



УДК 547.392.52.057

© 1991 г.

Д. В. Куклев, Н. А. Латышев*, В. В. Безуглов

СИНТЕЗ

ПОЛНОСТЬЮ-ЦИС-3,6,9,12,15-ОКТАДЕКАПЕНТАЕНОВОЙ
КИСЛОТЫ

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР, Москва;

*Институт биологии моря ДВО АН СССР, Владивосток

Описан синтез полностью-цис-3,6,9,12,15-октадекапентаеновой кислоты из природной полностью-цис-4,7,10,13,16,19-докозагексаеновой кислоты, выделяемой из смеси жирных кислот рыбьего жира селективной реакцией под-лактонизации.

Интерес к эссенциальным жирным кислотам $n - 3$ -серии, прежде всего к эйкозапентаеновой (ЕРА) 20 : 5 ($n - 3$) и докозагексаеновой (ДНА) 22 : 6 ($n - 3$), связан с их уникальной ролью в регуляции обмена эйкозаноидов у млекопитающих. Однако неясны функции C_{18} -полиненасыщенных жирных кислот $n - 3$ -серии — стеародоновой 18 : 4 ($n - 3$) и октадекапентаеновой 18 : 5 ($n - 3$) (ODPA), хотя они являются компонентом пищевых цепей с участием «морских липидов». ODPA была обнаружена во многих исследованных одноклеточных водорослях рода *Dinoflagellate*, а также в зоопланктоне [1], позже ее обнаружили и в моллюсках [2].

Для исследований жирнокислотного состава липидов из морских источников и изучения метаболизма полиненасыщенных жирных кислот необходимы препаративные количества чистой ODPA, структура которой до настоящего времени не была подтверждена встречаемым синтезом.

Выделение ODPA из природных объектов затруднено ее сложным хроматографическим поведением, она часто маскируется другими жирными кислотами [3, 4]. Синтез ODPA обычными методами — через ацетиленовые соединения либо с использованием реакции Виттига — непросто из-за высокой степени ненасыщенности ODPA и близости системы двойных связей к карбоксильной группе.

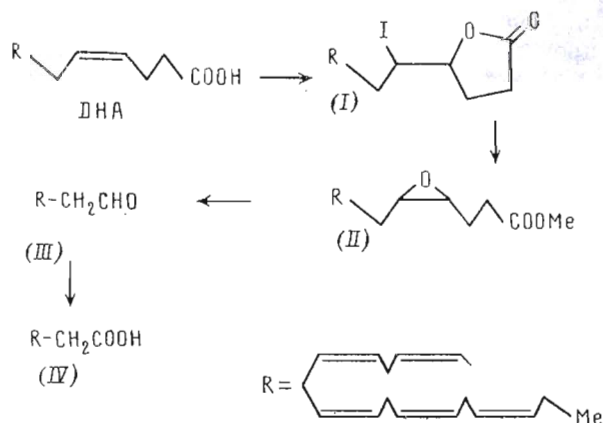
Нами разработан простой метод синтеза ODPA в препаративных количествах из природной ДНА с хорошим выходом, гарантирующий сохранение цис-конфигурации двойных связей и их природное расположение. ДНА, содержащуюся в сумме жирных кислот рыбьего жира, селективно превратили в ее γ -иодлактон (I) (см. схему) путем обработки смеси жирных кислот рыбьего жира 0,8 экв. I_2 в расчете на содержащуюся ДНА. Мы установили, что в этих условиях происходит практически полное образование γ -иодлактонов из жирных кислот с δ -4-положением двойной связи (более 90%), в то время как жирные кислоты с δ -5-положением двойной связи (ЕРА, арахидоновая кислота) практически не подвергаются лактонизации (образуется менее 5% δ -иодлактонов). Иодлактон (I) далее превратили в 4,5-эпоксипроизводное метилового эфира ДНА (II). Последний расщепили обработкой иодной кислотой и далее окислили образовавшийся альдегид (III) до ODPA (IV). Физико-химические данные полученной нами ODPA совпадали с характеристиками кислоты, выделенной из природных источников (см. таблицу), за исключением неиден-

Сокращения: ЕРА — эйкозапентаеновая кислота, ДНА — докозагексаеновая кислота, ODPA — октадекапентаеновая кислота.

Спектр ПМР (500 МГц, CDCl₃, шкала δ)

Отнесение	Соединения			
	(I)	(II)	(III)	(IV)
H-1			9,70τ	
H-2	2,56M	2,50M	3,24M	3,22M
H-3a	2,42M	1,81M	5,60M	5,63M
H-3b	2,72M	1,94M		
H-4	4,27M	2,98M	5,69M	5,63M
H-5	4,13M	2,98M	2,84M	2,88M
H-6a	2,83M	2,24M	5,40M	5,42M
H-6b		2,40M		
H-7	5,58M	5,50M	5,40M	5,42M
H-8	5,39M	5,37M	2,84M	2,88M
H-9	2,83M	2,84M	5,40M	5,42M
H-10	5,39M	5,37M	5,40M	5,42M
H-11	5,39M	5,37M	2,84M	2,88M
H-12	2,83M	2,84M	5,40M	5,42M
H-13	5,39M	5,37M	5,40M	5,42M
H-14	5,39M	5,37M	2,84M	2,88M
H-15	2,83M	2,84M	5,40M	5,42M
H-16	5,39M	5,37M	5,40M	5,42M
H-17	5,39M	5,37M	2,08M	2,11M
H-18	2,83M	2,84M	1,00τ	1,00τ
H-19	5,39M	5,37M		
H-20	5,39M	5,37M		
H-21	2,08M	2,07M		
H-22	0,98τ	0,99τ		
COOMe		3,69c		

тифицированных мультиплетов при 0,6; 1,25 и 1,54 м. д. в спектре ПМР последней, обусловленных наличием примесей [1]. Различались также данные ГЖХ синтетической и выделенной из природных источников ОДРА. Так, по нашим данным углеродное число составило 19,98, хотя ранее сообщалось, что его значение в тех же условиях равно 20,14 [4].



Разработанный нами синтез может быть успешно применен для получения ОДРА в количествах, достаточных для использования в качестве стандартов в аналитических целях и для биологических исследований.

Экспериментальная часть

УФ-спектры регистрировали в этаноле на приборе Specord UV-VIS (ГДР), ИК-спектры — на приборе Specord 75 IR (ГДР) в CCl₄. Спектры ПМР измеряли на спектрометре Bruker WM-500 (ФРГ), химические сдвиги протонов (δ) приведены относительно внутреннего стандарта — (CH₃)₄Si для растворов в CDCl₃. Масс-спектры регистрировали на приборе Varian Mat 44S при ионизации электронным ударом (энергия электронов

70 эВ) либо при химической ионизации аммиаком. Для ГЖХ-анализов использовали хроматограф Shimadzu GC9AM, интегратор C-R3A (Shimadzu), капиллярную кварцевую колонку (0,25 мм × 25 м) с привитой фазой Carbowax 20M, детектор — пламенно-ионизационный, газ-носитель — гелий, температура инжектора 230° С, температура термостата колонок 195° С. ТСХ проводили на пластинках Silufol UV 254 (Kavalier), обнаружение осуществляли опрыскиванием хроматограмм 10% раствором фосфорномолибденовой кислоты в спирте с последующим их нагреванием до 120° С. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (Chemapol), который предварительно дегазировали в вакууме водоструйного насоса и промывали 0,01% раствором ионола в исходном растворителе; ход разделения контролировали ТСХ. Растворы упаривали при температуре не выше 30° С. Органические растворители очищали по стандартным методикам. Используемые реактивы имели степень чистоты ч.д.а. Исходный суммарный препарат жирных кислот рыбьего жира сардины ивасы содержал, по данным ГЖХ-анализа, 35% ДНА и 30% ЕРА.

полностью-цис-5-Иод-7,10,13,16,19-докозапентаен-4-олид (I). К раствору 30 г (10,5 г, 0,03 моль в расчете на ДНА) жирных кислот рыбьего жира в 75 мл спирта прибавляли при интенсивном перемешивании 200 мл 20% раствора K_2CO_3 , смесь интенсивно перемешивали при 20° С до получения прозрачного раствора (1 ч). К полученному раствору при интенсивном перемешивании прибавляли по каплям в течение 2 ч 55 мл 12% раствора I_2 в спирте (0,8 экв. в расчете на ДНА) и реакционную смесь интенсивно перемешивали далее при 20° С до исчезновения иодной окраски (1,5 ч). Затем к смеси прибавляли 100 мл насыщенного водного раствора $Na_2S_2O_3$, энергично встряхивали и экстрагировали смесью гексан — эфир (4 : 1, 3 × 300 мл). Объединенный органический экстракт промывали насыщенным раствором $NaCl$ (2 × 100 мл), сушили над Na_2SO_4 . Осушитель отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, сухой остаток растворяли в 200 мл гексана и промывали свежеприготовленным 4,5% раствором Na_2CO_3 в 40% водном этаноле (2 × 50 мл), водой (50 мл), насыщенным раствором $NaCl$, сушили над Na_2SO_4 . Осушитель отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, растворяли в минимальном количестве бензола и наносили на хроматографическую колонку, заполненную суспензией 100 г силикагеля в сухом бензоле. Колонку промывали градиентной системой бензол — эфир (до 5% эфира). Фракции, содержащие иодлактон (I), объединяли и упаривали. Получали 9 г (62%) иодлактона (I) в виде светло-желтого масла с характерным запахом; R_f 0,72 (хлористый метилен). УФ-спектр: λ_{max} 210 нм, масс-спектр*, химическая ионизация аммиаком, m/z : 472 ($[M + NH_3 + H]^+$); 346 ($[M - HI + NH_3 + H]^+$). Спектр ПМР (см. таблицу).

Метиловый эфир полностью-цис-4,5-эпокси-7,10,13,16,19-докозапентаеновой кислоты (II). К раствору 9,7 г (0,021 моль) иодлактона (I) в 50 мл метанола прибавляли 16 мл Et_3N (11,6 г, 0,115 моль), реакционную смесь кипятили 3 ч, а затем упаривали досуха в вакууме. Остаток встряхивали с гексаном (3 × 70 мл), кристаллы триэтиламмониевой соли отфильтровывали. Фильтрат упаривали досуха в вакууме и, перерасторив в минимальном количестве гексана, наносили на хроматографическую колонку, заполненную суспензией 30 г силикагеля в гексане. Элюировали градиентом эфира в гексане (до 20% эфира). Фракции, содержащие эпоксид (II), объединяли и упаривали в вакууме. Получали 5,40 г (71%) эпоксида (II) в виде бесцветного подвижного масла, R_f 0,58 (гексан — эфир, 1 : 1). Масс-спектр, электронный удар, m/z : 358 ($[M]^+$), 327 ($[M - MeO]^+$); химическая ионизация аммиаком, m/z : 376 ($[M + NH_3 + H]^+$); 359 ($[M + H]^+$). Для установления точного положения оксигранового цикла эпоксид (II) был превращен в вицинальный диол с сохранением сложноефирной группы. Полученное из него бистриметилсилильное производное анализировали масс-спектроскопически. Масс-спектр, электронный удар, m/z : 520 ($[M]^+$), 489 ($[M - OMe]^+$), 331 ($[M - MeOOC(CH_2)_2$.

* В скобках приведена предполагаемая структура иона.

-CHOTMS*]⁺), 291 ([M - Et(CH=CHCH₂)₅]⁺), 189 ([M - Et(CH=CHCH₂)₅CHOTMS]⁺). Спектр ПМР — см. таблицу.

полностью-цис-3,6,9,12,15-Октадекапентаеналь (III). К 500 мг (1,4 мкмоль) эпоксида (II), растворенного в 50 мл эфира, прибавляли при перемешивании раствор 270 мг (1,4 мкмоль) H₅IO₆ в 50 мл эфира. Реакционную смесь выдерживали при интенсивном перемешивании в течение 45 мин, затем промывали водой (2 × 50 мл), насыщенным раствором NaCl (50 мл), сушили над Na₂SO₄. Осушитель отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, перерастворяли в минимальном количестве гексана и наносили на хроматографическую колонку, заполненную суспензией 5 г силикагеля в гексане, элюировали смесью гексан — эфир (градиент эфира 0—5%). Фракции, содержащие альдегид (III), объединяли и упаривали. Получали 186 мг альдегида в виде бесцветного, резко пахнущего масла, R_f 0,9 (гексан — эфир, 1:1). Масс-спектр, электронный удар, m/z: 258 ([M]⁺), 229 ([M - Et]⁺), 215 ([M - OHCH₂]⁺), 202 ([M - EtCH=CH]⁺), 189 ([M - EtCH=CHCH₂]⁺); метоксим альдегида (III): 272 ([M - Me]⁺), 256 ([M - OMe]⁺). ИК-спектр (CCl₄), см⁻¹: 700, 1392, 1736, 2700, 3015. Спектр ПМР — см. таблицу.

полностью-цис-3,6,9,12,15-Октадекапентаеновая кислота (IV). К охлажденному до -70° С раствору 75 мг (0,29 мкмоль) в 15 мл ацетона прибавляли 85 мкл стандартного реактива Джонса [5], реакционной смеси позволяли нагреваться до 10° С, после чего прибавляли 30 мл гексана и 30 мл воды. Органический слой отделяли, промывали насыщенным раствором NaCl (50 мл), сушили над Na₂SO₄. Осушитель отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, перерастворяли в минимальном количестве гексана и наносили на хроматографическую колонку, заполненную суспензией 5 г силикагеля в гексане, элюировали градиентом эфира в гексане (до 5% эфира) с добавлением 0,5% уксусной кислоты. Фракции, содержащие кислоту (IV), объединяли и упаривали в вакууме. Получали 49 мг (61%) кислоты в виде бесцветного подвижного масла; R_f 0,49 (гексан — эфир, 1:1); ГЖХ: углеродное число (ECL) метилового эфира ODPА = 19,98. УФ-спектр: λ_{max} 205 нм. Масс-спектры, электронный удар, m/z: метиловый эфир ODPА: 288 ([M]⁺), 259 ([M - Et]⁺), 257 ([M - OMe]⁺); пирролид ODPА: 327 ([M]⁺), 298 ([M - Et]⁺), 258 ([M - EtCH=CHCH₂]⁺), 218 ([M - Et(CH=CHCH₂)₂]⁺), 178 ([M - Et(CH=CHCH₂)₃]⁺), 138 ([M - Et(CH=CHCH₂)₄]⁺), 98 ([M - Et(CH=CHCH₂)₅]⁺). Спектр ПМР — см. таблицу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Joseph J. D. // Lipids. 1975. V. 10. № 7. P. 395—403.
2. Christie W. W., Brechany E. Y., Stefanov K. // Chem. and Phys. Lipids. 1988. V. 46. P. 127—135.
3. Ackman R. G., Manzer A., Joseph J. // Chromatographia. 1974. V. 7. № 3. P. 107—114.
4. Napolitano G. E., Ratnayake W. M. N., Ackman R. G. // Phytochemistry. 1988. V. 27. № 6. P. 1751—1755.
5. Djerassi C., Eagle R. R., Bowers A. // J. Org. Chem. 1956. V. 21. P. 1547.

Поступила в редакцию
18.II.1991

D. V. KUKLEV, N. A. LATYSHEV*, V. V. BEZUGLOV
A SIMPLE SYNTHESIS OF
all-cis-3,6,9,12,15-OCTADECAPENTAENOIC ACID

M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR,
Moscow;
*Institute of Marine Biology, Far East Branch, Academy of Sciences of the USSR,
Vladivostok

A practical synthesis of *all-cis* 3,6,9,12,15-octadecapentaenoic acid (ODPA) from natural *all-cis* 4,7,10,14,16,19-docosahexaenoic acid (DHA) and spectral properties of this unusual fatty acid are described.

* TMS — —Si(CH₃)₃]