



УДК 547.95:547.462.2

СИНТЕЗ КАТИОННЫХ АЛКИЛГЛЮКОЗИДОВ

© 1996 г. Н. Г. Морозова[#], Е. В. Передкова, Г. А. СеребренниковаМосковская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,
117571, Москва, просп. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 22.03.96 г.

Осуществлен синтез катионных гликолипидов в ряду высших алкилглюкопиранозидов и глюкозилдиглицеридов, содержащих в б-м положении сахарного остатка положительно заряженную пиридиновую группу. Полученные соединения предназначены для изучения их как потенциальных антагонистов фактора активации тромбоцитов.

Ключевые слова: алкилглюкопиранозиды, гликолипиды, катионные липиды.

Фактор активации тромбоцитов (ФАТ), 1-алкил-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин, является сильнодействующим биорегулятором широкого спектра действия. ФАТ выступает как медиатор многих биологических процессов: стимулирует дегрануляцию и агрегацию тромбоцитов, увеличивает проницаемость кровеносных сосудов, модулирует внутриклеточную сигнализацию. ФАТ также играет важную роль в ряде патологических процессов, таких, как аллергия, гипотензия, анафилактический шок и др. [1].

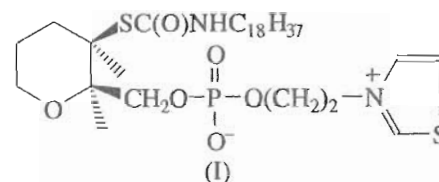
Структурно-функциональные исследования ФАТ, проводимые в настоящее время рядом ведущих фармацевтических и химических фирм мира, направлены не только на выяснение механизма взаимодействия ФАТ с клетками-мишенями, но и на создание эффективных терапевтических препаратов.

В последние годы обнаружено, что путем различной модификации структуры молекулы ФАТ можно выделить его различные биологические функции. Так, многие аналоги ФАТ, содержащие при С-2 глицерина короткие неметаболизируемые остатки, обладают выраженным противоопухолевым действием: активируют макрофаги, ингибируют пролиферацию злокачественных клеток, вызывают их лизис, а в ряде случаев структурную и функциональную дифференциацию, препятствуют образованию метастазов, уменьшают вероятность химического канцерогенеза, т. е. на основе данных соединений можно создавать эффективные противоопухолевые препараты [2].

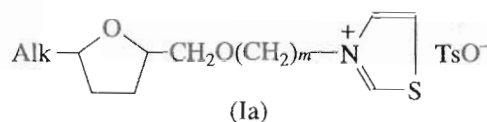
В ходе этих исследований был предложен новый класс синтетических биорегуляторов – антагонистов ФАТ, способных противодействовать патологическим состояниям, вызываемым ФАТ.

На основе анализа антагонистической активности аналогов ФАТ различной структуры можно наметить главные направления поиска новых эффективных антагонистов ФАТ [3]: молекула должна содержать длинноцепочечный алкильный заместитель при С-1 глицеринового скелета, небольшой по объему заместитель в положении С-2, фосфоэфирная связь при С-3 может быть заменена простой эфирной связью или какой-либо другой. При С-3 глицерина также обязательно наличие полярного ониевого заместителя, замена триметиламмониевой группы на объемистые циклические ониевые структуры способствует увеличению антагонизма.

Молекула антагониста может не содержать глицеринового фрагмента, но должна быть стерически сходна с молекулой ФАТ, как, например, аналог (I) [3].



Перспективные антагонисты ФАТ обнаружены также среди бесфосфорных катионных липидов, имеющих в своем составе положительно заряженную группу, связанную через спейсер с циклическим тетрагидропирановым или тетрагидрофурановым ядром (Ia, Alk = C₁₄–C₁₈, m = 1–11), несущим длинноцепочечный алифатический остаток [4]. В ряду этих соединений отмечено усиление пролонгированного антиагрегационного действия при замене алкильной группы на алкоксийную.



[#] Автор для переписки.

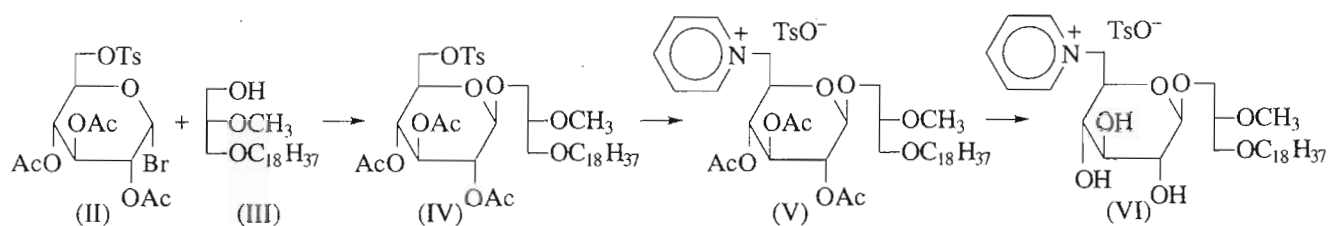


Схема 1.

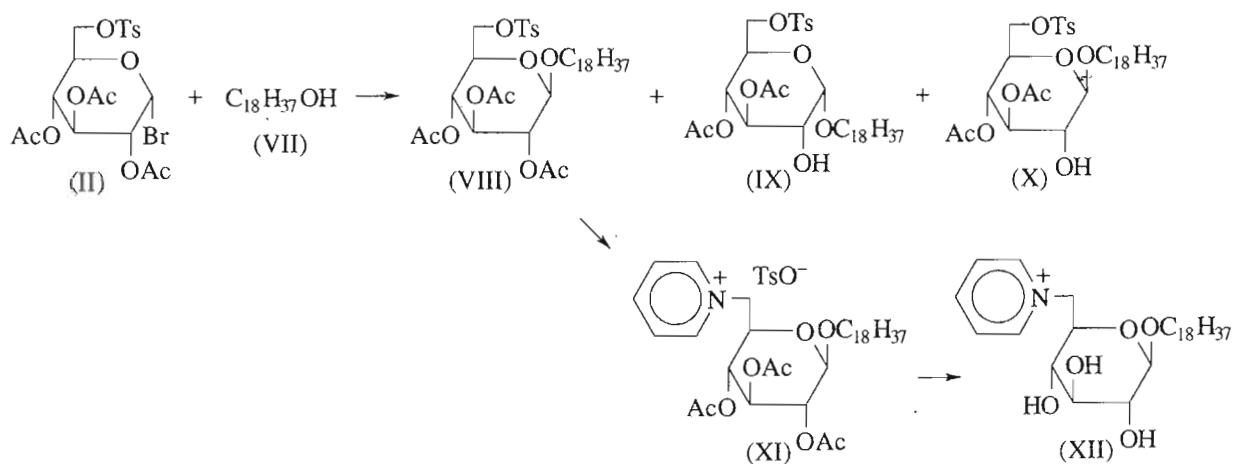


Схема 2.

С целью расширения области поиска антагонистов ФАТ нами были предприняты синтетические исследования в ряду катионных алкилгликопиранозидов, структурно близких названным выше циклическим антагонистам ФАТ. В качестве положительно заряженной группировки была использована объемистая пиридиновая группа в 6-м положении углеводного тетрагидропиранового кольца, гидрофобный заместитель при аномерном атоме представлен остатком октадецилового спирта или диглицерида со структурой *rac*-1-О-октадецил-2-О-метилглицерина, присущего глицеролипидам с ярко выраженным противоопухолевым действием [2–5].

Стадиями, определяющими синтез бесфосфорных катионных гликолипидов (VI) и (XII) (схемы 1, 2), являлись гликозилирование и кватернизация. При выборе последовательности проведения этих операций мы отдали предпочтение опережающему гликозилированию, чтобы исключить возможные побочные превращения пиридиновой группировки в условиях гликозилирования. Гликозилирование, как и ранее в синтезах гликозилдиглицеридов [6–9], осуществляли методом Гельфериха. Гликозилирующим агентом служила замещенная ацетобромглюкоза (II), содержащая в 6-м положении тозилную группу, которая в ходе кватернизации обменивалась на пиридиновую.

Конденсацию замещенной ацетобромглюкозы (II) с *rac*-1-О-октадецил-2-О-метилглицерином (III) проводили при 16% избытке гликозилирующего агента (II). По данным ВЭЖХ, гликозилирование проходило с высокой стереоселективностью, примесь α -аномера составила 1.3% при общем выходе 76.5%.

Структура β -гликозида (IV), выделенного с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, была подтверждена данными ^1H -ЯМР-спектра: на 1,2-*транс*-конфигурацию гликозидной связи указывал сигнал аномерного протона с химическим сдвигом 4.51 м.д. и константой спин-спинового взаимодействия $J_{1,2}$ 8 Гц.

Следующим этапом синтеза явилась кватернизация тозилата (IV). В заключение было проведено дезацетилирование продукта кватернизации (V) в условиях реакции Земплена, в результате которой с выходом 45% был получен катионный гликозилдиглицерид (VI).

Условия гликозилирования октадецилового спирта (VII) в синтезе октадецилглюкозида (VIII) (схема 2) были те же, что и в диглицеридом (III). Продукт реакции представлял собой смесь фракций А и Б, заметно различающихся по хроматографической подвижности при ТСХ, что обычно не характерно для аномерной пары. Фракции были разделены колоночной хроматографией на силикагеле. Выход их составил соответственно 34 и 32%.

ВЭЖХ-анализ фракции А (с большей хроматографической подвижностью) подтвердил ее хроматографическую однородность. Данные элементного анализа, масс-спектра и ¹Н-ЯМР-спектра (см. "Экспериментальную часть") указали на структуру октадецил-2,3,4-три-О-ацетил-6-О-тозил-β-D-глюкопиранозида (VIII):

Фракция Б, по данным ВЭЖХ, была неоднородна и представляла собой смесь двух соединений в соотношении 10,5 : 89,5. В ИК-спектре фракции Б наряду с полосой поглощений карбонильной группы (1719 см⁻¹) наблюдается интенсивная полоса поглощения гидроксильной группы (3441 см⁻¹). При ацетилировании фракции Б уксусным ангидридом было получено вещество, по хроматографической подвижности идентичное гликозиду (VIII). Данные ¹Н-ЯМР-спектра фракции Б указывают на присутствие в ней длинноцепочечного алкила и смеси α- и β-аномерных протонов, а также потерю одной ацетильной группы во 2-м положении углеводного остатка (см. "Экспериментальную часть"). На основании этих данных, а также рассмотрения механизма ортоэфирного гликозилирования (см. ниже) компонентам фракции Б можно приписать структуры аномерных октадецил-3,4-ди-О-ацетил-D-глюкопиранозидов (IX) и (X).

Появление среди продуктов гликозилирования 2-гидроксигликозидов можно объяснить на основании общепринятого механизма реакции гликозилирования в условиях ортоэфирного метода [10] (схема 3).

Одно из конкурентных направлений протонирования промежуточного ацилоксониевого иона (XIII) по связи O(C-2)-C⁺ влечет за собой образование карбокатиона (XIV), алкоксилирование которого по S_N1-механизму приводит к смеси 2-гидроксигликозидов (IX) и (X) в соотношении, определяемом их термодинамической стабильностью, как правило, с перевесом α-аномера.

Кватернизацией соединения (VIII) был получен целевой тозилат (IX).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Использовали цианид ртути(II) (Merck), бромид ртути(II) (Aldrich) и остальные реактивы отечественного производства. Спектры ¹Н-ЯМР снимали в дейтерохлороформе и дейтерометаноле на импульсном ЯМР-спектрометре Bruker WM-250 (Германия). Масс-спектры снимали на времяпролетном масс-спектрометре МСБХ (Украина). Температуры плавления определяли на приборе Востис (Германия). Углы оптического вращения снимали на фотоэлектрическом спектрополяриметре Digyfor Jasco DIP 360 (Япония). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254 (Kavalier, Чехия) в системах растворителей толуол-ацетон, 3 : 1 (А), хлороформ-метанол, 4 : 1 (Б). Соотношения рас-

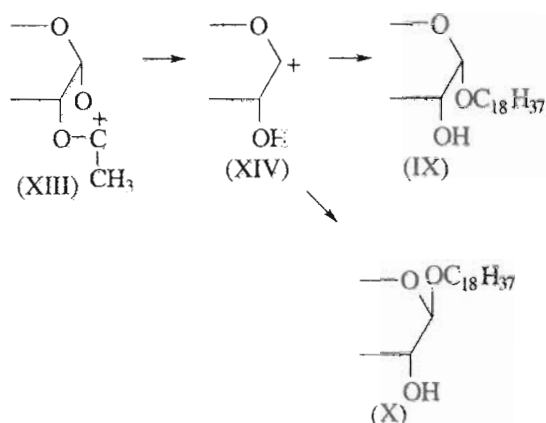


Схема 3.

творителей объемные. Пятна обнаруживали прокаливанием.

Вещества хроматографировали на колонках с силикагелем L 100/160 мкм (Chemapol, Чехия).

ВЭЖХ: аналитическое разделение аномерных смесей осуществляли на приборе Kovo (Чехия) с использованием рефрактометрического детектора Knauer. Колонка (2 × 150 мм) Silasorb 600, размер частиц 8 мкм (МНПП "Диагностикум", Москва). Подвижная фаза – гептан–этилацетат (75 : 25), расход 0,8 мл/мин.

гас-2-О-Метил-1-О-октадецил-3-О-(2,3,4-три-О-ацетил-6-О-тозил-β-D-глюкопиранозил)глицерин (IV). К раствору 2,4 г (6,7 ммоль) диглицерида (III) в 30 мл безводного хлористого метилена добавляли при перемешивании 1,97 г (7,8 ммоль) цианида ртути, 2,81 г (7,8 ммоль) бромида ртути, прокаленные молекулярные сита (4 Å). Через 30 мин прибавляли по каплям за 1 ч раствор 4,08 г (7,8 ммоль) 2,3,4-три-О-ацетил-6-О-тозил-α-D-глюкопиранозилбромид (II) в 20 мл безводного хлористого метилена. Через 3 ч реакционную массу разбавляли 30 мл хлороформа, отфильтровывали, обрабатывали 20 % водным раствором KI (3 × 5 мл), промывали водой, сушили Na₂SO₄. После удаления в вакууме растворителя остаток хроматографировали на колонке. Вещество элюировали смесью гептан–эфир, 60 : 40. Выход 4,03 г (75,2%). Т. пл. 68–70° С. [α]_D²⁰ -1,73° (с 1,5, хлороформ), R_f 0,62 (А). Найдено, %: С 61,66; Н 8,54; S 4,08. C₄₁H₆₈O₁₃S. Вычислено, %: С 61,47; Н 8,56; S 4,00. Масс-спектр (m/z): [M]⁺ 801,1. ¹Н-ЯМР-спектр, δ, м.д.: 0,86 (3Н, т, СН₃), 1,31 (30Н, уш. с, (СН₂)₁₅), 1,60 (2Н, м, ОСН₂СН₂), 2,01, 2,02, 2,05 (9Н, 3 с, 3 СОСН₃), 2,48 (3Н, с, СН₃ тозила), 3,36–3,6 (10Н, м, ОСН₂СН₂, ОСН₃, протоны Gro), 3,7–3,8 (1Н, м, Н-5 Glc), 4,03–4,16 (2Н, м, Н-6 Glc), 4,51 (1Н, д, J_{1,2} 8 Гц, Н-1 Glc), 4,87–4,97 (2Н, м, Н-2 и

H-4 Glc), 5.13–5.21 (1H, м, H-3 Glc), 7.35 и 7.78 (4H, 2 д, аром. ядро). ВЭЖХ: *t* 6.3 мин.

гас-2-О-Метил-1-О-октадецил-3-О-(2,3,4-три-О-ацетил-6-дезоксид-6-пиридиний-β-D-глюкопиранозил)глицерин, тозилат (V). 0.7 г (0.87 ммоль) соединения (IV) выдерживали 4 ч при 120°C с 3.6 мл (43.5 ммоль) безводного пиридина. Реакционную массу упаривали, вещество очищали колоночной хроматографией, элюируя смесью хлороформ–метанол, 8 : 1. Выход 0.62 г (81 %). $[\alpha]_D^{20} -14.1^\circ$ (с 1.5, хлороформ). R_f 0.0 (А), 0.65 (Б). Найдено, %: С 62.75; Н 8.39; N 1.51; S 3.59. $C_{46}H_{73}NO_{13}S$. Вычислено, %: С 62.77; Н 8.36; N 1.59; S 3.64. Масс-спектр (*m/z*): $[M]^+$ 709.0. ¹H-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 0.87 (3H, т, CH₃), 1.24 (30H, уш. с, (CH₂)₁₅), 1.54 (2H, м, OCH₂CH₂), 2.0, 2.02 и 2.12 (9H, 3 с, 3 COCH₃), 2.34 (3H, с, CH₃ тозила), 3.35–3.6 (10H, м, OCH₂CH₂, OCH₃, протоны Gro), 3.65–3.73 (1H, м, H-5 Glc), 4.15–4.29 (2H, м, H-6 Glc), 4.54 и 4.57 (2H, д, *J*_{1,2} 7.5 Гц для двух стереоизомеров по H-2 Gro), 4.74–4.91 (2H, м, H-2 и H-4 Glc), 5.21–5.3 (1H, м, H-3 Glc), 7.15 и 7.7 (4H, 2 д, аром. ядра), 7.96, 8.4 и 9.2 (5H, 3 т, гетероцикл. ядро).

гас-2-О-Метил-1-О-октадецил-3-О-(6-дезоксид-6-пиридиний-β-D-глюкопиранозил)глицерин, тозилат (VI). К раствору 0.62 г (0.7 ммоль) соединения (V) в 4 мл метанола при 19–20°C добавляли 1 мл 0.1 н. раствора метилата натрия в метаноле. Через 3 ч реакционную массу обрабатывали дауэксом 50W × 8. Смола отфильтровывали, промывали метанолом, растворитель упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией, элюируя смесью хлороформ–метанол, 8 : 1. Выход аморфного вещества 0.23 г (45 %), $[\alpha]_D^{20} -12.79^\circ$ (с 1.5, хлороформ–метанол, 1 : 0.1). R_f 0.2 (Б). Масс-спектр (*m/z*): $[M]^+$ 582.4. ИК-спектр (суспензия в вазелиновом масле, ν, см⁻¹): 3450 (OH), 1373 (SO₂), 1117–1020 (C–O–C), 1597, 1487 и 686 (аром. ядро).

Октадецил-2,3,4-три-О-ацетил-6-О-тозил-β-D-глюкопиранозид (VIII). Смесью 2.92 г (11.0 ммоль) октадеканола (VII), 2.77 г (11.0 ммоль) цианида ртути, 3.94 г (11.0 ммоль) бромида ртути и прокаленные молекулярные сита 4 Å перемешивали 50 мин при 50–60°C в 40 мл безводного хлористого метилена. Затем прибавляли по каплям в течение 50 мин раствор 4.3 г (8.21 ммоль) 2,3,4-три-О-ацетил-6-О-тозил-α-D-глюкопиранозилбромида (II). Через 2.5 ч реакционную массу фильтровали, осадок промывали хлороформом. Фильтрат обрабатывали 20% водным раствором иодида натрия, промывали водой и сушили сульфатом натрия. Растворитель отгоняли. Остаток очищали на колонке, элюируя смесью гептан–этилацетат, 70 : 30. Получили две фракции – А и Б. Фракция А – соединение (VII). Выход 1.98 г (34 %), т. пл. 96.5–97.5°C.

$[\alpha]_D^{20} +2.26^\circ$ (с 1.5, хлороформ). R_f 0.7 (А). Найдено, %: С 62.40; Н 8.47; S 4.40. $C_{37}H_{60}O_{11}S$. Вычислено, %: С 62.33; Н 8.48; S 4.50. Масс-спектр (*m/z*): $[M]^+$ 713.3. ¹H-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 0.85 (3H, т, CH₃), 1.26 (30H, уш. с, (CH₂)₁₅), 1.6 (2H, м, OCH₂CH₂), 2.0, 2.03 и 2.05 (9H, 3с, 3COCH₃), 2.46 (3H, с, CH₃ тозила), 3.36–3.46 (2H, м, OCH₂CH₂), 3.70–3.83 (1H, м, H-5 Glc), 4.02–4.15 (2H, м, H-6 Glc), 4.46 (1H, д, *J*_{1,2} 8 Гц, H-1 Glc), 4.87–4.94 (2H, м, H-2 и H-4 Glc), 5.13–5.21 (1H, м, H-3 Glc), 7.33–7.78 (4H, 2 д, аром. ядро). Фракция Б – смесь соединений (IX) и (X). Выход 1.67 г (32%). R_f 0.6 (А). Найдено, %: С 62.41; Н 8.74; S 4.97. $C_{35}H_{58}O_{10}S$. Вычислено, %: С 62.66; Н 8.71; S 4.78. Масс-спектр (*m/z*): $[M + Na]^+$ 693.4. ¹H-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 0.88 (6H, т, 2 CH₃), 1.28 (60H, уш. с, 2(CH₂)₁₅), 1.6 (4H, м, OCH₂CH₂), 1.98, 2.0, 2.03, 2.06, 2.08, 2.1 (18H, 6 с, 6 COCH₃), 2.47 (6H, с, 2CH₃ тозила), 3.49 (1H, м, H-2-β-Glc), 3.59 (1H, м, H-2-α-Glc), 4.32 (1H, д, *J*_{1,2} 8 Гц, H-1-β-Glc), 4.82 (1H, д, *J*_{1,2} 3.5 Гц, H-1-α-Glc), 4.87 (1H, т, H-4-β-Glc), 4.88 (1H, т, H-4-α-Glc), 5.09 (1H, т, H-3-β-Glc), 5.18 (1H, т, H-3-α-Glc), 7.35–7.78 (8H, 2 д, аром. ядро).

Октадецил-2,3,4-три-О-ацетил-6-дезоксид-6-пиридиний-β-D-глюкопиранозид, тозилат (XI). 0.7 г (1.0 ммоль) глюкозида (VIII) выдерживали 1.5 ч при 120°C с 4 мл (49.1 ммоль) безводного пиридина. Реакционную массу упаривали, вещество очищали колоночной хроматографией, элюируя смесью хлороформ–метанол, 8 : 1. Выход 0.34 г (51%).

$[\alpha]_D^{20} -44^\circ$ (с 1.0, хлороформ). R_f 0.6 (Б). Найдено, %: С 63.42; Н 8.24; N 1.62; S 4.09. $C_{37}H_{60}O_{11}NS$. Вычислено, %: С 63.69; Н 8.27; N 1.77; S 4.05. ¹H-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 0.88 (3H, т, CH₃), 1.2 (30H, уш. с, (CH₂)₁₅), 1.4 (2H, м, OCH₂CH₂), 2.0, 2.02 и 2.12 (9H, 3с, 3COCH₃), 2.34 (3H, с, CH₃ тозила), 3.19–3.33 (2H, м, OCH₂CH₂), 3.51–3.59 (1H, м, H-5 Glc), 4.19–4.26 (2H, м, H-6 Glc), 4.46 (1H, д, *J*_{1,2} 8.5 Гц, H-1 Glc), 4.73–4.88 (2H, м, H-2 и H-4 Glc), 5.21–5.29 (1H, м, H-3 Glc), 7.13 и 7.7 (4H, 2 д, аром. ядро), 7.97, 8.42 и 9.16 (5H, 3 т, гетероцикл. ядро).

Октадецил-6-дезоксид-6-пиридиний-β-D-глюкопиранозид, тозилат (XII) получали из тозилата (XI) аналогично соединению (VI). Выход 63.6%, R_f 0.7 (Б).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гордеев К.Ю., Серебренникова Г.А., Евстигнеева Р.П. // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. С. 1589–1605.
2. Serebrennikova G.A., Evstigneeva R.P. // Sov. Sci. Rev. B. Chem. / Ed. M.E. Volpin. Glasgow: Bell and Bain Ltd., 1988. V. 12. P. 207–268.

3. Саблина М.А., Ушакова И.П., Серебренникова Г.А. // Хим.-фармацевт. журн. 1994. Т. 28. С. 9–24.
4. Favre E., Heymans F., Redeuilh C., Batt J.-P., Massicot F., Blavet N., Braquet P., Godfroid J.-J. // J. Lipid Mediators. 1992. V. 5. P. 23–40.
5. Weber N., Benning H. // Chem. Phys. Lipids. 1986. V. 41. P. 93–100.
6. Морозова Н.Г., Битюкова И.И., Волкова Л.В., Евстигнеева Р.П. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. С. 654–659.
7. Морозова Н.Г., Кривойченко И.Н., Аникин М.В., Серебренникова Г.А. // Журн. орган. химии. 1991. Т. 27. С. 2584–2588.
8. Морозова Н.Г., Андропова И.Г., Новичков И.Д., Чупин В.В., Аникин М.В., Серебренникова Г.А. // Биоорган. химия. 1993. Т. 19. С. 236–242.
9. Морозова Н.Г., Коробова Т.Б., Аникин М.В., Чупин В.В., Серебренникова Г.А. // Биоорган. химия. 1994. Т. 20. С. 697–700.
10. Бочков А.Ф., Афанасьев В.А., Заиков Г.Е. Образование и расщепление гликозидных связей. М.: Наука, 1978. С. 38.

Synthesis of Cationic Alkyl Glucosides

N. G. Morozova, E. V. Peredkova, and G. A. Serebrennikova

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

Abstract—Cationic glycolipids of a series of high-alkyl glucopyranosides and glucosyl diglycerides with a positively charged pyridinium group in the 6 position of a sugar residue were synthesized as potential antagonists of blood platelet-activating factor.

Key words: alkyl glucopyranosides, glycolipids, cationic lipids.