



УДК 547.952/953.057

© 1993 А. Ю. Замятина, А. Е. Степанов,  
А. С. Бушнев, Е. Н. Звонкова, В. И. Швеиц

## СИНТЕЗ ЦЕРАМИДФОСФОИНОЗИТА И ЕГО ТИОН-АНАЛОГА

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

Осуществлен синтез церамидфосфоинозита и его тион-аналога с использованием триэфирфосфитного метода.

Неослабевающий интерес к изучению биологической роли инозитсодержащих фосфолипидов делает актуальным поиск более эффективных методов их химического синтеза. Способы получения наиболее изученных представителей этого класса соединений — диацилфосфатидилинозитов и их аналогов — достаточно хорошо отработаны [1—3], в том числе с использованием методов фосфорилирования на основе соединений трехвалентного фосфора — Н-фосфонатного и триэфирфосфитного, которые дали возможность получать с высокими выходами фосфатидилинозиты [4, 5] и их тион-фосфатные аналоги [6, 7].

Однако существует еще одна группа природных сложных инозитсодержащих фосфолипидов — гликофосфосфинголипиды, выяснение биологической роли которых сдерживается сложностью выделения из природных источников и отсутствием синтетических представителей этого класса соединений. Церамидфосфоинозиты обнаружены в высших растениях, дрожжах и грибах [8—11], некоторых бактериальных культурах [12] и мутантных штаммах [13], однако не найдены у животных. Хотя информация о биосинтезе и внутриклеточном распределении этих соединений на сегодняшний день отсутствует, инозитсодержащие гликофосфосфинголипиды признаны серологически активными веществами, способными стимулировать появление антител диагностического значения в сыворотке крови больных гистоплазмозом [9], а также веществами, осуществляющими защиту тканей некоторых высших растений от некротических повреждений [10].

Основными структурными единицами природных инозитсодержащих гликофосфосфинголипидов являются церамидная (обычно 4-гидроксисфинганин, N-ацилированный гидрокси- или дегидроксижирными кислотами) и углеводная (D-мио-инозит с присоединенной по 2- и/или 6-гидроксигруппе олигосахаридной цепью). Церамидная и инозитная части соединены через I-OH обоих компонентов фосфоэфирной связью [8—10].

Настоящая работа описывает химический синтез простейшего представителя этого класса соединений — церамидфосфоинозита и его тион-аналога как потенциальных субстратов для биохимических исследований. Для создания фосфоэфирной структуры был выбран высокоэффективный триэфирфосфитный метод, ранее уже использованный для синтеза сфингофосфолипидов [14—16]. Этот подход позволил получить искомые соединения с максимальными выходами и наименьшими потерями: обеих составляющих инозитфосфоцерамида, химический синтез которых довольно сложен и трудоемок.

На первой стадии реакцией рацемического эритро-3-бензилцерамида (I) с бифункциональным фосфитилирующим реагентом бис(N,N-диизопропиламино)-

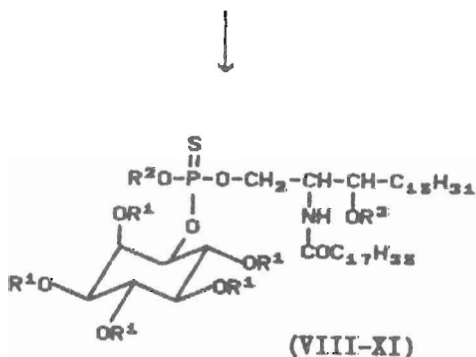
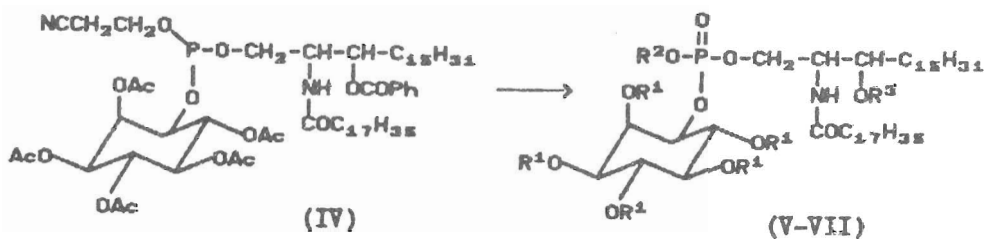
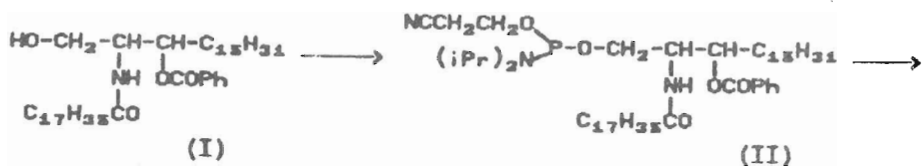
Данные  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектроскопии синтезированных соединений

Соединение	$\delta$ , м. д.
II	148,10, 148,45
IV	142,63, 142,83, 143,22, 144,03
V	0,49, 0,79, 1,10
VI	1,72, 1,89
VII	1,44
VIII	68,51, 69,82, 70,83, 71,02
IX (менее подвижный диастереомер)	58,31
IX (более подвижный диастереомер)	60,0, 60,38
X	57,14
XI	58,13

2-цианоэтилфосфитом в присутствии диизопропиламмонийтетразолида получали ключевое промежуточное соединение — амидофосфит (II). Это соединение является смесью четырех диастереомеров (две пары рацематов) из-за наличия двух асимметрических фрагментов молекулы — рацемического *эритро*-церамида и хирального атома фосфора, благодаря чему оно дает два сигнала в спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР (табл. 1) и обнаруживается в виде двух пятен с  $\Delta R_f$  0,10—0,12 на ТСХ. Последующей конденсацией амидофосфита (II) с 1(3),2,4(6),5,6(4)-пента-О-ацетил-*sn*-*мио*-инозитом (III) [1] в присутствии 1Н-тетразола получали с выходом 80—90% триэфирфосфит (IV). Последний представляет собой еще более сложную смесь восьми диастереомеров (четыре пары рацематов) вследствие присоединения рацемической молекулы *мио*-инозита, что еще более усложняет интерпретацию  $^1\text{H}$ - и  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектров. Существование нового асимметрического фрагмента, пространственно сближенного с атомом фосфора и на него влияющего, фиксируется появлением в спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР четырех сигналов в области, характерной для триэфирфосфитов [16]. Однако на высокоэффективных ТСХ-пластинках триэфирфосфит (IV), как и соединение (II), проявляется двумя пятнами с  $\Delta R_f$  0,12. Для последующего превращения в продукты пентавалентного фосфора неустойчивый при хроматографической очистке, легко окисляющийся и гидролизующийся на воздухе триэфирфосфит (IV) без выделения из реакционной массы обрабатывали *трет*-бутилгидроперекисью или элементарной серой.

Реакция окисления триэфирфосфита (IV) *трет*-бутилгидроперекисью проходит быстро (20—30 мин при 20° С), в то время как реакция окисления серой идет медленно и в более жестких условиях (6 ч при 50° С). Триэфиртионфосфат (VIII) выделяли в чистом виде жидкостной колоночной хроматографией, его структура подтверждена данными  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ - и  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектроскопии, хотя точная интерпретация спектральных данных представляется затруднительной, вследствие того что синтезированные соединения являются смесями диастереомеров.

Интересно, что  $R_p$ - и  $S_p$ -диастереомеры триэфиртионфосфата (VIII) образуются в реакции окисления в неравных количествах с преобладанием одного из них. Об этом свидетельствует наличие в спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР четырех сигналов, соответствующих четырем парам диастереомеров (из них двум парам диастереомеров по атому фосфора) триэфиртионфосфата (VIII) ( $\delta_p$  68,51, 69,82, 70,83 и 71,02) в соотношении 1 : 1 : 0,6 : 0,6, и то, что после обработки триэфира (VIII) триэтиламинном



	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
V, VIII	Ac	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CN	PhCO
VI, IX	Ac	H	PhCO
X	H	H	PhCO
VII, XI	H	H	H

для удаления цианоэтильной защиты образующийся диэфир (IX) проявляется на ТСХ двумя пятнами с соотношением интенсивностей приблизительно 3 : 2.

Диастереомеры по фосфору диэфира (IX) разделяли колоночной хроматографией, их индивидуальность и структуру подтверждали <sup>31</sup>P-, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-ЯМР-спектроскопией. Удаление цианоэтильной защитной группы с промежуточного триэфирфосфата (V) проводили *трет*-бутиламином с получением пентаацетильного производного 3-бензоилцерамидфосфоинозита — фосфодиэфира (VI). Окончательное удаление защитных групп с фосфодиэфиров (VI) и (IX) осуществляли традиционной обработкой метилатом натрия в метаноле и получали искомые церамидфосфоинозит (VII) и его тион-аналог (XI) соответственно. Химическая чистота и строение искомых соединений были подтверждены удовлетворительно коррелирующимися результатами элементного анализа, а также спектральными <sup>31</sup>P-, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C-ЯМР-данными (табл. 1, 2 и 3 соответственно). Для деацетилированного тионфосфодиэфира (X) были дополнительно получены спектральные характеристики, приведенные в «Экспериментальной части».

### Экспериментальная часть

Спектры <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР записаны на импульсном ЯМР-спектрометре Bruker MSL-200 (ФРГ) с рабочей частотой 200 МГц в дейтерированных растворителях с гексаметилдисилоксаном в качестве внешнего стандарта для <sup>1</sup>H-ЯМР и с рабочей частотой 50,32 МГц в дейтерированных растворителях для <sup>13</sup>C-ЯМР. Спектры <sup>13</sup>C-ЯМР записаны с широкополосным гетероядерным подавлением спин-спинового взаимодействия <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H, для упрощения интерпретации <sup>13</sup>C-ЯМР-спектры получены также с помощью импульсной последовательности DEPT так, что

Данные  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектроскопии синтезированных соединений

Соединение	$\delta$ , м. д.
VI ( $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$ , 1 : : 0,25)	0,80 (т, 6H, $2\text{CH}_3$ , Cer, St), 1,10 (м, $27\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,50 (м, 4H, $4-\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,90 (м, 17H, $3-\text{CH}_2$ , St, $5\text{CH}_3$ , Ac), 2,72 (кв, 2H), 3,78 (м, 2H, $1-\text{CH}_2$ , Cer), 4,25 (м, 1H, $2-\text{CH}$ , Cer), 4,90 (м, 1H), 5,08 (м, 1H, $3-\text{CH}$ , Cer), 5,32 (м, 1H), 5,70 (дт, 1H, $J_{1',p}$ 15 Гц), 8,00—7,40 (м, 5H, Bz)
VII ( $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD} - \text{D}_2\text{O}$ , 2 : 1 : 0,2)	0,50 (т, 6H, $2\text{CH}_3$ , Cer, St), 0,90 (м, $27\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,20 (м, 4H, $4-\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,85 (т, 2H, $3-\text{CH}_2$ , Cer), 3,50—2,20 (7H, $2-\text{CH}$ , Cer, 6CH <i>мио</i> -инозита), 3,84 (м, 2H, $1-\text{CH}_2$ , Cer), область сигналов протона $3-\text{CH}$ 4,20—4,50 перекрывается широким сигналом воды
VIII ( $\text{CDCl}_3$ )	0,95 (т, 6H, $\text{CH}_3$ , Cer, St), 1,20—1,64 (м, $27\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,75 (м, 4H, $4-\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,92—2,18 (м, 12H, $4\text{CH}_3$ , Ac), 2,22—2,35 (м, 5H, $\text{CH}_3$ , Ac, $3'-\text{CH}_2$ , St), 2,71 (м, 2H, $2-\text{CH}_2$ , цианоэтил), 3,88—4,40 (м, 3H), 4,58 (м, 1H), 4,82 (м, 1H), 5,06 (дд, 1H), 5,18—5,63 (м, 5H), 6,02 (дт, 1H), 6,50 (дд, 1H, NH), 7,40—8,15 (м, 5H, Bz)
IX (менее подвижный ди- астереомер) ( $\text{CDCl}_3$ )	0,92 (т, 6H, $2\text{CH}_3$ , Cer, St), 1,10—1,45 (м, $27\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,62 (м, 4H, $4-\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,93—2,25 (м, 17H, $5\text{CH}_3$ , Ac, $3'-\text{CH}_2$ , Cer), 2,85 (6H, $\text{CH}_2$ , $\text{Et}_3\text{N}$ ), 2,96 (м, 1H), 3,88 (м, 1H), 4,25 (м, 1H), 4,52 (м, 2H), 5,05—5,48 (м, 4H), 5,77 (м, 1H), 6,74 (м, 1H, NH, Cer), 7,40—8,10 (м, 5H, Bz)
IX (более подвижный ди- астереомер) ( $\text{CDCl}_3$ )	0,95 (т, 6H, $2\text{CH}_3$ , Cer, St), 1,15—1,60 (м, $27\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,73 (м, 4H, $4-\text{CH}_2$ , Cer, St), 2,03—2,25 (м, 17H, $5\text{CH}_3$ , Ac, $3'-\text{CH}_2$ , Cer), 3,0 (кв, 1H), 3,33 (м, 6H, $\text{CH}_2$ , $\text{Et}_3\text{N}$ ), 3,96—4,18 (м, 2H), 4,57 (м, 1H), 4,85 (м, 1H), 5,07—5,56 (м, 4H), 5,90 (м, 1H), 6,70 (м, 1H, NH, Cer), 7,40—8,10 (м, 5H, Bz)
IX (более подвижный ди- астереомер) ( $\text{CDCl}_3 : \text{CD}_3\text{OD}$ , 2 : 1)	0,85 (т, 6H, $2\text{CH}_3$ , Cer, St), 1,05—1,45 (м, $27\text{CH}_2$ , Cer, St), 1,73 (м, 4H, $4-\text{CH}_2$ , Cer, St), 2,03—2,25 (м, 17H, $5\text{CH}_3$ , Ac, $3-\text{CH}_2$ , Cer), 3,12 (кв, 1H), 4,45 (м, 1H), 4,82 (кв, 1H), 5,07—5,56 (м, 4H), 5,90 (дт, 1H), 7,30 (дд, 1H, NH, Cer), 7,45—8,10 (м, 5H, Bz)
X ( $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD}$ , 3 : : 1)	0,98 (т, 6H, $2\text{CH}_3$ , Cer, St), 1,20—1,70 (м, $29\text{CH}_2$ , Cer, St), 2,22 (м, 2H, $3-\text{CH}_2$ , Cer), 2,70 (м, 6H), 3,64 (м, 1H), 3,86 (м, 2H), 4,22 (м, 3H), 4,60 (м, 1H), 5,25 (м, 2H), 7,40—8,10 (м, 5H, Bz)
XI ( $\text{CDCl}_3 - \text{CD}_3\text{OD} - \text{D}_2\text{O}$ , 2 : 1 : 0,2)	0,68 (т, 6H, $2\text{CH}_3$ , Cer, St), 1,08—1,20 (м, $29\text{CH}_2$ , Cer, St), 2,12 (кв, 2H, $3-\text{CH}_2$ , Cer), 2,95 (кв, 2H), 3,22 (м, 1H), 3,45 (м, 1H, $2-\text{CH}$ , Cer), 3,67 (м, 2H, $1-\text{CH}_2$ , Cer), область сигналов $3,90-4,20$ ( $3-\text{CH}$ Cer) перекрывается широким сигналом воды

резонансные сигналы первичных/третичных и вторичных атомов углерода находятся в противофазе, а резонансные сигналы четвертичных атомов углерода отсутствуют. Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР записывали на спектрометре Bruker HSL-250 (ФРГ) с фурье-преобразованием на частоте 101,05 МГц в безводных органических растворителях с широкополосным гетероядерным подавлением спин-спинового взаимодействия  $^{31}\text{P}\{-^1\text{H}\}$ . Сдвиги приведены относительно 85% ортофосфорной кислоты (внешний стандарт).

Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (Chemapol, ЧСФР), ТСХ — на стеклянных пластинках с силикагелем марки КСКГ 5/20 мкм (р/к «Ляэне Калур», Эстония) в системах растворителей: гексан — эфир, 1 : 2 (А), этилацетат — гексан, 1 : 1 (Б), хлороформ — метанол — 25% водный аммиак, 30 : 5 : 1 (В), хлороформ — метанол — вода, 66 : 33 : 4 (Г), хлороформ — метанол — вода, 96 : 33 : 4 (Д), хлороформ — метанол — 25% водный аммиак, 60 :

Данные  $^{13}\text{C}$ -ЯМР-спектроскопии синтезированных соединений  
(Cer — церамид, St — стеароил)

Соединение	$\delta$ , м. д.
VII (DMSO- $d_6$ , 333K)	13,98 (2CH <sub>3</sub> , алкил Cer, St), 22,21, 25,43, 25,63, 28,84, 29,22, 29,48, 31,44, 33,60 (29CH <sub>2</sub> , алкил Cer, St), 35,79 (3-CH <sub>2</sub> , St), 54,45 (2-CH, Cer), 64,52, 64,67, 64,79 (1-CH <sub>2</sub> , Cer), 69,08, 69,52, 71,80, 71,97, 72,06, 72,70, 72,76, 75,68, 75,65, 75,85, 76,20, 76,32, 76,50, 76,61 (6CH, мио-инозит, 3-CH, Cer), 172,30 (C=O, амид Cer)
VIII (CDCl <sub>3</sub> )	14,04 (2CH <sub>3</sub> , алкил Cer, St), 18,46, 18,61, 19,17, 20,32, 22,58, 24,71, 24,98, 25,60, 29,26, 29,32, 29,60, 31,51, 31,83 (29CH <sub>2</sub> , алкил Cer, St), 2CH <sub>2</sub> , цианоэтил), 20,36, 20,43, 20,54, 20,65, 20,78, 21,72, 22,34 (5CH <sub>3</sub> , Ac), 36,32, 36,51 (3-CH <sub>2</sub> , St), 50,50, 50,58, 50,73 (2-CH, Cer), 62,26, 62,85 (1-CH <sub>2</sub> , Cer), 68,36, 68,48, 68,73, 68,90, 69,10, 69,47, 70,18, 70,38, 71,08, 71,60 (6CH, мио-инозит, 3-CH, Cer), 115,76, 115,93, 116,66 (C≡N), 128,26, 128,46, 128,54, 129,60, 129,71, 129,91, 130,15 (5CH, Bz), 132,98, 133,20 (C, Bz), 165,40, 165,79, 166,0, 169,04, 169,18, 169,48, 169,66, 169,77, 170,55, 170,91 (C=O, Bz, Ac), 173,16 (C=O, амид Cer)
IX (смесь диастереомеров) (CDCl <sub>3</sub> )	8,43 (CH <sub>3</sub> , Et <sub>3</sub> N), 14,07 (2CH <sub>3</sub> , алкил Cer, St), 20,53, 20,90, 21,10 (5CH <sub>3</sub> , Ac), 22,64, 25,61, 29,33, 29,69, 31,89 (29CH <sub>2</sub> , алкил Cer, St), 36,74 (3-CH <sub>2</sub> , St), 45,46 (CH <sub>2</sub> , Et <sub>3</sub> N), 51,86, 52,42 (2-CH, Cer), 64,73, 64,90, 65,32 (1-CH <sub>2</sub> , Cer), 69,0, 69,49, 70,70, 71,30, 76,33, 76,96 (6CH, мио-инозит, 3-CH, Cer), 128,43, 129,96, 133,24 (CH, Bz), 133,10 (C, Bz), 165,68, 166,39 (C=O, Bz, Ac), 169,25, 169,84, 169,98, 170,50, 172,58 (C=O, амид Cer)
IX (более подвижный диастереомер) (CDCl <sub>3</sub> )	8,52 (CH <sub>3</sub> , Et <sub>3</sub> N), 14,08 (2CH <sub>3</sub> , алкил Cer, St), 20,54, 20,92, 21,89 (5CH <sub>3</sub> , Ac), 22,65, 25,66, 29,44, 29,72, 31,79 (29CH <sub>2</sub> , алкил Cer, St), 36,78 (3-CH <sub>2</sub> , St), 45,54 (CH <sub>2</sub> , Et <sub>3</sub> N), 52,11 (2-CH, Cer), 64,33, 65,12 (1-CH <sub>2</sub> , Cer), 69,58, 70,86, 72,55, 77,02 (6CH, мио-инозит, 3-CH, Cer), 128,55, 129,91, 133,47 (CH, Bz), 129,87 (C, Bz), 165,23, 167,12 (C=O, Bz, Ac), 169,76, 170,45 (C=O, амид Cer)
X (CDCl <sub>3</sub> — CD <sub>3</sub> OD — D <sub>2</sub> O, 2:1:0,2)	13,83 (2CH <sub>3</sub> , алкил Cer, St), 22,34, 24,99, 25,78, 29,03, 29,39, 30,37, 31,61 (29CH <sub>2</sub> , алкил Cer, St), 36,25 (3-CH <sub>2</sub> , St), 51,38 (2-CH, Cer), 64,58 (1-CH <sub>2</sub> , Cer), 70,82, 71,35, 72,11, 73,69, 77,18 (6CH, мио-инозит, 3-CH, Cer), 128,17, 129,42, 132,97 (CH, Bz), 129,66 (C=O, Bz), 166,50 (C=O, Bz), 175,21 (C=O, амид Cer)
VII (DMSO- $d_6$ , 313K)	13,75 (2CH <sub>3</sub> , алкил Cer, St), 22,45, 24,56, 25,89, 29,42, 29,67, 31,44, 32,80 (29CH <sub>2</sub> , алкил Cer, St), 36,55 (3-CH <sub>2</sub> , St), 52,16 (2-CH, Cer), 64,46, 64,88 (1-CH <sub>2</sub> , Cer), 70,54, 71,53, 72,15, 72,70, 75,68, 75,87, 76,25, 76,74, 76,38 (6CH, мио-инозит, 3-CH, Cer), 173,50 (C=O, амид Cer)

: 30 : 5 (E). Обнаружение пятен осуществляли раствором молибдата аммония в 30% серной кислоте с последующим прокаливанием при 250—300° С. Температуры плавления измеряли на приборе Voetius (ГДР). Ацетонитрил, толуол, тетрагидрофуран, триэтиламин кипятили 18 ч над гидридом кальция и перегоняли. Хлористый метилен кипятили и перегоняли над пятиокисью фосфора непосредственно перед использованием. Тетразол сушили многократным упариванием с сухим ацетонитрилом.

3-Бензоил-2-стеароил-гас-эритро-сфинганин-1-(N,N-диизопропиламидо)цианоэтилфосфит (II) синтезировали из гас-эритро-3-бензоилцерамида (I) (т. пл. 78—80° С) [17] по методу [16]. Диизопропиламмонийтетразолид получали по методу [18], 1(3), 2,4(6), 5,6(4)-пента-О-ацетил-*sn*-мио-инозит — по методу [19]. Данные элементного анализа соединений (VI), (VII) и (XI) на С, Н и Р удовлетворительно совпали с вычисленными значениями.

2,3(1),4(6),5,6(4)-Пента-О-ацетил-1(3)-(3-бензоил-2-стеароил-гас-эритро-сфинганин)-сп-мио-инозитфосфат (VI). 0,62 г (0,70 ммоль) 3-бензоил-2-стеароил-гас-эритро-сфинганин-1-(N,N-диизопропиламино)цианоэтилфосфита (II) и 0,37 г (0,78 ммоль) 1(3),2,4(6),5,6(4)-пента-О-ацетил-сп-мио-инозита (III) упаривали с сухим толуолом (4×50 мл), растворяли в 3 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и при перемешивании в атмосфере аргона вносили 1,8 мл (0,84 ммоль) 0,5 М раствора 1Н-тетразола в ацетонитриле. После полного превращения (20 мин) исходного амидофосфита (II) в триэфирфосфит (IV) ( $R_f$  0,59 и 0,72 (A)) с выходом 95% (по данным  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектроскопии) реакционную массу упаривали, дважды упаривали с сухим толуолом, растворяли в том же растворителе, добавляли двукратный мольный избыток *трет*-бутилгидроперекиси, гетерогенную смесь перемешивали 30 мин, растворитель удаляли в вакууме, остаток (соединение (V),  $R_f$  0,40 (B)),  $^{31}\text{P}$ ,  $\delta$ , м. д.: 0,49, 0,79 и 1,10) растворяли в хлороформе (100 мл), промывали 1 М триэтиламмоний-бикарбонатным буфером, pH 7 (3×50 мл), сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упаривали досуха, суспендировали в 5 мл смеси хлористый метилен — *трет*-бутиламин (1 : 1), через 40 мин реакционную смесь упаривали, остаток хроматографировали, вымывая вещество градиентным элюированием системами от хлороформа до 10% метанола в хлороформе. Выход 0,69 г (75%).  $R_f$  0,47 и 0,53 (B), т. пл. 44—45° С.

1(3)-О-(2-стеароил-гас-эритро-сфинганин)-сп-мио-инозитфосфат (VII), натриевая соль. К раствору 0,20 г (0,17 ммоль) диэфира (VI) в 3 мл смеси тетрагидрофуран — метанол (1 : 1) прибавляли 3 мл 0,2 н. раствора метилата натрия в метаноле, выдерживали 2 ч при 20° С, реакционную смесь выливали в 50% раствор NaCl (200 мл), осадок отделяли на фильтре, промывали водой, ацетоном, высушивали на воздухе, очищали хроматографией на силикагеле, вымывая вещество ступенчатым элюированием системами хлороформ — метанол — вода от 80 : 20 : 2 до 66 : 33 : 4. Выход 0,13 г (91,3%), т. пл. 205—213° С,  $R_f$  0,30 (Г).

2,3(1),4(6),5,6(4)-Пента-О-ацетил-1(3)-О-(3-бензоил-2-стеароил-гас-эритро-сфинганин)-сп-мио-инозит-(2-цианоэтил)тионфосфат (VIII) получали из 0,63 г (0,72 ммоль) амидофосфита (II) и 0,34 г (0,72 ммоль) 1(3),2,4(6),5,6(4)-пента-О-ацетил-сп-мио-инозита (III) аналогично триэфирфосфату (V) (промежуточному соединению в синтезе диэфира (VI)), за исключением того, что на стадии окисления использовали элементарную серу (0,21 г, 0,80 ммоль), гетерогенную смесь перемешивали 6 ч при 50° С. После водной обработки (1М триэтиламмоний-бикарбонатный буфер) вещество выделяли хроматографией на силикагеле (хлороформ). Выход 0,69 г (74%).

2,3(1),4(6),5,6(4)-Пента-О-ацетил-1(3)-О-(3-бензоил-2-стеароил-гас-эритро-сфинганин)-сп-мио-инозиттионфосфат (IX), триэтиламмониевая соль. 0,40 г (0,30 ммоль) триэфирфосфата (VII) суспендировали в 5 мл смеси хлористый метилен — триэтиламин (1 : 1), выдерживали 3 ч, растворитель удаляли в вакууме, реакционную смесь упаривали с гептаном, остаток хроматографировали, вымывая по отдельности диастереомеры по фосфору с  $R_f$  0,45 и 0,35 (B), образующиеся в реакции в соотношении ~3 : 2 (по данным  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектроскопии), а также их смесь градиентным элюированием системами растворителей от триэтиламин — хлороформ (1 : 99) до триэтиламин — метанол — хлороформ (1 : 8 : 91). Общий выход 0,30 г (76%). Спектральные характеристики приведены как для смеси диастереомеров по фосфору, так и отдельно для  $R_p$ - и  $S_p$ -диастереомеров (табл. 1—3).

1(3)-О-(3-бензоил-2-стеароил-гас-эритро-сфинганин)-сп-мио-инозиттионфосфат (X), натриевая соль. К раствору 0,20 г (0,17 ммоль) диэфира (IX) в 4 мл смеси тетрагидрофуран — метанол (1 : 1) прибавляли 1 мл 0,1 н. раствора метилата натрия в метаноле, выдерживали 20 мин при 20° С, реакционную смесь выливали в 50% раствор NaCl (200 мл), осадок отделяли на фильтре, промывали водой, ацетоном, очищали хроматографией на силикагеле, вымывая



вещество ступенчатым элюированием системами: хлороформ — метанол — вода от 100:25:1 до 100:50:4. Выход 0,15 г (91,3%),  $R_f$  0,45 (Д), 0,60 (Е), т. пл. 176—178° С.

1(3)-О-(2-N-Стеароил-гас-эритро-сфинганин)-сп-мио-инозиттионфосфат (XI), натриевая соль. Получали аналогично соединению (VII). Выход 91%,  $R_f$  0,34 (Д), 0,48 (Е), т. пл. выше 200° С с разложением.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Швец В. И., Степанов А. Е., Крылова В. Н., Гулак П. В.//мио-Инозит и фосфоинозитиды. М.: Наука, 1987. 248 с.
2. Ward J. G., Young R. C.//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 46. P. 6013—6016.
3. Jones M., Rana K. K., Ward J. G., Young R. C.//Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. № 39. P. 5353—5356.
4. Elie C. J. J., Dreef C. E., Verduyn G. A., van der Marel G. A., van Boom J. H.//Tetrahedron. 1989. V. 45. № 11. P. 3477—3486.
5. Dreef C. E., Elie C. J. J., Hoogerhout P., van der Marel G. A., van Boom J. H.//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 49. P. 6513—6516.
6. Salamonczyk G. M., Bruzik K. S.//Tetrahedron Lett. 1990. V. 31. № 14. P. 2015—2016.
7. Lin G., Bennett C. F., Tsai M. D.//Biochemistry. 1990. V. 29. № 11. P. 2747—2757.
8. Laine R. A.//Chem. and Phys. Lipids. 1986. V. 42. № 1—3. P. 129—135.
9. Barr K., Lester R. L.//Biochemistry. 1984. V. 23. № 23. P. 5581—5588.
10. Lhomme J., Bruneteau M., Costello C. E., Mas P., Molot P.-M., Dell A., Michel G., Tiller P. R.//J. Biochem. 1990. V. 191. № 1. P. 203—209.
11. Puoti A., Desponds C., Conzelmann A.//J. Cell. Biol. 1991. V. 113. № 3. P. 515.
12. Singh B. N., Costello C. E., Beach D. H., Holz G. G.//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1988. V. 157. № 3. P. 1239—1246.
13. Weels G. B., Lester R. L.//J. Biol. Chem. 1983. V. 258. № 17. P. 10200—10203.
14. Bruzik K. S.//J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1986. № 4. P. 329—331.
15. Bruzik K. S.//J. Chem. Soc. Perkin Trans 1. 1988. № 3. P. 423—431.
16. Франтова А. Ю., Бушнев А. С., Звонкова Е. Н., Швец В. И.//Биоорган. химия. 1991. Т. 17. № 11. С. 1562—1573.
17. Shapiro D. Chemistry of Sphingolipids. Paris: Hermann, 1969. 111 p.
18. Barone A. D., Tang J.-Y., Caruthers M. H.//Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 10. P. 4051—4061.
19. Angyal S. J., Randall M.//J. Chem. Soc. C. 1967. № 10. P. 919—922.

Поступила в редакцию  
7.IX.1992

*A. Yu. Zamyatina, A. E. Stepanov, A. S. Bushnev, E. N. Zvonkova,  
V. I. Shvets*

#### SYNTHESIS OF CERAMIDE PHOSPHOINOSITOL AND ITS THIONANALOGUE

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

The synthesis of ceramide phosphoinositol and its thionanalogue have been accomplished via phosphate triester approach.