



УДК 547.814'118'455.6.057

ПОЛУЧЕНИЕ β -ГЛИКОЗИДОВ *all-rac*- α -ТОКОФЕРИЛФОСФАТА

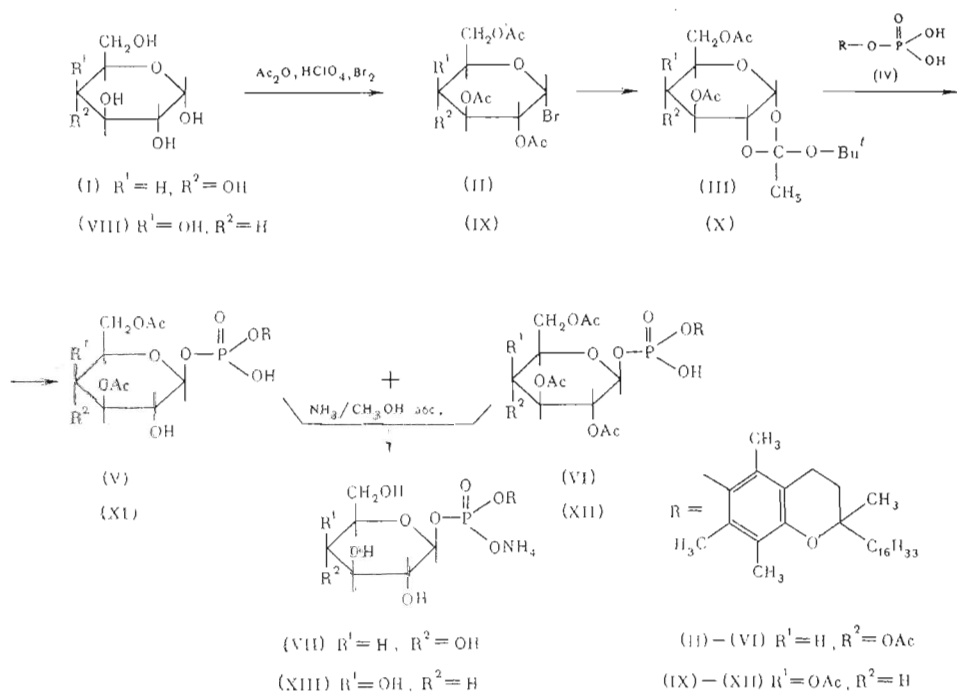
Захарова Е. И., Патокин С. В., Сарычева И. Е.,
Евстигнеева Р. П.

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

Осуществлен синтез β -D-глюкопиранозил- и β -D-галактопиранозилфосфатов *all-rac*- α -токоферола в виде аммониевых солей путем размыкания ацетилзамещенных ортоэфиров D-глюкозы и D-галактозы *all-rac*- α -токоферилфосфатом с последующим деацетилированием насыщенным раствором аммиака в метаноле.

В последние годы особый интерес вызывает химия и биохимия витамина Е. Согласно современным представлениям, витамин Е в виде α -токоферола является специфическим мощным антиоксидантом, накапливается в липидах различных органов, способствуя усвоению физиологически незаменимых жирных кислот, каротиноидов и витамина А [1]. Кроме того, витамин Е рассматривается как универсальный стабилизатор клеточных мембран [2]. Однако комплексное воздействие витамина Е на организм человека и животных пока недостаточно изучено, что вызывает необходимость широких поисков в области синтеза как самого витамина, так и его биологически активных эфиров.

В продолжение исследований [3, 4] по получению производных витамина Е нами осуществлен синтез β -D-глюкопиранозил-*all-rac*- α -токоферилфосфата (VII) и β -D-галактопиранозил-*all-rac*- α -токоферилфосфата (XIII) (схема) в виде аммониевых солей. Это основывалось на том, что в настоящее время появились данные об участии витамина К₁ в форме структурно близких витамину Е нафтохинолфосфатов с углеводными заместителями в биосинтезе гликопротеинов, играющих роль липидных переносчиков углеводных остатков через мембраны [5]. Таким образом, аммониевые соли (VII) и (XIII) могут рассматриваться в качестве моделей таких соединений.



В основу синтеза исходной 3,4,6-три-О-ацетил-1,2,-О-*трет*-бутилортоацетил- α -D-глюкопиранозы (III) был положен метод Лемье [6]. Реакцией ацетилирования и бромирования D-глюкоза (I) переводилась в 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- α -D-глюкопиранозилбромид (II) [7], который путем последовательной обработки тетра-N-этиламмонийбромидом и *трет*-бутанолом в присутствии 2,6-лутидина превращался в ортоэфир (III) [8]. Нами были подобраны условия размыкания ортоэфира (III) *all-rac*- α -токоферилфосфатом (IV). Реакция протекает в среде сухого бензола при 18–20°С в течение 1 ч при небольшом избытке фосфата (IV). При этом образуются соединения, отличающиеся хроматографической подвижностью, с R_f 0,48; 0,50 и 0,80 (B)*. Колоночной хроматографией на сефадексе LH-20 в системе А была отделена смесь этих соединений от избытка фосфата (IV) и побочного, крайне неустойчивого фосфорсодержащего соединения с R_f 0,80 (B) — по-видимому, триэфира, выделить который не удалось.

С помощью ИК- и ¹H-ЯМР-спектров было установлено, что размыкание ортоэфира (III) фосфатом (IV) протекает неоднозначно, приводя к образованию 3,4,6-три-О-ацетил- β -D-глюкопиранозил-*all-rac*- α -токоферилфосфата (V) (R_f 0,48, B) и 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- β -D-глюкопиранозил-*all-rac*- α -токоферилфосфата (VI) (R_f 0,50, B). В ИК-спектре соединений (V) и (VI) имеются полосы поглощения: при 3400 см⁻¹, указывающая на наличие спиртовой гидроксильной группы, а при 1750 см⁻¹, свидетельствующая о присутствии сложноэфирной связи. В ¹H-ЯМР-спектре имеются сигналы 12 протонов ацетильных групп при δ 2,0 м. д., а в области аномерного протона (δ 5,65 м. д., J 6 Гц) наблюдается дублет.

Обработкой смеси эфиров (V) и (VI) насыщенным раствором аммиака в абсолютном метаноле был получен единственный продукт реакции — аммониевая соль β -D-глюкопиранозил-*all-rac*- α -токоферилфосфата (VII) (R_f 0,36, Г), отличающаяся большей устойчивостью, чем исходные соединения (V) и (VI). В связи с этим нами был избран иной путь синтеза соли (VII). Смесь соединений (V), (VI), (IV) и триэфира без разделения обрабатывали насыщенным раствором аммиака в абсолютном метаноле. Выпавший осадок диаммониевой соли *all-rac*- α -токоферилфосфата (IV) отделяли, а маточный раствор очищали с помощью препаративной ТСХ на кизельгеле-40 в системе Б и получали аммониевую соль (VII) (R_f 0,36, Г).

Соединение (VII) давало плавную кривую ДОВ и небольшое значение величины удельного вращения при 589 нм, равное +14,0°, что указывало на его β -конфигурацию. Это также подтверждалось данными ¹H-ЯМР-спектроскопии: в спектре соединения (VII) имеется сигнал аномерного протона при δ 5,35 м. д., J 6 Гц. В ИК-спектре соединения (VII) наблюдается интенсивная полоса поглощения при 3400 см⁻¹, что указывает на присутствие в нем спиртовых гидроксильных групп. Сравнение УФ-спектров аммониевой соли (VII) ($\lambda_{\max}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 287, $E_{1\text{см}}^{1\%}$ 32,6), *all-rac*- α -токоферилфосфата (IV) ($\lambda_{\max}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 287, $E_{1\text{см}}^{1\%}$ 43,3 [3]) и *all-rac*- α -токоферола ($\lambda_{\max}^{\text{CH}_3\text{OH}}$ 292, $E_{1\text{см}}^{1\%}$ 73,8 [9]) показывает, что для фосфорных производных *all-rac*- α -токоферола свойственны гипсохромный сдвиг максимума поглощения и гипсохромный эффект. Подобные изменения характерны и для других сложных эфиров *all-rac*- α -токоферола, например ацетата *all-rac*- α -токоферола ($\lambda_{\max}^{\text{CHCl}_3}$ 287, $E_{1\text{см}}^{1\%}$ 42,0 [9]). Сравнение ³¹P-ЯМР-спектров соединения (VII) (δ 4,45 м. д.) и фосфата (IV) (δ 2,90 м. д. [3]) свидетельствуют о том, что введение дополнительного углеводного заместителя в молекулу фосфата (IV) вызывает сдвиг сигнала в сильное поле ($\Delta\delta$ 1,55 м. д.) (соединение VII). Такие закономерности отмечались для нуклеотидов и фосфолипидов [10, 11].

Аналогично соединению (VII) была получена аммониевая соль β -D-галактопиранозил-*all-rac*- α -токоферилфосфата (XIII) с той лишь разницей, что 2,3,4,6-тетра-О-ацетил- α -D-галактопиранозилбромид (IX) [7] пе-

* Состав хроматографических систем здесь и далее см. в «Экспериментальной части».

реводился в 3,4,6-три-О-ацетил-1,2-О-трет-бутилортоацетил- α -D-галактопиранозу (X) последовательной обработкой нитратом серебра и трет-бутанолом в коллидине [12], а размыкание ортоэфира (X) *all-rac*- α -токоферилфосфатом (IV) протекало в среде сухого хлороформа в течение 12 ч при 20° С. Строение и состав соединения (XIII) подтверждались методами ИК-, УФ-, ¹H-ЯМР, ³¹P-ЯМР-спектроскопии, температурами плавления, ДОВ, ТСХ и данными элементного анализа.

Экспериментальная часть

Хроматографирование продуктов реакции проводили на колонке с сефадексом LH-20 (25–100 мкм. Швеция) и препаративной ТСХ на кизельгеле-40 (Merck, ФРГ) в следующих системах растворителей: хлороформ (А); хлороформ – метанол, 1 : 1 (Б). Для ТСХ полученных соединений на пластинках Silufol UV-254 (УССР) использовали системы: хлороформ – метанол – 25% аммиак, 15 : 5 : 1 (В); хлороформ – метанол – 25% аммиак, 10 : 10 : 1 (Г); эфир (Д); хлороформ – ацетон, 8 : 1 (Е). ИК-спектры сняты на спектрофотометре Shimadzu IR-435 (Япония) в пасте с вазелиновым маслом, УФ-спектры – на спектрофотометре Shimadzu UV-240 (Япония) в области 240–300 нм в метаноле. Спектры ¹H-ЯМР записаны на спектрометре Bruker WM-250 (ФРГ) на рабочей частоте 250 МГц в дейтерометаноле; внутренний стандарт – гексаметилендиоксан. Спектры ³¹P-ЯМР записаны на импульсном фурье-спектрометре Bruker WM-250 (ФРГ) на частоте 101,1 МГц в дейтерометаноле; химические сдвиги приведены относительно сигнала 85% ортофосфорной кислоты как внешнего стандарта: «+» – вправо от ортофосфорной кислоты. Данные ДОВ получены для растворов в метаноле на фотоэлектрическом спектрополяриметре Perkin – Elmer 241-МС (Англия) при 20° С.

2,3,4,6-Тетра-О-ацетил- α -D-глюкопиранозилбромид (II) получали ацетилированием и бромированием 6,00 г D-глюкозы (I) по методике [7]. Выход 13,06 г (96,0%), т. пл. 88–89° С, R_f 0,90 (Д), $[\alpha]_D^{20} +198, 0^\circ$ (с 2,0; хлороформ). Лит. данные [7]: т. пл. 88–89° С, $[\alpha]_D^{20} +198, 0^\circ$ (с 2,0; хлороформ).

3,4,6-Три-О-ацетил-1,2-О-трет-бутилортоацетил- α -D-глюкопиранозу (III) получали из 8,20 г бромида (II) по методике [8]. Выход 4,59 г (57,0%), т. пл. 153–155° С, R_f 0,82 (Е), $[\alpha]_D^{20} +33,5^\circ$ (с 1,0; хлороформ). Лит. данные [8]: т. пл. 152–154° С, $[\alpha]_D^{20} +33,8^\circ$ (с 2,5; хлороформ).

Аммониевая соль β -D-глюкопиранозил-*all-rac*- α -токоферилфосфата (VII). Вариант А. К раствору 0,69 г (1,35 ммоль) *all-rac*- α -токоферилфосфата (IV) в 10 мл сухого бензола прибавляли в течение 30 мин при перемешивании 0,50 г (1,24 ммоль) ортоэфира (III). Реакционную массу перемешивали еще 30 мин при 18–20° С, упаривали и получали 0,80 г смеси соединений: ТСХ в системе В R_f 0,10 – (IV); R_f 0,48 – (V); R_f 0,50 – (VI) и R_f 0,80 – побочное фосфорсодержащее соединение, выделить которое не удалось из-за его крайней нестабильности. Колоночной хроматографией на сефадексе LH-20 в системе А получали 0,41 г смешанной фракции соединений (V), (VI). К раствору 0,41 г смешанной фракции в 5 мл абсолютного метанола добавляли 10 мл насыщенного раствора аммиака в абсолютном метаноле, оставляли на 20 ч при 0–5° С и упаривали досуха. Получали 0,26 г (30,2%) аммониевой соли (VII).

Вариант Б. Размыкание ортоэфира (III) фосфатом (IV) проводили аналогично варианту А. Далее к раствору 0,80 г смеси соединений (IV) – (VI) и триэфира в 5 мл абсолютного метанола добавляли 10 мл насыщенного раствора аммиака в абсолютном метаноле, оставляли на 20 ч при 0–5° С, осадок диаммониевой соли *all-rac*- α -токоферилфосфата (IV) отфильтровывали, промывая его абсолютным метанолом (2×5 мл). Объединенные фильтраты упаривали, а остаток очищали препаративной ТСХ на пластинках (20×20 см) с кизельгелем-40, элюируя системой Б. Элюат упаривали досуха и получали 0,39 г (45,0%) аммониевой соли (VII).

Образцы соединения (VII), полученные по вариантам А и Б, имели одинаковую температуру плавления, величину $[\alpha]_D^{20}$, были идентичны по данным ТСХ и спектральным характеристикам. Т. пл. 150–152° С, R_f 0,36 (Г). УФ-спектр, λ_{max} , нм: 287 ($E_{1\%}^{1\text{см}}$ 32,6). ИК-спектр, ν , см⁻¹: 3400 (ОН),

(N—H); 2900 (CH₃), (CH₂), (CH); 1640 (N—H); 1460 (C—CH₃), (—CH₂—), (C=C аром.); 1375 (C—CH₃), $\left(\begin{array}{c} | \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\ | \end{array} \right)$; 1260 (=C—O), (P=O); 1160 (P—O—C); 1090 (C—O); 1060 (P—O—C). ДОВ $[\alpha]$ (с 0,5), град (λ, нм): +14,0 (589); +16,0 (579); +20,0 (546); +100,0 (435); +124,0 (407); +190,0 (366); +264,0 (334); +352,0 (313). ¹H-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 0,85 (15H, м, CH₃ алиф., 2-CH₃); 1,25 (18H, м, CH₂ алиф.); 1,66 (2H, кв, J 7 Гц, 3-CH₂); 2,05 (6H, с, 5,7-CH₃); 2,10 (3H, с, 8-CH₃); 2,55 (2H, т, J 7 Гц, 4-CH₂); 5,35 (1H, д, J 6 Гц, аном. протон). ³¹P-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 4,45. Найдено, %: С 60,73; Н 9,15; Р 4,48. С₃₅Н₆₄NO₁₀Р. Вычислено, %: С 60,94; Н 9,35; Р 4,49.

2,3,4,6-Тетра-О-ацетил-α-D-галактопиранозилбромид (IX) получали ацетилированием и бромированием 6,00 г D-галактозы (VIII) по методике [7]. Выход 12,85 г (94,5%), т. пл. 81–83°С, R_f 0,80 (Д), $[\alpha]_D^{20} +215,0^\circ$ (с 1,0; хлороформ). Лит. данные [13]: т. пл. 83–85°С, $[\alpha]_D^{20} +215,0^\circ$ (с 1,0; хлороформ).

3,4,6-Три-О-ацетил-1,2-О-трет-бутилортоацетил-α-D-галактопиранозу (X) получали из 2,60 г бромид (IX) по методике [12]. Выход 1,73 г (67,6%), т. пл. 88–89°С, R_f 0,85 (Д), $[\alpha]_D^{20} +79,0^\circ$ (с 1,0; хлороформ). Лит. данные [12]: т. пл. 89–90°С, $[\alpha]_D^{20} +80,0^\circ$ (с 1,0; хлороформ).

Аммониевая соль β-D-галактопиранозил-α-токоферилфосфата (XIII). К раствору 0,69 г (1,35 ммоль) фосфата (IV) в 10 мл сухого хлороформа прибавляли в течение 1 ч при перемешивании 0,50 г (1,23 ммоль) ортофосфа (X). Реакционную массу перемешивали 12 ч при 18–20°С и упаривали досуха. Остаток растворяли в 5 мл абсолютного метанола, добавляли 10 мл насыщенного раствора аммиака в абсолютном метаноле и оставляли на 20 ч при 0–5°С. Осадок диаммониевой соли α-токоферилфосфата (IV) отфильтровывали, промывая абсолютным метанолом (2××5 мл), а объединенные фильтраты упаривали досуха. Остаток очищали препаративной ТСХ на пластинках (20×20 см) с кизельгелем-40, элюируя системой Б. Элюат упаривали досуха и получали 0,19 г (22,1%) аммониевой соли (XIII). Т. пл. 112–115°С, R_f 0,34 (Г). УФ-спектр, λ_{max}, нм: 287 (E_{1cm}^{1%} 32,1). ИК-спектр, ν, см⁻¹: 3300 (ОН), (N—H); 2900 (CH₃), (CH₂), (CH), 1650 (N—H); 1460 (C—CH₃), (—CH₂—), (C=C аром.); 1375 (C—CH₃), $\left(\begin{array}{c} | \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\ | \end{array} \right)$; 1280 (=C—O), (P=O); 1150 (P—O—C); 1080 (C—O); 1040 (P—O—C). ДОВ $[\alpha]$ (с 1,0), град (λ, нм): +8,0 (589), +11,0 (579), +12,0 (546), +20,0 (435), +21,0 (407), +26,0 (366), +31,0 (334), +39,0 (313). ¹H-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 0,85 (15H, м, CH₃ алиф., 2-CH₃); 1,20 (18H, м, CH₂ алиф.); 1,75 (2H, кв, J 7 Гц, 3-CH₂); 2,05 (6H, с, 5,7-CH₃); 2,10 (3H, с, 8-CH₃); 2,55 (2H, т, J 7 Гц, 4-CH₂); 5,65 (1H, д, J 6 Гц, аном. протон). ³¹P-ЯМР-спектр, δ, м. д.: 4,78. Найдено, %: С 60,90; Н 9,28; Р 4,45. С₃₃Н₆₄NO₁₀Р. Вычислено, %: С 60,94; Н 9,35; Р 4,49.

ЛИТЕРАТУРА

- Храпова Н. Г. Витамины. Киев: Наук. думка, 1975, № 8, с. 22–30.
- Архипенко Ю. В., Добрин С. К., Каган В. Е., Козлов Ю. П., Надилов Н. К., Писарев В. А., Ритов В. В., Хафизов Р. Х. Биохимия, 1977, т. 42, с. 1525–1531.
- Жукова Е. Э., Захарова Е. И., Соколова Н. А., Сарычева И. К., Евстигнеева Р. П. Хим.-фармацевт. журн., 1983, т. XVIII, № 7, с. 840–844.
- Захарова Е. И., Лукинова М. М., Сарычева И. К., Евстигнеева Р. П. Хим.-фармацевт. журн., 1985, т. XIX, № 9, с. 1072–1074.
- Johnson V. C., Vabkovich G. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1972, v. 48, № 6, p. 1437–1443.
- Lemieux R. U., Morgan A. R. Can. J. Chem., 1965, v. 43, № 8, p. 2199–2204.
- Методы химии углеводов/Кочетков Н. К. М.: Мир, 1967, с. 124.
- Бочков А. Ф., Соколовская Т. А., Кочетков Н. К. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1968, № 7, с. 1570–1575.
- Березовский В. М. Химия витаминов. М.: Пищевая пром-сть, 1973, с. 255.
- Зарыгова В. Ф., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Левина А. С., Резвухин А. И. Изв. СО АН СССР. Сер. хим., 1974, № 2, вып. 1, с. 85–96.
- Карышева Н. И., Бушнев А. С., Василенко И. А., Зайцова Е. И., Евстигнеева Р. П. Биоорг. химия, 1979, т. 5, № 8, с. 1146–1150.

12. Zurabyan S. E., Tikhomirov M. M., Nesmeyanov V. A., Khorlin A. Ya. Carbohydr. Res., 1973, v. 26, № 1, p. 117-123.
13. Schroeder L. R., Counts K. M., Haigh F. C. Carbohydr. Res., 1974, v. 37, № 2, p. 368-372.

Поступила в редакцию
17.IV.1986

SUNTHESIS OF β -GLYCOSIDES OF *all-rac- α* -TOCOPHERYL PHOSPHATE

ZAKHAROVA E. I., PATOKIN S. V., SARYCHEVA I. K., EVSTIGNEEVA R. P.

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

Synthesis of β -D-glucopyranosyl and β -D-galactopyranosyl phosphates of *all-rac- α* -tocopherol ammonium salts was accomplished via ring opening of acetyl substituted ortoesters of D-glucose and D-galactose with *all-rac- α* -tocopheryl phosphate followed by deacetylation with saturated methanolic ammonia.