



УДК 547.295'78:541.515

## БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СТАБИЛЬНЫЕ РАДИКАЛЫ.

### III. СПИН-МЕЧЕННЫЕ ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ \*

*Жданов Р. И., Суханов В. А., Капитанова Н. Г.,  
Швец В. И., Евстигнеева Р. П., Розанцев Э. Г. \*\**

*Научно-исследовательский институт по биологическим испытаниям  
химических соединений, Куявля Московской области*

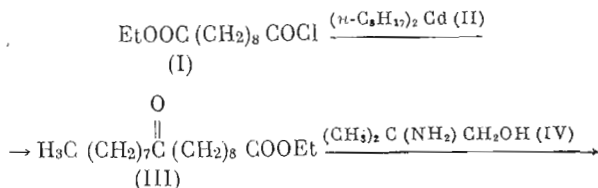
*Московский институт тонкой химической технологии  
им. М. В. Ломоносова*

Осуществлен химический синтез стеариновой и пальмитиновой кислот, спин-меченных по 10-му и 6-му положениям углеводородной цепи соответственно.

Спин-меченные жирные кислоты представляют собой важный класс спиновых меток и зондов [1]. С помощью парамагнитных моделей жирных кислот была получена уникальная информация о молекулярной организации модельных и биологических мембран [2, 3]. В отличие от жирных кислот, меченных путем превращения в сложные эфиры или амиды, несущие иминоксильную метку в спиртовом (или аминном) остатке [4, 5], жирные кислоты, содержащие N-оксилоксазолидиновый фрагмент в различных положениях углеводородной цепи, оказались более ценными для структурных исследований мембран [2, 6, 7].

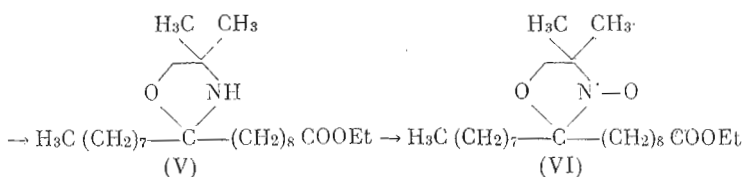
Мы синтезировали эфиры стеариновой и пальмитиновой кислот, спин-меченные по 10-му и 6-му положениям углеводородной цепи соответственно, для изучения вопросов, связанных с транспортом жирных кислот белками-переносчиками, со стабилизацией ими конформационных переходов в белках, а также для последующего синтеза на их основе спин-меченных липидов, необходимых при изучении белок-липидных взаимодействий.

Спин-меченный этиловый эфир стеариновой кислоты (VI) получали из эфира 10-кетостеариновой кислоты (III), синтезированной через кадмий-органическое соединение (II) и ω-карбалкоксияцилхлорид (I), по схеме [6, 7]:



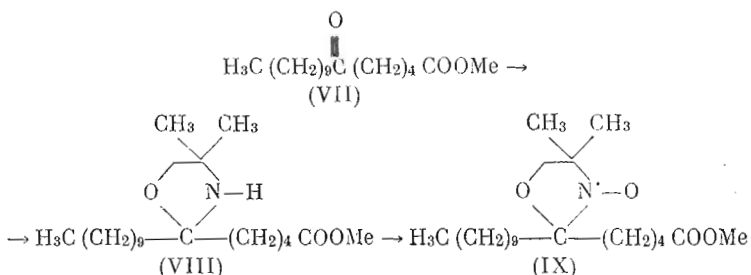
\* Сообщение II см. Докл. АН СССР (1975) 225, 1333.

\*\* Институт химической физики АН СССР.



Реакция хлорангидрида моноэтилового эфира себаценовой кислоты (I) [10] с диоктилкадмием (II) привела к образованию этилового эфира 10-кетостеариновой кислоты (III). Для создания оксазолидинового цикла последний вводили в конденсацию с 2-амино-2-метил-1-пропанолом (IV) в присутствии кислого катализатора в кипящем ксилоле с азеотропной отгонкой воды. Реакция достигает состояния равновесия через 4—6 сут. Продукт реакции неустойчив в присутствии таких сорбентов, как молекулярные сита, окись алюминия и силикагель. Оксазолидиновое производное стеариновой кислоты (V) удалось выделить в индивидуальном состоянии при помощи хроматографии под давлением на колонке с силикагелем. Для дальнейшего синтеза оксазолидин (V) на этой стадии не очищали, а окисляли сразу в радикал. В качестве окислителя использовали *n*-нитронадбензойную кислоту [8]. Эфир спин-меченой стеариновой кислоты (VI) выделяли препаративной тонкослойной хроматографией на силикагеле.

Метилловый эфир 6-кетогексадекановой кислоты (VII), необходимый для синтеза эфира спин-меченой пальмитиновой кислоты (IX), получали методом, описанным в работе [9]:



Его оксазолидиновое производное (VIII) синтезировали подобно соединению (V) и без выделения окисляли *n*-нитронадбензойной кислотой до метилового эфира спин-меченой кислоты (IX).

Строение полученных соединений подтверждено методами оптической и радиоспектроскопии. В ИК-спектрах эфиров кетокислот (III) и (VII) содержатся полосы валентных колебаний кетогруппы при  $1715 \text{ см}^{-1}$  и карбонила сложноэфирной группы при  $1740 \text{ см}^{-1}$ , в спектрах соединений (V), (VI) и (IX) — лишь карбонила сложноэфирной группы при  $1735 - 1840 \text{ см}^{-1}$ . Спектры ПМР эфиров кетокислот согласуются со структурами (III) и (VII). В спектре ПМР оксазолидинового производного (V) исчезает мультиплет при 2,2 м. д., характерный для спектров кетокислот ( $\text{CH}_2$ -группы в  $\alpha$ -положении к кетогруппе). Масс-спектры эфиров кетокислот (III) и (VII) и эфиров спин-меченой кислот (VI) и (IX) согласуются с предложенными для них структурами; все спектры содержат пики молекулярных ионов. Спектры ЭПР показали, что соединения (VI) и (IX) являются свободными радикалами, содержат  $(5,1 \pm 0,5) \cdot 10^{23}$  спин/моль и имеют константу сверхтонкой структуры  $14,2 \text{ Э}$ .

### Экспериментальная часть

ИК-спектры снимали на спектрометре «Perkin-Elmer-257» в вазелиновом масле или пленке; спектры ПМР регистрировали на приборе «Varian» HA-100D в  $\text{CCl}_4$  (внутренний стандарт ТМС); масс-спектры — на приборе «Hitachi» RMU6D (Япония) при энергии ионизирующих электронов

70 эВ и температуре ионизационной камеры 250—270°; спектры ЭПР — на спектрометре «Varian» E-12 в  $\text{CHCl}_3$ , константы СТС и число спинов на моль вещества определяли по сравнению со спектрами растворов чистого нитроксильного радикала в  $\text{CHCl}_3$  с концентрацией  $10^{-3}$  моль/л.

Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L100/160, ТСХ — на силикагеле 40/100 («Chemapol», ЧССР) в системах бензол — эфир, 4 : 1 (А), гексан — эфир, 7 : 3 (Б), бензол — эфир, 7 : 1 (В). Для обнаружения веществ пластинки опрыскивали концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и прокаливали при 300—400°.

*Этиловый эфир 10-кетоктоадекановой кислоты (III)*. К реактиву Гриньяра, приготовленному из 2,77 г магния и 19,3 г *n*-октилбромида в 100 мл эфира, охлажденному до 0°, добавляли 9,66 г сухого  $\text{CdCl}_2$ . Через 30 мин отгоняли эфир, добавляли 250 мл бензола и при интенсивном перемешивании в течение 10 мин раствор 19,8 г хлорангидрида моноэтилового эфира себадиновой кислоты (I) [10] в 50 мл бензола. Смесь кипятили 1 ч, охлаждали до 0° и добавляли 100 мл воды и избыток 0,1 н.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  до образования двух слоев. Бензольный слой отделяли, высушивали  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и отгоняли растворитель. После двух перекристаллизаций из пентана получали 22,1 г (82,0%) кетозэфира (III), т. пл. 37—38° (лит. т. пл. 41° [11]),  $R_f$  0,75 (система А). ИК-спектр ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1715 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1735 ( $\text{COOR}$ ). Спектр ПМР:  $\delta$ , м. д.: 0,88 [триплет, 3H ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$ ),  $J_{\text{CH}_3, \text{CH}_2}$  6,5 Гц]; 1,32 [мультиплет, 29H ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ ); (13 $\text{CH}_2$ )]; 2,14 [мультиплет, 4H ( $\text{CH}_2-\text{C}-\text{CH}_2$ ); 4,00 [квадруплет, 2H( $\text{OCH}_2$ ),  $J_{\text{CH}_2, \text{CH}_3}$  7 Гц].

||  
O

Найдено, %: С 73,27, Н 11,33;  $M$  323 (масс-спектр).  $\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{O}_3$ . Вычислено, %: С 73,51, Н 11,73;  $M$  323,54.

*Этиловый эфир октадекан-10-спиро-2'-(4,4'-диметилноксазолидин)-овой кислоты (V)*. Раствор 3,24 г кетозэфира (III), 22 мл 2-амино-2-метилпропан-1-ола (IV) и 0,038 г *n*-толуолсульфокислоты в 200 мл *o*-ксилола кипятили с азеотропной отгонкой воды 6 дней, промывали насыщенным водным  $\text{NaHCO}_3$  (3×100 мл) и водой (3×100 мл), высушивали  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали. Остаток, в котором, по данным ТСХ, содержится до 70% производного (V), использовали для дальнейшего синтеза без выделения. 1 г смеси подвергали хроматографии на силикагеле под давлением, хлороформом вымывали 0,2 г чистого эфира (V),  $R_f$  0,3 (система А), т. пл. 35—36°. ИК-спектр ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1735 ( $\text{COOR}$ ).

Найдено, %: С 72,15, Н 12,32, N 3,65.  $\text{C}_{24}\text{H}_{47}\text{O}_3\text{N}$ . Вычислено, %: С 72,50, Н 11,94, N 3,53.

*Этиловый эфир октадекан-10-спиро-2'-(N-оксил-4',4'-диметилноксазолидин)-овой кислоты (VI)*. К раствору 2,0 г неочищенного эфира (V) в 250 мл эфира приливали по каплям в течение 1 ч раствор 1,40 г (7,5 ммоль в пересчете на 100%-ное вещество) *n*-нитронадбензойной кислоты в 150 мл эфира и выдерживали смесь 48 ч при 20°. Эфирный раствор промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (4×50 мл), водой, сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель удаляли. Смесь разделяли с помощью препаративной ТСХ в системе Б, получали 0,8 г (39%) соединения (VI) в виде масла,  $R_f$  0,32 (система Б). ИК-спектр ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1735 ( $\text{COOR}$ ).

Найдено, %: С 69,93; Н 11,58, N 3,07;  $M$  412 (масс-спектр).  $\text{C}_{24}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{N}$ . Вычислено, %: С 69,86, Н 11,24, N 3,39;  $M$  412,54.

*Метилловый эфир 6-кетогексадекановой кислоты (VII)*. Смесь 6,5 г 6-кетогексадекановой кислоты с т. пл. 79—80° [9] и 2,47 г метанола в 50 мл толуола кипятили 4 ч в присутствии 0,2 г *n*-толуолсульфокислоты с азеотропной отгонкой воды. Затем реакционную массу промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$  (3×25 мл), водой, растворители отгоняли. Остаток перекристаллизовывали из 90%-ного этанола, выход 6,3 г (92%), т. пл. 46—47°,  $R_f$  0,5 (система Б). ИК-спектр ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1740 ( $\text{COOR}$ ), 1715 ( $\text{C}=\text{O}$ ). Спектр ПМР:  $\delta$ , м. д.: 0,85 [триплет, 3H( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ),  $J_{\text{CH}_3, \text{CH}_2}$  6,5 Гц]; 1,35

[мультиплет, 20H (10 CH<sub>2</sub>)]; 2,23 [мультиплет, 6H (CH<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CO)]-



3,56 [синглет, 3H (CH<sub>3</sub>O)].

Найдено, %: С 71,15, Н 11,27; *M* 281 (масс-спектр). С<sub>17</sub>Н<sub>32</sub>О<sub>3</sub>. Вычислено, %: С 71,78, Н 11,34; *M* 281,49.

*Метилловый эфир гексадекан-6-спиро-2'-(N-оксил-4',4'-диметилноксазолидин)-овой кислоты (IX)*. Оксазолидиновое производное (VIII) получали подобно соединению (VI) из 1,4 г эфира (VII), 10 мл аминокспирта (IV) в 120 мл *n*-ксилола в присутствии 0,02 г *n*-толуолсульфокислоты. Неочищенный продукт (VIII) окисляли и выделяли в индивидуальном состоянии вещество (IX) в виде масла по методике, использованной для соединения (VI). Выход 0,4 г (22%), *R<sub>f</sub>* 0,17 (система Б). ИК-спектр (см<sup>-1</sup>): 1740 (COOR).

Найдено, %: С 67,76, Н 11,02; *M* 370 (масс-спектр). С<sub>21</sub>Н<sub>40</sub>О<sub>4</sub>N. Вычислено, %: С 68,07, Н 10,88; *M* 370,56.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Длхтенштейн Г. И. (1974) Метод спиновых меток в молекулярной биологии, с. 195—236, «Наука», М.
2. Schreier-Muccillo S., Smith I. (1973) in Progress in Surface and Membrane Science (Danielli J. E., Rosenberg M. D., Cadenhead D. A., eds.), vol. 9, pp. 1—85.
3. Roubal W. T. (1972) in Progress in the Chemistry of Fast and other Lipids (Holman R. T., ed.), vol. XIII, pp. 61—87.
4. Koltover V. K., Rajchman L. M., Yasajtis A. A., Blumenfeld L. A. (1971) Biochem. et biophys. acta, 234, 306—310.
5. Hsia J. C., Schneider H., Smith I. C. P. (1970) Chem. Phys. Lipids, 4, 238—242.
6. Hubbell W., McConnell H. (1971) J. Amer. Chem. Soc., 93, 314—326.
7. Waggoner A. S., Kingzett T. J., Rottshaefer S., Griffith O. H. (1969) Chem. Phys. Lipids, 3, 245—249.
8. Vilkas M. (1958) Bull. soc. chim. France, 1401—1403.
9. Никитин Г. И., Сомов Г. В., Петров А. Д. (1961) Изв. АН СССР ОХН, 2065—2069.
10. Swann S., Ochler J. R., Buswell R. J. (1939) in Organic Synthesis (Swann S., ed.), vol. 19, pp. 45—47.
11. Baruch (1894) Ber., 27, 174—176.

Поступила в редакцию  
17.IX.1975

#### BIOLOGICALLY ACTIVE STABLE RADICALS. III. SPIN-LABELED FATTY ACIDS

ZHDANOV R. I., SUKHANOV V. A., KAPITANOVA N. G.,  
SHVETS V. I., EVSTIGNEEVA, R. P., ROZANTSEV E. G.

*Institute for Biological Testing of Chemical Compounds, Kupavna,  
M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow*

The derivatives of stearic and palmitic acids with spin-labels in positions 10 and 6 of hydrocarbon chain, respectively, have been chemically synthesized.