



УДК 547.915.5 : 542.91

СИНТЕЗ ФОСФАТИДАЛЬЭТАНОЛАМИНА  
ПРИРОДНОЙ КОНФИГУРАЦИИ*Василенко И. А., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П.**Московский институт тонкой химической технологии  
{им. М. В. Ломоносова}*

Предложен метод синтеза фосфатидальэтанолamines, основанный на фосфорилировании 1-О-(алкен-1'-ил)-2-ацилглицеринов фталимидоэтилдихлорфосфатом. Обсуждаются условия фосфорилирования 1-О-(алкен-1'-ил)-2-ацилглицеринов и снятия фталильной защитной группы гидразинолизом в присутствии сложноэфирной группы. Изучены спектральные и оптические свойства синтезированных соединений.

Биологическая роль плазмалогенов и пути их биосинтеза и катаболизма до сих пор окончательно не выяснены. Это в значительной мере определяется малой доступностью природных и синтетических соединений как объектов для биофизических и биохимических исследований. Несмотря на определенный прогресс, достигнутый в разработке методов синтеза фосфорсодержащих плазмалогенов, все же синтез каждого соединения этого ряда представляет сложную и трудоемкую задачу. В связи с этим представляются целесообразными дальнейшие поиски рациональных путей синтеза данного класса липидов.

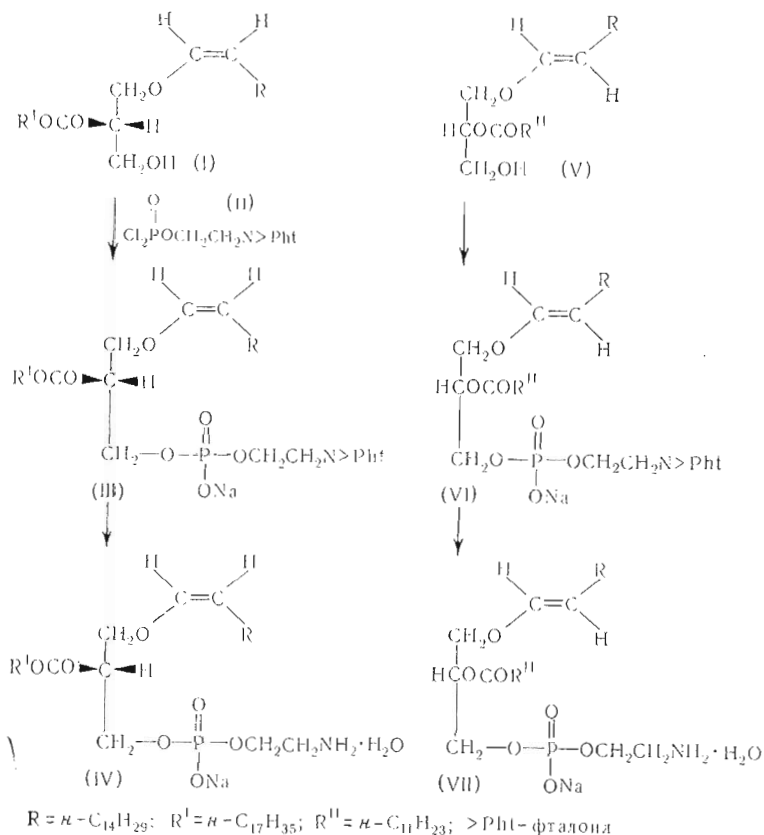
Ранее нами получены различные представители класса фосфорсодержащих плазмалогенов путем фосфорилирования 1-О-(алкен-1'-ил)-2-ацил-3-галоид-3-дезоксиглицеринов серебряными солями замещенных фосфорных кислот [1]. Разработанный нами в последнее время препаративный метод синтеза 1-О-(алкен-1'-ил)-2-ацилглицеринов, «плазмалогенных диглицеридов» [2], открывает перспективы применения других методов фосфорилирования в ряду альдегидогенных соединений, широко используемых в синтезе фосфолипидов со сложноэфирной связью и основанных на использовании замещенных хлорфосфатов или фосфатов в присутствии активирующих агентов.

Принципиальная возможность использования замещенных хлорфосфатов для фосфорилирования альдегидогенных соединений продемонстрирована в данной работе на примере синтеза одного из основных представителей альдегидогенных фосфолипидов — фосфатидальэтанолamina.

Ранее нами [1] при синтезе стереоизомерной смеси рацемического фосфатидальэтанолamina по методу серебряных солей [1] для защиты аминной функции была применена тритильная группа, удаляемая с помощью реакции перетритилирования. Модельные опыты по исследованию устойчивости алкениловых эфиров глицерина в условиях снятия фталильной защиты (кипячение в метаноле с гидразингидратом) показали возможность использования также и этой защитной группировки в синтезе альдегидогенных фосфолипидов. Поэтому в качестве фосфорилирующего агента был выбран

легко доступный фталимидоэтилдихлорфосфат [3], который широко используется в синтезе фосфатидилэтаноламинов. Следует отметить, что применение методов, разработанных для синтеза фосфолипидов диацильного типа, к альдегидогенным фосфолипидам требует учета лабильности этих соединений.

Отработка и проверка всех стадий предложенной схемы проводилась на рацемических *trans*-1-О-(алкен-1'-ил)-2-ацилглицеринах и затем была перенесена на соединения природной конфигурации.



Оптимальные условия фосфорилирования 1-О-(алкен-1'-ил)-2-ацилглицерина (V) фталимидоэтилдихлорфосфатом достигались проведением реакции при  $-20^\circ$  с использованием четырехкратного избытка фосфорилирующего агента. Гидролиз промежуточных хлорфосфатов проводили насыщенным водным раствором углекислого натрия с целью выделения соединений (III) и (VI) в виде натриевых солей, поскольку свободная кислота может автокаталитически гидролизовать алкенильноэфирную группу. Натриевые соли (III) и (VI) очищали хроматографированием на силикагеле.

Фталоильную защитную группу удаляли действием гидразингидрата. Известно, что в присутствии сложноэфирной группы гидразинолиз фталоильной группы (метанол, эквимолярные соотношения реагентов) сопровождается частичным деацилированием, поэтому выходы на этой стадии не превышают 60% [4, 5]. Нам удалось повысить избирательность гидразинолиза проведением его в растворе вода — метанол (1 : 3) с двукратным избытком гидразингидрата, выход при этом составил 88%. Такой эффект добавления воды в реакционную массу, по-видимому, можно объяснить тем, что в водно-метанольном растворе образуются мицеллы соединений (III) и (VI), в которых длинноцепочечные гидрофобные остатки винилового

спирта и кислоты направлены внутрь, тогда как гидрофильные остатки замещенной фосфорной кислоты, по которым должна идти реакция, находятся на поверхности мицеллы. Подобное строение мицелл замедляет реакцию гидразингидрата по сложноэфирным группам и позволяет провести снятие фталоильной защиты практически без образования лизофосфатидальэтаноламина. Удаление фталоилгидразида из смеси продуктов реакции обычно достигается экстракцией водной кислотой [6], что недопустимо при работе с альдегидогенными соединениями, в связи с чем нами была предложена другая обработка, исключающая применение кислотных агентов и основанная на плохой растворимости фталоилгидразида в тещом хлороформе.

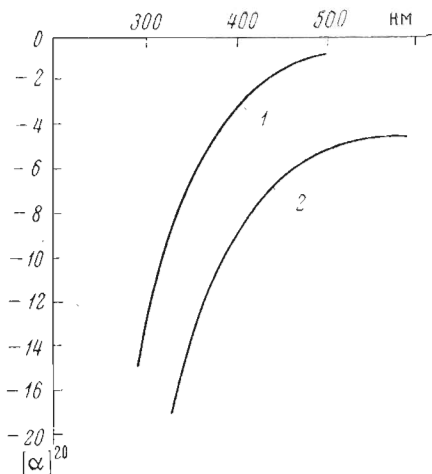
Фосфатидальэтаноламины (IV) и (VII) были получены в виде натриевых солей и очищались хроматографированием на силикагеле. Ионным обменом на амберлите IRC-50 натриевая соль (VII) была переведена в цвиттерионную форму. Такой перевод был осуществлен впервые, ранее альдегидогенные фосфолипиды были синтезированы только в виде натриевых солей. Было установлено, что фосфатидальэтаноламин в виде натриевой соли значительно устойчивее, чем в цвиттерионной форме.

Структура и индивидуальность синтезированных соединений была доказана с помощью ИК- и ЯМР-спектров, элементным анализом, ТСХ и сравнением хроматографических подвижностей синтезированных соединений и их диацильных аналогов. С помощью ИК- и ЯМР-спектров (соответственно полоса поглощения при  $3600\text{ см}^{-1}$  и синглет при  $\delta\ 5,08$  м. д.) показано, что аминогруппа фосфатидальэтаноламина (IV) находится в гидратированном состоянии. ИК-спектры фосфатидальэтаноламинов (IV) и (VII) соответственно с *цис*- и *транс*-конфигурацией двойной связи винильноэфирной группы отличаются лишь наличием (для *транс*-) или отсутствием (для *цис*-) полосы поглощения при  $930\text{ см}^{-1}$ ; в области  $1640\text{--}1670\text{ см}^{-1}$  винильноэфирная группа проявляется в виде плеча на полосе поглощения  $\text{NH}_2$ -группы, что затрудняет отнесение фосфатидальэтаноламина к *транс*- или *цис*-изомеру.

Кривые ДОВ (см. рисунок) синтезированного нами фосфатидальэтаноламина (IV) и гомологичной смеси, выделенной из головного мозга быка [7] в виде солей одновалентных металлов, после хроматографирования на кремневой кислоте [8] имеют плавный характер и располагаются в отрицательной области, но значения удельных вращений синтетического образца выше природного.

### Экспериментальная часть

Кривые ДОВ и удельное вращение измерены на фотоэлектрическом спектрополяриметре СПУ-М в хлороформе (с 1) для соединения (III) и в смеси хлороформ — метанол (1 : 1) (с 0,8) для соединения (IV). Спектры ПМР получены в растворе  $\text{CDCl}_3$  на спектрометре «Самеса» (Франция) R-250 с рабочей частотой  $250\text{ МГц}$ . В качестве стандарта взят гексаметилдисулфоксан. ИК-спектры сняты в вазелине на спектрофотометре «Perkin-Elmer» 257 (США). ТСХ проведена на силикагеле  $5/40\ \mu\text{L}$  («Chemapol»,



Кривые ДОВ смеси гомологичных фосфатидальэтаноламинов, выделенных из головного мозга быка (1) и натриевой соли фосфатидальэтаноламина (IV) (2)

ЧССР) в системе хлороформ — метанол — ацетон — аммиак (3 : 1 : 1 : 0,25). Данные элементного анализа синтезированных соединений удовлетворительно совпадали с вычисленными.

*Натриевая соль цис-1-О-(гексадецен-1'-ил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-О-фталимидоэтилфосфата (III)*. К раствору 2 г β-фталимидоэтилдихлорфосфата (II) в 25 мл безводного пиридина прибавляли по каплям в течение 30 мин при -20° и перемешивали раствор 1 г *цис-1-О-(гексадецен-1'-ил)-2-стеароил-sn-глицерина* (I) в 15 мл безводного пиридина, выдерживали 3 ч при -20° и 48 ч при 18—20°. Затем к реакционной массе прибавляли по каплям раствор 2 г Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в 10 мл воды и перемешивали 2 ч при 10°. Реакционную смесь упаривали досуха в вакууме при температуре не выше 50° и наносили на колонку с 20 г силикагеля L («Сhemarol»), малополярные примеси элюировали хлороформом, соединение (III) вымывали смесью хлороформ — метанол (15 : 1) и перекристаллизовывали из ацетона. Выход 1,18 г (81%). Т. пл. 42—43°. R<sub>f</sub> 0,7, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -2,0°. ИК, см<sup>-1</sup> : 3020 (поглощение

О

ароматического кольца и CH=CH), 1800(C—N), 1740 (COOR), 1670 (O—C=O=C), 1250 (P=O), 1100 (P—O—C), 715 (C—H).

*Натриевая соль транс-1-О-(гексадецен-1'-ил)-2-лауроилглицеро-3-О-фталимидоэтилфосфата (VI)*. 1 г транс-1-О (гексадецен-1'-ил)-2-лауроилглицерина (V) фосфорилировали в условиях предыдущего опыта. Выход соединения (VI) 1,4 г (88%). Масло, сильно удерживающее растворитель, R<sub>f</sub> 0,7, ИК, см<sup>-1</sup> : 3020 (ароматическая система и CH=CH), 1740 (COOR),

О

1800 (C—N), 1670, 1660 (OCH=CH), 1250 (P=O), 110 (P—O—C), 930 (CH=CH, транс-) 715, (C—H).

*Натриевая соль цис-1-О-(гексадецен-1'-ил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-О-(β-аминоэтил)-фосфата (IV)* C<sub>39</sub>H<sub>77</sub>NNaO<sub>7</sub>P·H<sub>2</sub>O. К раствору 0,5 г натриевой соли (III) в 15 мл смеси метанол — вода (3 : 1) прибавляли 0,06 г гидразингидрата. Реакционную массу кипятили 3 ч, затем упаривали досуха, прибавляли 10 мл нагретого до 40° хлороформа, отфильтровывали осадок фталоилгидразида, осадок промывали 10 мл нагретого до 40° хлороформа, фильтрат упаривали и наносили на колонку с 20 г силикагеля. Элюирование проводили первоначально смесью хлороформ — метанол (15 : 1), вещество вымывали смесью хлороформ — метанол (4 : 1). Выход 0,37 г (88%). Т. пл. 91—92°, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -4,7°, R<sub>f</sub> 0,5, ИК, см<sup>-1</sup> : 3620 (O—H), 3300 (NH<sub>2</sub>), 1670 (O—CH=CH, *цис*), 1580 (NH<sub>2</sub>), 1250 (P=O), 1100 (P—O—C).

ЯМР, δ, м. д. : 0,93 (CH<sub>3</sub>), 1,29 (CH<sub>2</sub>), 2,15 (OCOCH<sub>2</sub>), 3,28 (мультиплет, CH<sub>2</sub>—NH<sub>2</sub>), 3,95 (мультиплет, CH<sub>2</sub> глицерина), 4,13 (плечо CH<sub>2</sub>—OPO<sub>3</sub>), 4,8 (мультиплет, OCH=CH—R), 5,08 (H<sub>2</sub>O), 5,40 (CH—COOR), 5,90 (дуплет, J 6,2 Гц, OCH=CH, *цис*-).

*Натриевая соль транс-1-О-(гексадецен-1'-ил)-2-лауроилглицеро-3-О-(β-аминоэтил)-фосфата (VII)* C<sub>33</sub>H<sub>65</sub>NNaO<sub>7</sub>P·H<sub>2</sub>O. К раствору 0,4 г натриевой соли (VI) в 10 мл смеси метанол — вода (3 : 1) прибавляли 0,05 г гидразингидрата. Смесь кипятили 3 ч, затем проводили обработку и выделение вещества в условиях предыдущего опыта. Выход 0,31 г (87%, масло). R<sub>f</sub> 0,5, ИК, см<sup>-1</sup> : 3600 (OH), 3300 (NH<sub>2</sub>), 1670, 1640 (OCH=CH, *транс*), 1580 (NH<sub>2</sub>); 1250 (P=O), 1100 (P—O—C), 930 (OCH=CH, *транс*), 715 (C—H).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Серебрянникова Г. А., Чебышев А. В., Второв И. Б., Федорова Г. Н., Евстигнеева Р. П. (1972) Ж. орган. химии, 8, 1171—1174.
2. Василенко И. А., Серебрянникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) Биоорган. химия, 1, 56—60.
3. Hirt R., Berchtold R. (1957) Helv. chim. acta, 40, 1928—1932.
4. Letsinger R. L. (1968) Tetrahedron Lett., 2621—2624.

5. Дорофеева Л. Т., Толкачев О. Н., Преображенский Н. А. (1961) Ж. общ. химии, 33, 2880—2883.
6. Barber H. J., Wragg W. R. (1946) Nature, 158, 514.
7. Frosolono M. F., Marsh M. (1973) Chem. Phys. Lipids, 10, 203—214.
8. Nielsen H. (1971) Chem. Phys. Lipids, 7, 231—244.

Поступила в редакцию  
17.I.1975

## SYNTHESIS OF OPTICALLY ACTIVE NATURAL PHOSPHATIDAL ETHANOLAMINE

VASILENKO I. A., SEREBRENNIKOVA G. A., EVSTIGNEEVA R. P.

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

A method of chemical synthesis of phosphatidal ethanolamine based on phosphorylation of 1-O-alk-1'-enyl-2-O-acylglycerols with 2-phthalimidoethyl dichlorophosphate was elaborated. The conditions of phosphorylation and cleavage of phthalyl protective group are discussed. IR, NMR spectrum and ORD data of all synthesized compounds are also given.

---