 (52Н, уш. с, 2 $(CH_2)_{13}CH_3$); 1,55 (4Н, м, 2 OCH_2CH_2); 3,24—4,45 (23Н, протоны целлобиозы, Gro, 2 OCH_2CH_2).

гас-1-Гексадецил-2-пальмитоил-3-О-β-D-целлобиозилглицерин (X) получали аналогично соединению (VIII). Выход 57%, т. пл. 220—223° С, $[\alpha]_D^{20} -6,4^\circ$ (с 1, хлороформ—метанол, 1 : 1), R_f 0,56 (Б). Найдено, %: С 63,86; Н 10,17. $C_{47}H_{90}O_{14}$. Вычислено, %: С 64,21; Н 10,32. Спектр 1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,87 (6Н, м, 2 CH_2CH_3); 1,23 (50Н, уш. с, $(CH_2)_{12}CH_3$ и $(CH_2)_{13}CH_3$); 1,56 (4Н, м, $OSCOCH_2CH_2$ и OCH_2CH_2); 2,33 (2Н, т, J 7,5 Гц, $OSCOCH_2$); 3,22—4,00 (20Н, протоны целлобиозы, OCH_2CH_2 , при С-1 и С-3 Gro); 5,18 (1Н, м, $CH_{CO}CH_2$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Langwarthy T. A. // Curr. Top. Membranes and Transp. 1982. V. 17. P. 45—77.
2. Mannock D. A., Lewis R. N. A. H., Sen A., McElhaney R. N. // Biochemistry. 1988. V. 27. № 18. P. 6852—6859.
3. Чупин В. В., Морозова Н. Г., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. // Биол. мембраны. 1991. Т. 8. № 6. С. 638—647.
4. Wiesländer A., Christiansson A., Rilfors L., Lindblom G. // Biochemistry. 1980. V. 25. № 3. P. 823—830.
5. Морозова Н. Г., Битюкова И. И., Волкова Л. В., Евстигнеева Р. П. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 5. С. 654—659.
6. Морозова Н. Г., Кривойченко И. Н., Аникин М. В., Серебренникова Г. А. // Журн. орган. химии. 1991. Т. 27. № 12. С. 2584—2588.
7. Морозова Н. Г., Андропова И. Г., Новичков И. Д., Чупин В. В., Аникин М. В., Серебренникова Г. А. // Биоорган. химия. 1993. Т. 19. № 2. С. 236—242.

Поступила в редакцию
30.VI.1993

N. G. Morozova, T. B. Korobova, M. V. Anikin, V. V. Tchupin,
G. A. Serebrennikova

SYNTHESIS OF CELLOBIOSYL DIGLYCERIDES WITH ESTER AND ETHER BOND

M. V. Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, Moscow

Synthesis of β -cellobiosyl diglycerides with various hydrophobic acyl and alkyl substituents in the glycerol moiety have been synthesized for biological studies.