



УДК 541.632;547.593

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ПРОИЗВОДНЫХ АСИММЕТРИЧНО ЗАМЕЩЕННОГО МИОИНОЗИТА

ХV. СИНТЕЗ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДИФОСФОИНОЗИТИДОВ

Садовникова М. С., Ш ец В. И., Евстигнеев Р. П.

Институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова, Москва

Осуществлены полные химические синтезы оптически активного 4-фосфата фосфатидинозита — дифосфоинозитида природной структуры и его диастереомерного производного с фосфатидильной группой в 3-положении, фосфатной — в 6-положении.

Важнейшими компонентами мембран растительных и животных источников, особенно нервных тканей, являются фосфоинозитиды [1]. Биологическая роль этих липидов окончательно не выяснена, хотя признается их несомненное участие в процессах мембранной проницаемости, переноса нервных импульсов и ряде других, причем полифосфоинозитидам в этих процессах отводится особая роль. Все это стимулирует интенсивное исследование вопросов биохимии фосфоинозитидов. Такие работы в значительной степени тормозятся малой доступностью образцов инозитфосфатидов определенной структуры. В настоящее время наиболее реальным путем получения данных фосфолипидов следует считать химический синтез. Известны синтезы только насыщенных и ненасыщенных фосфатидинозитов [2—4]; остальные инозитфосфатиды — ди-, три- и маннофосфоинозитиды пока не получены из-за отсутствия методов синтеза оптически активных производных миоинозита нужного строения.

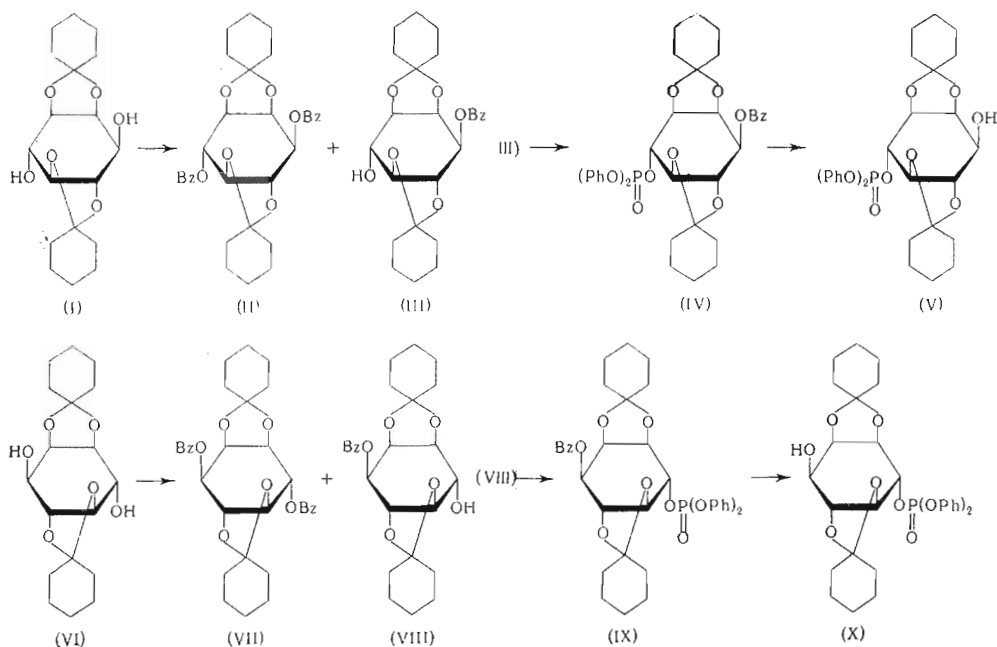
В данной статье сообщаются результаты полного химического синтеза оптически активных дифосфоинозитидов, в том числе природной структуры [1]. До сих пор все известные работы в этом направлении завершались приготовлением дифосфоинозитидов только в виде смесей диастереомеров [5, 6]. Получение индивидуальных диастереомеров дифосфоинозитидов ограничено трудностью деления 1(3),2:4(6),5-ди-О-циклогексалиден-*sn*-миоинозита* на антиподы [7], на основе которых в настоящее время наиболее удобен синтез оптически активных дифосфоинозитидов. Недавно нами получены 1,2:4,5- и 2,3:5,6-ди-О-циклогексалиден-*sn*-миоинозиты исходя из 3,4,5,6- и 1,4,5,6-тетра-О-бензил-*sn*-миоинозитов [8], что сделало реальным синтез оптически активных дифосфоинозитидов.

В более ранних синтезах дифосфоинозитидов в виде смесей диастереомеров [5, 6] использовали различную реакционную способность 3(1)- и 6(4)-гидроксильных групп 1(3),2:4(6),5-ди-О-циклогексалиден-*sn*-миоино-

* Для оптически активных и рацемических асимметрично замещенных производных миоинозита использовали стереоспецифическую номенклатуру [9, 10], для производных глицирина — систему, предложенную комиссией IUPAC — IUB [11, 12].

зита, что дало возможность сначала ввести фосфатную группировку в 4(6)-положение, а затем фосфатидильную — в 1(3). Этот же принцип нами применен к 2,3:5,6- и 1,2:4,5-ди-О-циклогексилиден-*sn*-миоинозитам (I) и (VI) при получении оптически активных дифосфоинозитидов (XIII) и (XV).

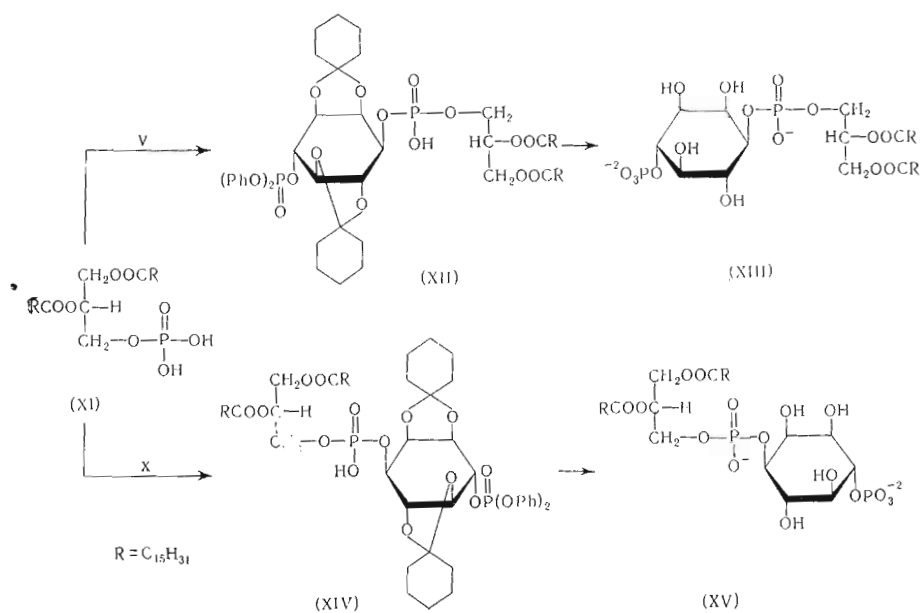
2,3:5,6-Ди-О-циклогексилиден-*sn*-миоинозит (I) бензоилировали при действии бензоилхлорида в пиридине при 18—20°. При этом образовалось монобензойльное производное (II) (выход 49,2%) и дибензоат (III) (выход 23,5%). Соединения (II) и (III) были разделены с помощью адсорбционной хроматографии на силикагеле. Монобензоат (II) переводили с выходом 83,4% в фосфат (IV) с помощью фосфорилирования дифенилхлорфосфатом в пиридине при 70°. Последний действием гидразин-гидрата в кипящем спирте давал с выходом 81,5% производное (V), которое является одним из основных исходных веществ при синтезе оптически активного дифосфоинозитида природной структуры.



Аналогичные превращения с получением соединений (VII)—(X) были проведены с 1,2:4,5-ди-О-циклогексилиден-*sn*-миоинозитом (VI). Строение производных (II) и (VII), (III) и (VIII), (IV) и (IX), (V) и (X) установили сравнением их хроматографических и спектральных характеристик с подобными данными соответствующих рацемических соединений [13]. Соединения (II) и (VII), (III) и (VIII), (IV) и (IX), (V) и (X) являются соответственно антиподами, что подтверждено с помощью кривых ДОВ (рис. 1).

В пользу этого говорят и температуры плавления смешанных проб указанных энантиомеров, которые в каждом случае идентичны температурам плавления соответствующих рацемических производных (см. таблицу).

Для введения фосфатидильной группы в молекулу соединения (V) при создании структуры дифосфоинозитида природного типа (XII) использовали метод активированных фосфатов, ранее удачно примененный нами при синтезе рацемических и оптически активных фосфатидилинозитов и дифосфоинозитидов в виде смеси диастереомеров [5].



Взаимодействие гидроксильного производного (V) и фосфатидной кислоты (XI) [14] проходило в пиридине в присутствии мезитилсульфохлорида. Защищенный дифосфоинозитид (XII) выделяли из реакционной

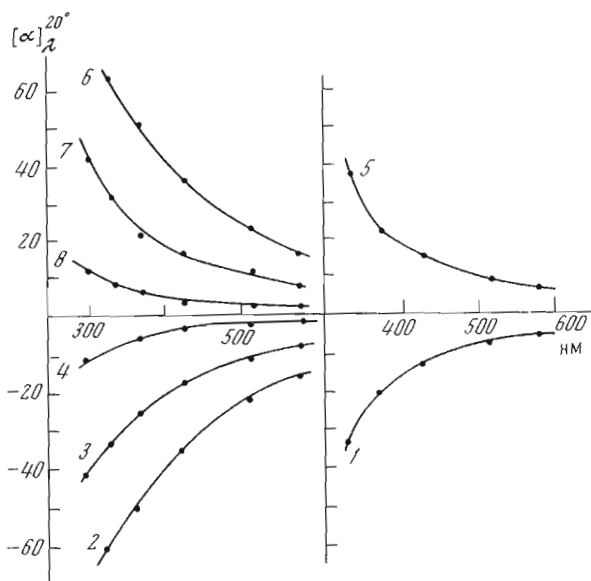


Рис. 1. Кривые ДОВ: 1 и 5 – дибензойные производные (II) и (VII); 2 и 6 – монобензоаты (III) и (VIII); 3 и 7 – соединения (IV) и (IX); 4 и 8 – фосфаты (X) и (V)

массы хроматографией на силикагеле (выход 85,6%). Фенильные группы соединения (XII) удаляли гидрогенолизом, образующийся при этом кислый фосфат способствовал гидролизу циклогексидиленовых группировок. Дифосфоинозитид (XIII) выделяли в виде аммонийной соли, стабильной

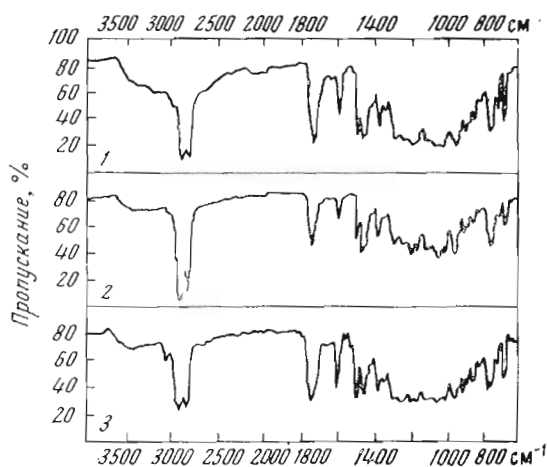


Рис. 2. ИК-спектры. Защищенные дифосфонозитиды: 1 — оптически активный дифосфонозитид природного строения (XII); 2 — неприродный диастереомер (XIV); 3 — диастереомерная смесь [5]

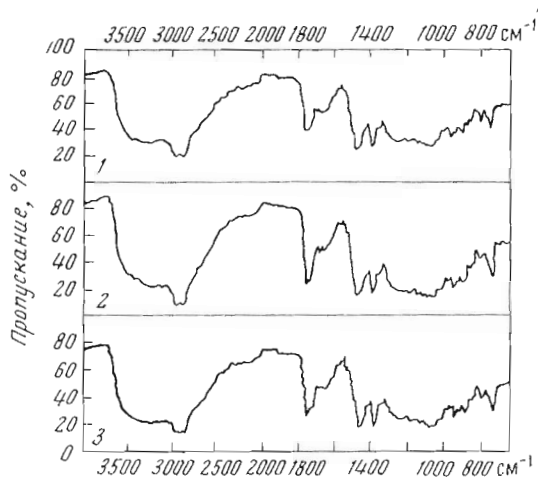


Рис. 3. ИК-спектры. Аммонийные соли дифосфонозитидов: 1 — оптически активный дифосфонозитид природного строения (XIII); 2 — неприродный диастереомер (XV); 3 — диастереомерная смесь [5]

формы фосфатных производных миоинозита [15]. Аналогичным образом на основе фосфата (X) получена вторая диастереомерная форма дифосфонозитида (XV).

Строение соединений (XII), (XIV) и (XIII), (XV) установили сравнением их хроматографических характеристик и ИК-спектров с подобными данными аналогичных диастереомерных смесей [5] (рис. 2, 3).

Производные (XII), (XIV) и (XIII), (XV) и указанные диастереомерные смеси имели различные температуры плавления (см. таблицу). Кроме того, отличались между собой и температуры плавления соединений (XII) и (XIV), (XIII) и (XV), что указывает на их диастереомерный характер. ТСХ образцов дифосфонозитидов (XIII), (XV) и синтетического фосфатидилинозита с остатками пальмитиновой кислоты [2] полностью

повторила картину, известную для природных моно- и дифосфоинозитидов [17]. Кривые ДОВ дифосфоинозида (XIII) и его диастереомера (XV) сравнимы с кривыми ДОВ подобных диастереомерных производных фосфатидилинозита [3] (рис. 4).

Экспериментальная часть

ИК-спектры снимали на приборе «Perkin — Elmer», модель 257, в вазелиновом масле. Кривые ДОВ и $[\alpha]_D^{20}$ измеряли на спектрополяриметрах СПУ-М и JASCO — ORD/UV-5 (растворители и концентрации указаны в каждом конкретном случае). Колоночную хроматографию и ТСХ веществ проводили на силикагеле Л. Для ТСХ использовали следующие системы: петролейный эфир (здесь и далее т. кип. 40–60°) — эфир, 1 : 2 (А), хлороформ — метиловый спирт — ацетон, 40 : 5 : 5 (Б), хлороформ — метиловый спирт — 4 N NH₄OH, 9 : 7 : 2 (В). Для обнаружения веществ на пластинках их опрыскивали H₂SO₄ (уд. вес 1,84) или реактивом на фосфорсодержащие соединения [18] с последующим прокаливанием при 300–400°.

1-О-Бензоил-2,3:5,6-ди-О-циклогексиден-сп-миоинозит (III) и 1,4-ди-О-бензоил-2,3:5,6-ди-О-циклогексиден-сп-миоинозит (II). К 0,67 г 2,3:5,6-ди-О-циклогексиден-сп-миоинозита (I) (т. пл. 164–166°, $[\alpha]_D^{20} +5,5^\circ$) [8] в 10 мл пиридина добавляли за 4 ч 0,27 мл хлористого бензоила. Смесь интенсивно перемешивали в течение 35 ч при 18–20°. Реакционную массу выливали в воду (15 мл) и вещество извлекали хлороформом (2×25 мл). Экстракт промывали 10% -ным раствором NaHSO₃ (2×5 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (2×5 мл) и сушили MgSO₄. Хлороформ упаривали, остаток хроматографировали на силикагеле. Бензолом элюировали 1,4-ди-О-бензоил-2,3:5,6-ди-О-циклогексиден-сп-миоинозит (II). Выход 0,21 г [23,5% на прореагировавшее вещество (I)], т. пл. 266–268° (спирт); $[\alpha]_D^{20} -6,2^\circ$ (С 1,13, хлороформ), *R_f* 0,63 (А); ИК-спектр (см⁻¹): 3100, 3080, 3050, 1610, 1590, 1500 (=СН, С=С бензольных колец), 1730 (С=О в бензоатах), 1075, 1050, 1030, 1010, 1000 (С—О—С). Найдено, %: С 69,95; Н 6,43. С₃₂Н₃₆О₈. Вычислено, %: С 70,06; Н 6,61.

Смесью бензола и эфира (96 : 4) элюировали монобензойльное производное (III). Выход 0,32 г (49,2%) ; т. пл. 187–189° (спирт); $[\alpha]_D^{20} -16,1^\circ$ (С 2,5, хлороформ), *R_f* 0,41 (А); ИК-спектр (см⁻¹): 3450 (ОН), 3110, 3080, 3050, 1610, 1590, 1500 (=СН, С=С бензольных колец), 1730 (С=О в бензоатах), 1090, 1075, 1065, 1050, 1035, 1010, 1000 (С—О—С). Найдено, %: С 67,53; Н 7,18. С₂₃Н₃₂О₇. Вычислено, %: С 67,56; Н 7,22.

Аналогичным образом из 1,2 : 4,5-ди-О-циклогексиден-сп-миоинозита (VI, т. пл. 165–167°, $[\alpha]_D^{20} -5,6^\circ$) [8] получали 3-О-бензоил-1,2 : 4,5-ди-О-циклогексиден-сп-миоинозит (VII) и 3,6-ди-О-бензоил-1,2 : 4,5-ди-О-циклогексиден-сп-миоинозит (VII). Выходы и константы последних приведены в таблице.

1-О-бензоил-2,3 : 5,6-ди-О-циклогексиден-4-О-дифенилфосфорил-сп-миоинозит (IV). К раствору 0,35 г соединения (III) в 7 мл пиридина при-

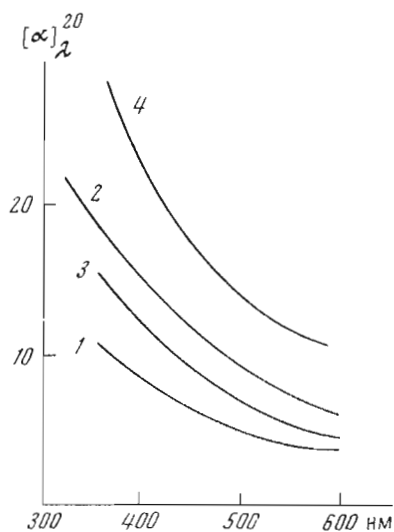


Рис. 4. Кривые ДОВ: 1 — оптически активный дифосфоинозитид природного строения (XIII); 2 — непродный диастереомер (XV); 3 — оптически активный фосфатидилинозит природного строения [3]; 4 — диастереомер фосфатидилинозита непродного строения [3]

Физико-химические свойства синтезированных соединений *

Соединения	Выход, %	Т. пл., °С	Т. пл. смешанной пробы, °С	Т. пл. рацемата, °С	$[\alpha]_D^{20}$, град (С, хлороформ)
(II)	23,5	266—268	260—261	261—262 [16]	-6,2 (1,13)
(VII)	8,5	267—269			+6,7 (0,58)
(III)	49,2	187—189	196—198	197—198 (13)	-16,1 (2,5)
(VIII)	34,8	186—188			+17,0 (2,1)
(IV)	83,4	192—194	187—188	187—188 [13]	-8,2 (1,46)
(IX)	82,0	193—194			+8,5 (0,61)
(V)	81,5	161—162	164—156	163—166 [13]	+2,1 (1,34)
(X)	80,1	161—162			-2,3 (0,54)
(XII)	85,6	90—93	—	105—107 ** [5]	+3,5 (1,48)
(XIV)	43,0	127—130	—	—	+4,5 (0,57)
(XIII)	69,6	151—154	—	175—176 ** [5]	+4,5 (0,63) ***
(XV)	74,4	174—177	—	—	+6,8 (0,3) ***

* Все антиподы, диастереомеры и соответствующие им рацематы и диастереомерные смеси имеют одинаковые хроматографические характеристики, идентичные ИК-спектры и близкие удовлетворительные анализы [анализы для одной группы антиподов] (II)–(V) и диастереомеров (XII), (XIII) сообщены в «Экспериментальной части».

** Температуры плавления диастереомерных смесей.

*** С, хлороформ — метиловый спирт, 2:1.

ливали 0,42 г дифенилхлорфосфата (т. кип. 147—148°/1,3 мм) [19]. Реакционную массу перемешивали 30 ч при 70°, после чего выливали в ледяную воду (20 мл). Осадок отделяли, промывали 20 мл воды и сушили. Выход 0,44 г (83,4%); т. пл. 192—194° (бензол); $[\alpha]_D^{20}$ -8,2° (С 1,46, хлороформ); R_f 0,53 (А); ИК-спектр (см⁻¹): 3100, 3080, 3050, 1600, 1490 (=СН, С=С бензольных колец), 1730 (С=О в бензоатах), 1220 (Р=О), 1090, 1065, 1040, 1030, 1020, 1000 (Р—О—С, С—О—С). Найдено, %: С 65,45; Н 6,05; Р 4,38. С₃₇Н₄₁О₁₀Р. Вычислено, %: С 65,60; Н 6,17; Р 4,58.

По подобной методике исходя из производного (VIII) синтезировали 3-О-бензоил-1, 2 : 4, 5-ди-О-циклогексилиден-6-О-дифенилфосфорил-*sn*-миоинозит (IX), выход и константы которого приведены в таблице.

2,3 : 5,6-ди-О-циклогексилиден-4-О-дифенилфосфорил-*sn*-миоинозит (V). 0,39 г вещества (IV) в 10 мл спирта перемешивали при кипении с 0,5 мл гидразин-гидрата до тех пор, пока реакционный раствор стал прозрачным, что свидетельствовало, согласно данным ТСХ в системе А, об окончании реакции. Растворитель упаривали, остаток кристаллизовали из спирта. Оставшееся в фильтрате производное (V) выделяли колоночной хроматографией на силикагеле, вымывая его смесью бензола и эфира (9 : 1). Общий выход 0,27 г (81,5%); т. пл. 161—162°; $[\alpha]_D^{20}$ +2,1° (С 1,34, хлороформ); R_f 0,23 (А). ИК-спектр (см⁻¹): 3510 (ОН), 3080, 3060, 1600, 1500 (=СН, С=С бензольных колец), 1220 (Р=О), 1070, 1050, 1040, 1030, 1015 (Р—О—С, С—О—С). Найдено, %: С 62,71; Н 6,32; Р 5,04. С₃₀Н₃₇О₉Р. Вычислено, %: С 62,46; Н 6,46; Р 5,39.

Из соединения (IX) по аналогичной методике получали 1,2: 4,5-ди-О-циклогексилиден-6-О-дифенилфосфорил-*sn*-миоинозит (X), выход и константы которого указаны в таблице.

1-О-(1,2-ди-О-пальмитоил-*sn*-глицерил-3-О-фосфорил)-2,3 : 5,6-ди-О-циклогексилиден-4-О-дифенилфосфорил-*sn*-миоинозит (XII). Раствор 0,26 г соединения (V) и 0,15 г мезитилсульфохлорида (т. пл. 55—56°) [20] в 10 мл пиридина перемешивали 30 мин при 18—20°. Затем добавляли 0,15 г фосфатидной кислоты (XI) (т. пл. 67—68°, $[\alpha]_D^{20}$ +4,5°) [14]. Смесь нагревали 1 мин до 60° для полного растворения фосфатидной кислоты (XI). Реакцию вели при 18—20° 4 ч, затем добавляли 4 мл хлороформа,

очищенного от спирта, и перемешивали 2,5 ч, после чего приливали 3 мл воды. Реакционную массу упаривали, вещество извлекали 10 мл эфира. Экстракт концентрировали, остаток хроматографировали на силикагеле. Производное (XII) вымывали смесью хлороформа и метилового спирта (96 : 4). Выход 0,24 г (85,6%); т. пл. 90—93° (деформируется при 83—85°); $[\alpha]_D^{20} + 3,5^\circ$ (*C* 1,48, хлороформ); R_f 0,34 (Б). ИК-спектр (см^{-1}): 3070, 1600, 1500 (=CH, C=C бензольных колец), 1745 (COOR), 1240 (P=O), 1060, 1015 (P—O—C, C—O—C). Найдено, %: C 64,65; H 8,51; P 4,81. $\text{C}_{63}\text{H}_{103}\text{O}_{16}\text{P}_2$. Вычислено, %: C 64,92; H 8,63; P 5,15.

На основе фосфатидной кислоты (XI) и соединения (X) по подобной методике синтезировали 3-О-(1,2-ди-О-пальмитоил-*sn*-глицерил-3-О-фосфорил)-1,2 : 4 : 5-ди-О-циклогексипилен-6-О-ди-фенилфосфорил-*sn*-миоинозит (XIV), выход и константы которого приведены в таблице, ИК-спектр — на рис. 2.

1-О-(1,2-ди-О-пальмитоил-*sn*-глицерил-3-О-фосфорил)-4-О-фосфорил-*sn*-миоинозит (XIII). Раствор 0,14 г вещества (XII) в 10 мл диоксана гидрировали в присутствии 0,08 г катализатора Адамса в течение 4 ч. Для гидролиза циклогексипиленовых групп реакционную смесь оставляли на 30 ч при 18—20°. По данным ТСХ (системы Б, В), удаление фенольных и циклогексипиленовых групп в этих условиях проходило полностью. Катализатор отделяли, промывали 10 мл диоксана. К объединенным фильтрам добавляли 4 н. NH_4OH до pH 7—8. Растворитель отгоняли, остаток растворяли в 3 мл хлороформа, добавляли ацетон до помутнения и оставляли на 18—20 ч при 0°. Осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили. Выход 0,076 г (60,6%), т. пл. 151—154° (деформируется при 145—148°); $[\alpha]_D^{20} + 4,5^\circ$ (*C* 0,63, хлороформ — метиловый спирт, 2 : 1); R_f 0,37 (В). ИК-спектр (см^{-1}): 3400 (ОН), 3220, 3060, 1420 (NH_4^+), 1750, 1735 (COOR), 1220 (P=O), 1110 (P—O⁻), 1065, 1020 (P—O—C, C—O—C). Найдено, %: C 52,03; H 9,38; N 4,27; P 6,31. $\text{C}_{44}\text{H}_{80}\text{N}_3\text{O}_{16}\text{P}_2$. Вычислено, %: C 52,27; H 9,52; N 4,46; P 6,58.

По аналогичному методу производное (XIV) превращали в 3-О-(1,2-ди-О-пальмитоил-*sn*-глицерил-3-О-фосфорил)-6-О-фосфорил-*sn*-миоинозит (XV). Константы и выход последнего приведены в таблице, ИК-спектр — на рис. 3.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кляцицкий Б. А., Соколов С. Д., Швец В. И. (1969) Успехи химии, 38, 740—758.
2. Кляцицкий Б. А., Желвакова Э. Г., Пименова В. В., Швец В. И., Евстигнеева Р. П., Преображенский Н. А. (1971). Ж. общ. химии, 41, 1386—1393.
3. Molotkovskii Ju. G., Bergelson L. D. (1973) Chem. and Phys. Lipids, 11, 135—147.
4. Лютик А. И., Суханов В. А., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. (1974) Ж. общ. химии, 44, 2595—2596.
5. Лютик А. И., Садовникова М. С., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. (1974) Ж. общ. химии, 44, 2573—2577.
6. Козлова С. П., Тарусова Н. Б., Преображенский Н. А. (1969) Ж. общ. химии, 39, 2463—2467.
7. Козлова С. П., Пекарская И. С., Кляцицкий Б. А., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. (1972). Ж. общ. химии, 42, 702—708.
8. Садовникова М. С., Кузнецова З. П., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. (1974) Ж. общ. химии, 44, 2593—2594.
9. Klyashchitskii B. A., Shvets V. I., Preobrazhenskii N. A. (1969) Chem. and Phys. Lipids, 3, 393—400.
10. Швец В. И., Евстигнеева Р. П. (1972) Ж. орган. химии, 8, 1550—1552.
11. (1967) Eur. J. Biochem., 2, 127—131.
12. (1968) Мол. биол., 2, 784—792.
13. Тарусова Н. Б., Грошева В. С., Козлова С. П., Теплинская Р. Б., Преображенский Н. А. (1968) Ж. органич. химии, 4, 967—972.
14. Каплун А. П., Кабанова М. А., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. (1973) Ж. общ. химии, 43, 1617—1619.
15. Швец В. И. (1974) Успехи химии, 43, 1093—1121.

16. Angyal S., Tate M., Gero S. (1961) *J. Chem. Soc.*, 4116-4122.
17. Дворкин В. Я., Киселев Г. В. (1969) *Биохимия*, 34, 1245-1249.
18. Dittmer J., Lester R. (1964) *J. Lipid Res.*, 5, 126-127.
19. Baer E. (1949) in *Biochem. Preps.* (Edited H. Carter), vol. 1, pp. 50-56, J. Wiley and Sons, Inc., N. Y.
20. Jacob T., Khorana H. (1964) *J. Amer. Chem. Soc.*, 86, 1630-1635.

Поступила в редакцию
26. VI. 1974

**DERIVATIVES OF ASYMMETRICALLY SUBSTITUTED MYOINOSITOL.
XV. THE SYNTHESIS OF OPTICALLY ACTIVE DIPHOSPHOINOSITIDES**

M. S. SADOVNIKOVA, V. I. SHVETS, R. P. EVSTIGNEEVA

Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow

The total chemical synthesis of natural diphosphoinositide phosphatidylinositol 4-phosphate and its diastereomer having phosphatidyl and phosphate groups in position 3 and 6 respectively has been carried out.
