



УДК 547.426.2.057

1-АЛКИЛТИОАЛКИЛИРОВАНИЕ ГИДРОКСИЛЬНОЙ ГРУППЫ ДИЗАМЕЩЕННЫХ ГЛИЦЕРИНОВ КАК УДОБНЫЙ МЕТОД СИНТЕЗА МОДИФИЦИРОВАННЫХ ЛИПИДОВ АЛКИЛЬНОГО ТИПА

© 1995 г. И. Д. Константинова, С. Г. Завгородний*, А. И. Мирошников*,
И. П. Ушакова, Г. А. Серебренникова

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова;
Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

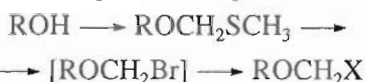
Поступила в редакцию 08.07.94 г.

В результате взаимодействия 1,2- или 1,3-дизамещенных глицеринов с диметилсульфоксидом, уксусным ангидридом и уксусной кислотой по модифицированной перегруппировке Пуммерера получены соответствующие 3-О- или 2-О-метилтиометильные производные. Последние обработкой бромом были переведены в соединения, содержащие О-бромметильные группы, которые легко взаимодействовали с различными нуклеофильными реагентами. На основе данных превращений синтезированы катионные липиды алкильного типа с различными заместителями.

Ключевые слова: алкилтиоалкилирование; липиды катионные.

Недавно появились сообщения о применении модифицированной перегруппировки Пуммерера для получения О-(1-алкилтиоалкильных) производных нуклеозидов [1]. Таким образом, например, обработка 5'-О-бензоил-2'-дезоксирибонуклеозидов смесью DMSO, уксусной кислоты и уксусного ангидрида позволила ввести метилтиометильную группу по 3'-гидроксилу нуклеозидов.

Авторами работы [1] было показано, что при взаимодействии этих производных нуклеозидов с бромом легко происходит их превращение в 3'-О-бромметилнуклеозиды, которые проявляют высокую реакционную способность по отношению к нуклеофильным реагентам различного типа.



X = F, N₃, CN, OCH₃, OCH₂CH=CH₂, OCH₂CH₂CN, OCH₂CH₂NH₂ и т.д.

R = 5'-О-бензоилдезоксирибонуклеозид.

Кроме того, метилтиометильную группу нуклеозидов можно легко окислить в сульфоновую или в сульфоксидную либо восстановить до метильной. Данная группировка также перспективна в качестве защитной, так как она легко удаляется при обработке метилиодидом или солями ртути и серебра [1].

В настоящем сообщении нами продемонстрирована возможность использования модифицированной перегруппировки Пуммерера в химии ли-

пидов путем введения метилтиометильной группы по первичной или вторичной гидроксильной группе дизамещенных глицеринов. Последующий перевод этих высокореакционноспособных веществ (несимметричные О,S-ацетали) в α-бромэфиры, способные легко взаимодействовать с нуклеофильными реагентами, открывает перспективы получения различных модифицированных липидов.

В частности, с использованием описанных превращений нами проведено получение катионных липидов алкильного типа. Известно, что подобные липиды проявляют широкий спектр биологической активности. Среди них выявлены антагонисты липидного биорегулятора – фактора активации тромбоцитов [2 - 5], они обнаруживают противоопухолевый эффект [6 - 8], анти-ВИЧ-активность [9].

Для введения метилтиометильной группы по первичному гидроксилу *rac*-1,2-диалкилглицеринов (Ia - в) последние вводили во взаимодействие со смесью уксусной кислоты, уксусного ангидрида и DMSO в соотношении 11 : 23 : 46 (по молям). Реакция протекала при 20°C в течение 72 ч, выходы соединений (IIa - в) колебались в пределах 49 - 69% (схема 1).

В синтезе катионных липидов (IV) и (V), содержащих положительно заряженные группировки на различном расстоянии от глицеринового скелета, полученный *rac*-1,2-диалкил-3-метилтиометилглицерин (IIв) переводили в соответствующий α-бромэфир (III). Последний без выделения вводили во взаимодействие с тозилатом холина

Адрес для переписки: 117571, Москва, пр. Вернадского, 86, МИТХТ, Константиновой И.Д.

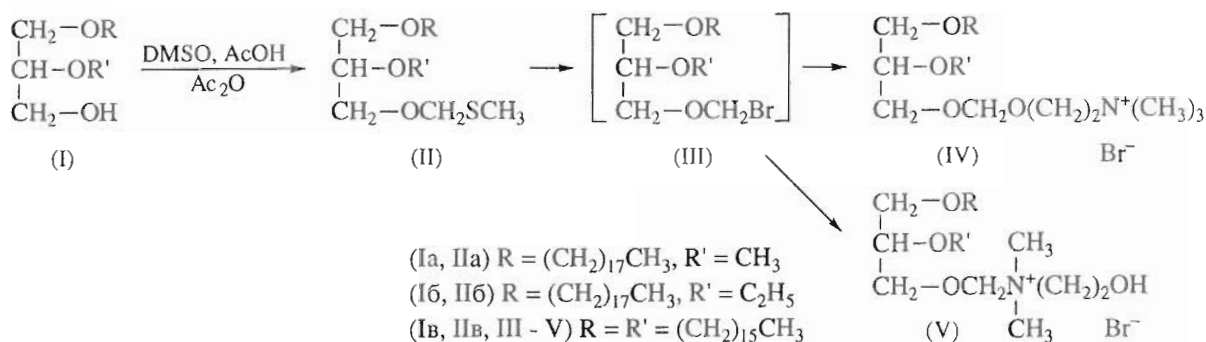


Схема 1.

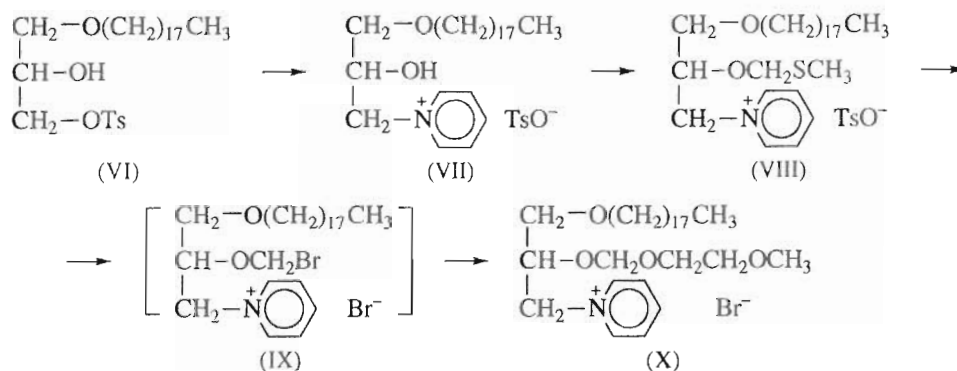


Схема 2.

или *N,N*-диметилаэаноламинои. Выходы липидов (IV) и (V) составили 96 и 76% соответственно.

Кроме того, нами реализован другой подход к синтезу катионных липидов, включающий введение метилтиометильной группы по C2-положению 1,3-дизамещенного глицерина, содержащего катионную группу (схема 2).

С этой целью *n*-толуолсульфонат *rac*-(1-октадецил-2-гидроксипропил)пиридиния (VII), полученный кватернизацией пиридина *rac*-1-октадецил-3-тозилглицерином (VI), вводили в реакцию с DMSO, уксусной кислотой и уксусным ангидридом в условиях, аналогичных получению соединений (IIa - в). Однако в этом случае выход производного (VIII) составил 20%, что, по-видимому, обусловлено как стерическими затруднениями при введении метилтиометильной группы в катионный липид (VII), так и нестабильностью исходного соединения в условиях реакции. Метилтиометильное производное (VIII) обработкой жидким бромом переводили в α -бромэфир (IX), который без выделения вводили во взаимодействие с 2-метоксиэтанолом с целью введения по C2-положению соединения (IX) 2-метоксиэтилоксигруппы. Выход катионного липида (X) составил 65% в пересчете на исходное соединение (VIII).

Индивидуальность и строение всех синтезированных соединений подтверждены данными ТСХ, ИК- и ¹H-ЯМР-спектров и масс-спектрометрии.

Таким образом, нами показано, что метилтиометильные производные замещенного глицерина могут быть успешно использованы для синтеза катионных липидов алкильного типа с различным набором заместителей. Данный метод, по-видимому, может быть распространен для получения модифицированных липидов другой структуры.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали реактивы отечественного производства. DMSO очищали перегонкой в вакууме (1 - 2 гПа). Сухой Br₂ (жидкий) получали перегонкой в присутствии конц. H₂SO₄.

ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254 (Kavalier, ЧСФР) в системах гексан-эфир, 4 : 1 (А), толуол-эфир, 1 : 1 (Б), хлороформ-метанол, 4 : 1 (В), хлороформ-метанол-вода, 65 : 25 : 4 (Г). Соотношения растворителей объемные.

Хроматографирование веществ проводили на силикагеле L 100/160 мкм (Chemapol, ЧСФР). Температуры плавления определяли на приборе Bohetius (ГДР). Вещества высушивали над P₂O₅ в вакууме (1 - 2 гПа) не менее 8 ч при 20°C.

ИК-спектры снимали на спектрофотометре Shimadzu IR-435 (Япония) в виде пасты в вазелиновом масле для кристаллических веществ и в тонкой пленке - для легкоплавких (приведены ν , см⁻¹). Спектры ¹H-ЯМР регистрировали на импульсном фурье-спектрометре Bruker WM-500 (ФРГ) с рабочей

частотой 500 МГц в дейтерохлороформе для нейтральных липидов и в смеси дейтерохлороформ-дейтерометанол (1 : 1) для катионных липидов. Приведены значения химических сдвигов (δ , м. д.; внутренний стандарт – SiMe_4) и КССВ (J , Гц). Масс-спектры сняты на времяпролетном масс-спектрометре МСБХ (г. Сумы, Украина) с ионизацией осколками деления калифорния-252. Ускоряющее напряжение ± 5 или ± 20 кВ.

rac-1-Октадецил-2-метил-3-метилтиометилглицерин (IIa). К раствору 0.66 г (1.84 ммоль) *rac*-1-октадецил-2-метилглицерина (Ia) [10] в 3 мл безводного бензола добавляли последовательно 5.8 мл (81.7 ммоль) DMSO, 1.2 мл (20.9 ммоль) уксусной кислоты и 4.0 мл (42.4 ммоль) уксусного ангидрида. Выдерживали 72 ч при 20°C. Реакционную массу осторожно выливали в раствор 5.6 г Na_2CO_3 в 50 мл воды, перемешивали до нейтральной реакции, вещество экстрагировали хлороформом (3 \times 25 мл). Объединенный экстракт промывали водой (3 \times 80 мл), сушили Na_2SO_4 , упаривали в вакууме (3 гПа). Остаток хроматографировали, элюируя вещество смесью гексан-эфир (96 : 4). Выход 0.47 г (61%). R_f 0.77 (Б). Масс-спектр (m/z): 418.5 [M]⁺, 371.1 [M -SCH₃]⁺. ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (3H, т, J 6.9, CH₂CH₃), 1.25 (30H, уш. с, (CH₂)₁₅), 1.55 (2H, уш. квинт., OCH₂CH₂), 2.13 (3H, с, SCH₃), 3.42 (2H, т, J 6.8, OCH₂CH₂), 3.46 (3H, с, OCH₃), 3.47 - 3.56 (3H, м, CH-OCH₃, CH₂OC₁₈H₃₇), 3.58 (1H, дд, J 4.5, 10.0, CH₂OCH₂S), 3.68 (1H, дд, J 3.8, 10.0, CH₂OCH₂S), 4.65 (2H, с, OCH₂S).

rac-1-Октадецил-2-этил-3-метилтиометилглицерин (IIб) синтезировали в условиях предыдущего опыта, исходя из 0.93 г (2.51 ммоль) *rac*-1-октадецил-2-этилглицерина (Iб) [10], 8.3 мл (0.12 моль) DMSO, 1.6 мл (0.03 моль) уксусной кислоты и 5.4 мл (0.06 моль) уксусного ангидрида. Выход 0.54 г (49%). R_f 0.86 (Б). Масс-спектр (m/z): 432.1 [M]⁺, 385.4 [M -SCH₃]⁺. ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (3H, т, J 7.0, (CH₂)₁₅CH₃), 1.18 (3H, т, J 7.1, OCH₂CH₃), 1.24 (30H, уш. с, (CH₂)₁₅), 1.53 (2H, уш. квинт., OCH₂CH₂), 2.12 (3H, с, SCH₃), 3.43 (2H, т, J 6.9, OCH₂CH₂), 3.48 (2H, дд, J 5.2, 2.0, CH₂OC₁₈H₃₇), 3.53 - 3.67 (5H, м, CHOC₂H₅, CH₂OCH₂S, OCH₂CH₃), 4.64 (1H, д, J 11.7, OCH₂S), 4.66 (1H, д, J 11.7, OCH₂S).

rac-1,2-Дигексадецил-3-метилтиометилглицерин (IIв) получали взаимодействием 0.95 г (1.76 ммоль) *rac*-1,2-дигексадецилглицерина (Iв) [11] с 5.8 мл (0.08 моль) DMSO, 1.14 мл (0.02 моль) уксусной кислоты и 3.75 мл (0.04 моль) уксусного ангидрида в условиях синтеза соединений (IIa, IIб). Выход 0.73 г (69%). R_f 0.71 (А). Масс-спектр (m/z): 601.1 [M]⁺. ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (6H, т, J 6.0, (CH₂)₁₅CH₃), 1.25 (30H, уш. с, (CH₂)₁₅), 1.55 (2H, уш. квинт., OCH₂CH₂), 2.35 (3H, с, C₆H₄CH₃), 3.45 (2H, т, OCH₂CH₂), 3.6 - 4.3 (3H, м, CH₂OC₁₈H₃₇, CHOH), 4.59 (1H, дд, J 7.5, 13.5, CH₂N⁺), 4.87 (1H, дд, J 3.5,

(5H, м, CH₂OC₁₆H₃₃, CHOCN₂, CH₂OCH₂S), 4.67 (2H, с, OCH₂S).

rac-[2-(2,3-Дигексадецилоксипропилоксиметил-окси)этил]триметиламмонийбромид (IV). К 0.73 г (1.22 ммоль) метилтиометильного производного (IIв) и 0.52 г (1.89 ммоль) тозилата холина в 7 мл безводного DMF в присутствии 0.31 мл (2.68 ммоль) 2,6-лутидина добавляли 0.08 мл (1.55 ммоль) безводного брома. Реакционную массу выдерживали 15 мин при 20°C, упаривали в вакууме (3 гПа). Вещество хроматографировали, элюируя смесью хлороформ-метанол (90 : 10). Выход 0.87 г (97%). Т. пл. 89.5 - 90.5°C. R_f 0.55 (В). Масс-спектр (m/z): 657.4 [M]⁺, 643.5 [M -CH₃ + H]⁺. ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (6H, т, J 6.7, 2CH₂CH₃), 1.26 (52H, уш. с, 2(CH₂)₁₃), 1.52 (4H, уш. квинт., 2 OCH₂CH₂), 2.96 (9H, с, N⁺(CH₃)₃), 3.31 (4H, т, J 6.6, 2OCH₂CH₂), 3.47 (2H, д, J 5.0, CH₂OC₁₆H₃₃), 3.43 - 3.64 (5H, м, CHOC₁₆H₃₃, CH₂CH₂N⁺, CH₂N⁺), 3.73 (1H, дд, J 6.0, 10.0, CH₂OCH₂O), 3.83 (1H, дд, J 4.0, 10.0, CH₂OCH₂O), 4.58 (2H, с, OCH₂O).

rac-(1,2-Дигексадецилоксипропилоксиметил)(2-гидроксиэтил)диметиламмонийбромид (V). К 0.42 г (0.70 ммоль) метилтиометильного производного (IIв) в 2 мл безводного дихлорэтана добавляли 0.045 мл (0.84 ммоль) безводного брома. Реакционную смесь выдерживали 5 мин при 20°C, затем добавляли 0.35 мл (3.6 ммоль) безводного N,N-диметиламиноэтанола. Через 20 мин реакционную массу упаривали в вакууме (3 гПа). Остаток хроматографировали, элюируя целевое вещество смесью хлороформ-метанол (91 : 9). Выход 0.46 г (76%). Т. пл. 68.5 - 69.0°C. R_f 0.67 (В). Масс-спектр (m/z): 643.7 [M]⁺, 630.1 [M -CH₃ + H]⁺. ИК-спектр: 3300 (O-H), 2900 (C-H), 1465 (C-H), 1130, 1120, 1070 (C-O-C и C-OH), 718 ((CH₂)_x). ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (6H, т, 2CH₂CH₃), 1.24 (52H, уш. с, 2(CH₂)₁₃), 1.52 (4H, уш. квинт., 2 OCH₂CH₂), 3.31 (6H, с, N⁺(CH₃)₂), 3.33 (8H, м, 2 OCH₂CH₂, CH₂OC₁₆H₃₃, CH₂OH), 3.64 - 3.80 (2H, м, N⁺CH₂CH₂), 3.89 - 4.25 (3H, м, CH₂OCH₂N⁺, CHOC₁₆H₃₃), 4.95 (2H, дд, OCH₂N⁺).

rac-(2-Гидрокси-3-октадецилоксипропил)пиридиний-*n*-толуолсульфонат (VII). Раствор 2.06 г (4.13 ммоль) *rac*-1-октадецил-3-тозилглицерина (VI) [12] в 15 мл безводного пиридина нагревали 4 ч при 110°C. Затем пиридин удаляли в вакууме (3 гПа) с 25 мл толуола, вещество высушивали в вакууме (6 ч, 40°C). Соединение (VII) очищали перекристаллизацией из эфира. Выход 2.33 г (98%). Т. пл. 102 - 103°C. R_f 0.46 (Г). Масс-спектр (m/z): 406.6 [M]⁺. ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (3H, т, J 6.0, (CH₂)₁₅CH₃), 1.25 (30H, уш. с, (CH₂)₁₅), 1.55 (2H, уш. квинт., OCH₂CH₂), 2.35 (3H, с, C₆H₄CH₃), 3.45 (2H, т, OCH₂CH₂), 3.6 - 4.3 (3H, м, CH₂OC₁₈H₃₇, CHOH), 4.59 (1H, дд, J 7.5, 13.5, CH₂N⁺), 4.87 (1H, дд, J 3.5,

13.5, CH_2N^+), 7.38 (2H, м) и 7.48 (2H, м, $\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$), 8.01 (2H, м), 8.46 (1H, м) и 8.90 (2H, м, $\text{N}^+\text{C}_5\text{H}_5$).
Найдено, %: С 68.63; Н 9.58; N 2.32. $\text{C}_{33}\text{H}_{55}\text{O}_5\text{N}_5$.
Вычислено, %: С 68.59; Н 9.59; N 2.42.

гас-(2-Метилтиометилокси-3-октадецил-оксипропил)пиридиний-*n*-толуолсульфонат (VIII). К раствору 1.14 г (2.0 ммоль) соединения (VII) в 6 мл безводного бензола добавляли последовательно 6.60 мл (0.09 моль) DMSO, 1.27 мл (0.02 моль) уксусной кислоты и 4.28 мл (0.04 моль) уксусного ангидрида. Далее синтез и выделение целевого соединения проводили аналогично получению продукта (IIa). Выход 0.26 г (20%). R_f 0.75 (B). Масс-спектр (m/z): 466.6 [M]⁺, 407.1 [$M-\text{CH}_2\text{SCH}_3$]⁺. ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (3H, т, J 7.0, $(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$), 1.25 (30H, уш. с, $(\text{CH}_2)_{15}$), 1.55 (2H, уш. квинт., OCH_2CH_2), 1.78 (3H, с, SCH_3), 2.33 (3H, с, $\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$), 3.44 (2H, т, J 8.6, OCH_2CH_2), 3.52 - 3.62 (2H, м, $\text{CH}_2\text{OC}_{18}\text{H}_{37}$), 4.23 (1H, м, CHOCH_2S), 4.59 (2H, с, OCH_2S), 4.63 (1H, дд, J 8.6, 13.8, CH_2N^+), 4.90 (1H, дд, J 3.5, 13.8, CH_2N^+), 7.39 (2H, м) и 7.49 (2H, м, $\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_3$), 8.06 (2H, м), 8.56 (1H, м) и 9.01 (2H, м, $\text{N}^+\text{C}_5\text{H}_5$).

гас-[2-(2-Метоксиэтилоксиметилокси)-3-октадецилпропил]пиридинийбромид (X) синтезировали аналогично соединению (IV) из 0.24 г (0.37 ммоль) метилтиометильного производного (VIII), 0.924 мл (0.46 ммоль) безводного брома и 0.1 мл (1.27 ммоль) 2-метоксиэтанола. Выход 0.14 г (65%). R_f 0.68 (B). Масс-спектр (m/z): 494.9 [M]⁺, 478.5 [$M-\text{CH}_3$]⁺. ¹H-ЯМР-спектр: 0.86 (3H, т, $(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3$), 1.22 (30H, уш. с, $(\text{CH}_2)_{15}$), 1.55 (2H, уш. квинт., OCH_2CH_2), 3.31 (3H, с, OCH_3), 3.35 - 3.70 (9H,

м, OCH_2CH_2 , $\text{CH}_2\text{OC}_{18}\text{H}_{37}$, CHOCH_2O , $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.57 (2H, с, OCH_2O), 4.60 - 4.77 (2H, м, CH_2N^+), 8.10 (2H, м), 8.60 (1H, м) и 8.97 (2H, м, $\text{N}^+\text{C}_5\text{H}_5$).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zavgorodny S., Polianski M., Besidsky E., Kriukov V., Sanin A., Pokrovskaya M., Gurskaya G., Lonnerberg H., Azhaye A. // *Tetrahedron Lett.* 1991. V. 32. № 51. P. 7593 - 7596.
2. Takatani M., Yoshioka Y., Tasaka A., Terashita Z., Imura Y. // *J. Med. Chem.* 1989. V. 32. № 1. P. 56 - 64.
3. Heymans F., Borrel M.-C., Braquet C., Lefort J., Godfroid J.J. // *J. Med. Chem.* 1985. V. 28. № 8. P. 1094 - 1096.
4. Godfroid J.J., Heymans F. // *Progress in Biochemical Pharmacology Biologically Active Lipids* / Ed. Braquet P. Basel: Karger, 1988. V. 22. P. 25 - 34.
5. Braquet P., Godfroid J.J. // *Platelet Activating Factor and Related Lipid Mediators* / Ed. Snyder F. N.Y.: Plenum Press, 1987. P. 191 - 235.
6. Morris-Natschke S.L., Meyer K.L., Marasco C.J., Piantadosi C., Rossi F., Godwin P.L., Modest E.J. // *J. Med. Chem.* 1990. V. 33. № 6. P. 1812 - 1818.
7. Soodma J.F., Piantadosi C., Snyder F. // *Cancer Res.* 1970. V. 30. P. 309 - 311.
8. Morris-Natschke S.L., Gumus F., Marasco C.J., Meyer K.L., Marx M., Piantadosi C. // *J. Med. Chem.* 1993. V. 36. № 14. P. 2018 - 2025.
9. Kucera L.S., Iyer N., Leake E., Raben A., Modest E.J., Daniel L.W., Piantadosi C. // *AIDS Res. and Hum. Retroviruses.* 1990. V. 6. № 4. P. 491 - 501.
10. Marasco C.J., Piantadosi C., Meyer K.L., Morris-Natschke S.L., Ishaq K.S., Small G.W., Daniel L.W. // *J. Med. Chem.* 1990. V. 33. № 3. P. 985 - 992.
11. Аникин М.В., Ушакова И.П., Серебренникова Г.А., Евстигнеева Р.П. // *Деп. в ОНИИТЭХим* № 915 - ХП87.7.
12. Чувилин А.Н., Трусов В.Т., Серебренникова Г.А. // *Биоорган. химия.* 1992. Т. 18. № 6. С. 862 - 870.

1-Alkylthioalkylation of the Hydroxyl Functions of Disubstituted Glycerols as a Convenient Method for the Preparation of Modified Ether Lipids

I. D. Konstantinova^{*1}, S. G. Zavgorodny^{**}, A. I. Miroshnikov^{**},
I. P. Ushakova^{*}, and G. A. Serebrennikova^{*}

^{*} Lomonosov Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

^{**} Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya, 16/10, Moscow, 117871 Russia

Abstract - 1,2- or 1,3-disubstituted glycerols were treated with dimethylsulfoxide, acetic acid and acetic anhydride to yield corresponding 3-O- or 2-O-methylthiomethyl derivatives via the modified Pummerer's rearrangement. Subsequent treating with bromine led to O-bromomethyl derivatives, which interacted readily with nucleophiles. This approach was used to synthesize a number of cationic lipids.

Key words: alkylthioalkylation, lipids cationic.

¹ To whom correspondence should be addressed.