



УДК 547.593.261'118.057:543.544.42

© 1993 О. Б. Рунова*, В. Н. Крылова,
Н. С. Шастина, С. В. Еремйн, А. Е. Степанов,
В. И. Швец

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ПРОИЗВОДНЫХ АСИММЕТРИЧНО
ЗАМЕЩЕННОГО МИО-ИНОЗИТА
XXXVI¹. РАЗДЕЛЕНИЕ ДИАСТЕРЕОМЕРНЫХ УГЛЕВОДНЫХ
ПРОИЗВОДНЫХ МИО-ИНОЗИТА МЕТОДОМ ВЭЖХ

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

*Научный центр по разработке и внедрению современных методов молекулярной диагностики,
Москва

Показана возможность применения метода ВЭЖХ для разделения диастереомерных соединений *мио*-инозита, полученных в условиях реакции перэтерификации рацемических производных *мио*-инозита этилортоацетатом *D*-маннозы. Полученные оптически активные производные *мио*-инозита могут быть использованы для синтеза фосфатов *мио*-инозита различного строения.

Развитие исследований по химии, биохимии и физиологии фосфоинозитидов и их структурных фрагментов — фосфатов *мио*-инозита в значительной степени сдерживается отсутствием надежных препаративных подходов к полному химическому синтезу этих соединений. Анализ научной литературы показывает резкое нарастание в последние 3—5 лет работ, посвященных химическим методам синтеза фосфатных производных *мио*-инозита [2]. При этом одним из основных направлений исследования остается развитие препаративных методов расщепления рацемических асимметрично замещенных производных *мио*-инозита с целью последующего получения хиральных синтонов для синтеза фосфатов и фосфоинозитидов.

В настоящее время для расщепления рацемических производных *мио*-инозита на оптические антиподы широко используется метод, основанный на их взаимодействии с асимметрическими реагентами — хлорангидридами оптически активных кислот [3—5] или производными углеводов [6]. Наиболее универсален метод с использованием производных углеводов; различия в свойствах получаемых диастереомерных производных достаточны для эффективного разделения диастереомеров с высокими выходами. Использование хлорангидридов оптически активных кислот менее выгодно из-за их высокой стоимости, а также методологических трудностей, возникающих при подборе пары производное *мио*-инозита — оптически активная кислота.

В данной работе изучалась возможность применения метода ВЭЖХ для разделения диастереомерных соединений, полученных при взаимодействии рацемических кетальных и фосфоанилидных производных *мио*-инозита с ортоацетатом *D*-маннозы. Объектами исследования были выбраны 1(3),6(4)-ди-*O*-бензил-2,3(1)-*O*-изопропилиден-*sn*-*мио*-инозит (XI)² [9], 1(3),6(4)-ди-*O*-бензил-2,3(1)-*O*-циклогексиден-*sn*-*мио*-инозит (I) [10], 1(3),2-ди-*O*-циклогексиден-

¹ Сообщение XXXV см. [1].

Запросы на отписки просим адресовать А. Е. Степанову.

² Для рацемических и оптически активных производных *мио*-инозита используется стереоспецифическая номенклатура [7, 8].

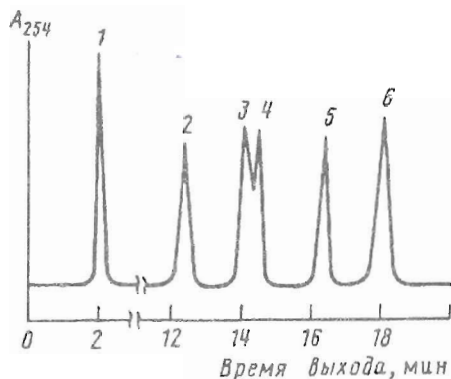


Рис. 1. Preparative separation by VZHZH of components of the reaction of reesterification of compound (II) diol with (I). Gradient of concentration of chloroform in petroleum ether from 20 to 60% (15 min), from 60 to 90% (5 min) (M); column Lichrosorb SI-100 (10 × 250 mm, 10 μm, Merck), flow rate of solvents 9.9 ml/min. 1 — starting orthoester of D-mannose (II), 2, 3, 4, 5 — diastereomers (III), (V), (VI), (IV) correspondingly, 6 — starting diol (I)

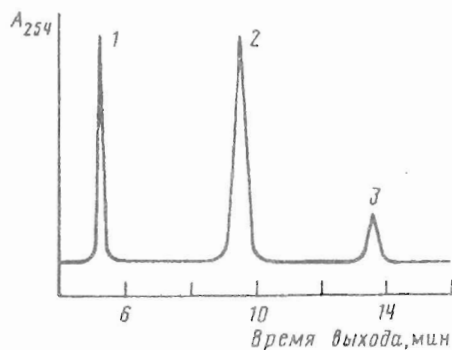


Рис. 2. Preparative separation with the help of VZHZH of components of the reaction of reesterification of compound (II) diol with (XI). Eluent: acetonitrile — water — triethylamine, 1500 : 500 : 1 (H), column Lichrospher C18 (16 × 150 mm, 5 μm, Merck), flow rate of solvents 9.9 ml/min. 1 — starting orthoester of D-mannose (II), 2 — mixture of diastereomers (XII) — (XV), 3 — starting diol (XI)

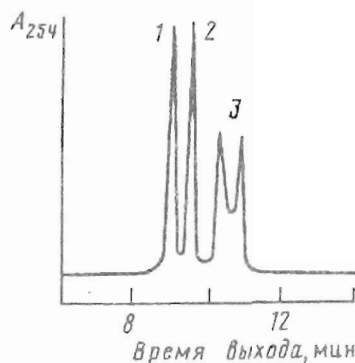


Рис. 3. Preparative separation of a mixture of diastereomers (XII) — (XV) with the help of VZHZH. Gradient of concentration of chloroform in petroleum ether from 0 to 40% (3 min), from 40 to 100% (7 min), 100% chloroform (5 min) (O), column Lichrosorb SI-100 (10 × 250 mm, 10 μm, Merck), flow rate of solvents 9.9 ml/min. 1, 2 — diastereomers (XII), (XIV) correspondingly, 3 — mixture of diastereomers (XIII) and (XV)

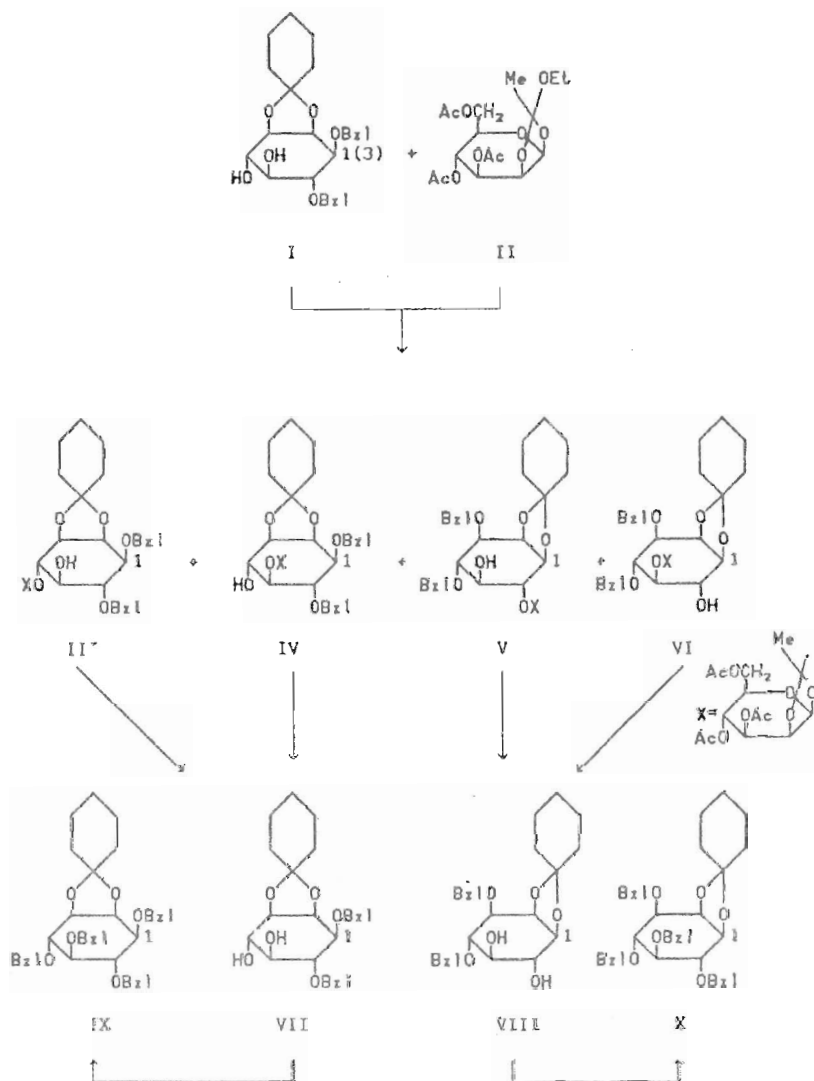
5,6(4)-di-O-(diacylid)phospho-*sn*-*muo*-inositol (XXII) and 1(3),4(6)-di-O-benzyl-5,6(4)-di-O-(diacylid)phospho-*sn*-*muo*-inositol (XXVII) [11] — compounds, which are convenient starting substances for synthesis of phosphates of *muo*-inositol of different structure.

As an asymmetric agent, 3,4,6-tri-O-acetyl-1,2-O-ethylorthoacetate-β-D-mannopyranose (II) [12]. Diastereomeric carbohydrate derivatives of *muo*-inositol were obtained by reesterification of a two-fold excess of ethylorthoacetate (II) diols (I, XI, XXII, XXVII) in boiling dichloroethane with addition of catalytic amounts of TsOH (0.014 mol per 1 mol of orthoester). Optimal reaction time was 7.5 h; at longer reaction times in the reaction mixture polar products of orthoester decomposition (according to TSC) accumulated and the overall yield of target diastereomers decreased.

Condensation of 1(3),6(4)-di-O-benzyl-2,3(1)-O-cyclohexylidene-*sn*-*muo*-inositol (I) with orthoester (II) led to two pairs of diastereomers (III, V and IV, VI) because of the presence of two reaction-capable hydroxyl groups in the

ложениях 4(6) и 5 (схема 1). Далее реакционную массу разделяли методом ВЭЖХ на силикагельной колонке в градиенте хлороформа в петролейном эфире (рис. 1). Использование других стационарных фаз (C_{18} , CN), изменение условий элюирования (градиентное, изократическое), модификация элюирующей системы (эфир — гексан, изопропанол — гексан) не улучшила разделение. Использование препаративной ТСХ на окиси алюминия оказалось малоэффективным из-за высокой лабильности диастереомеров.

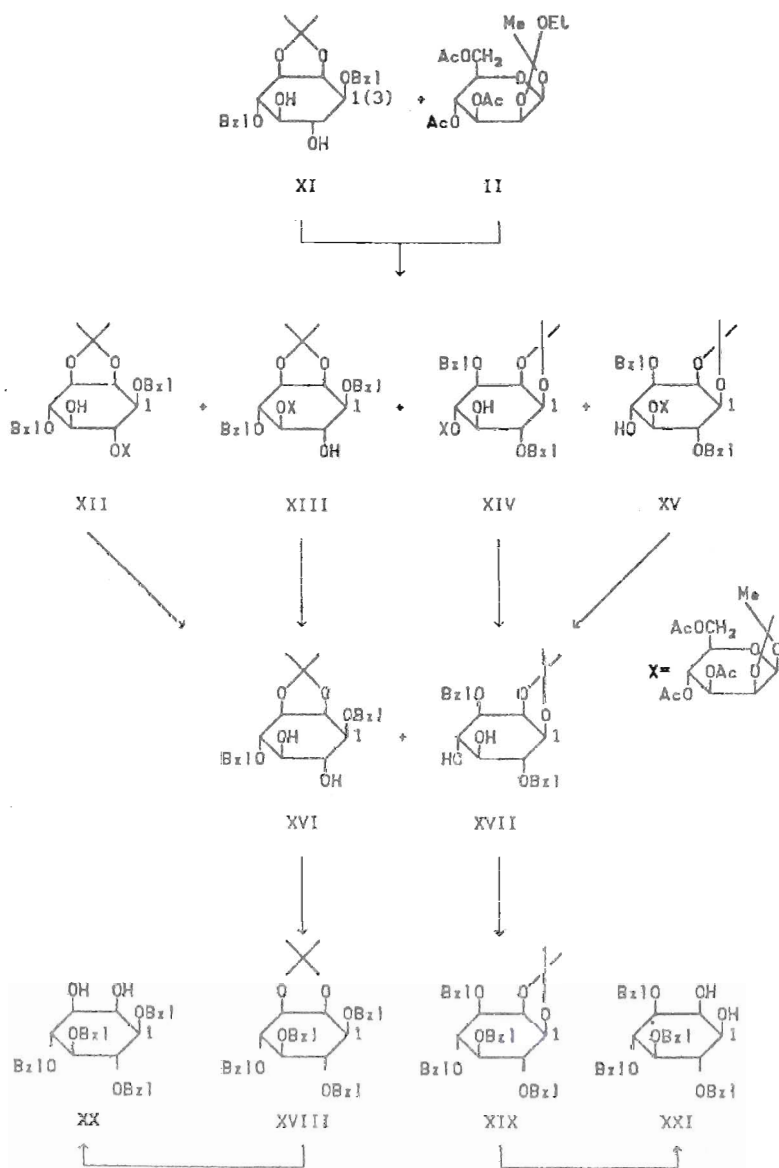
Схема 1



В результате переэтерификации ортоэфира (II) 1(3),4(6)-ди-О-бензил-2,3(1)-О-изопропилиден-*sn*-мио-инозита (XI) наряду с целевыми диастереомерами (XII—XV) (схема 2) образовывалась сложная смесь неидентифицированных продуктов, имеющих близкую хроматографическую подвижность, что не позволило выделить диастереомеры (XII—XV) за один прием. Первоначально с помощью обращенно-фазовой хроматографии выделяли фракцию целевых ортоэфиров (рис.

2), которую разделяли на индивидуальные компоненты с использованием адсорбционной хроматографии (рис. 3). При этом были получены индивидуальные диастереомеры (XII и XIV) и смесь диастереомеров (XIII и XV), которую удалось разделить повторной хроматографией в аналогичных условиях. Гомогенность фракций была подтверждена аналитической ВЭЖХ.

Схема 2



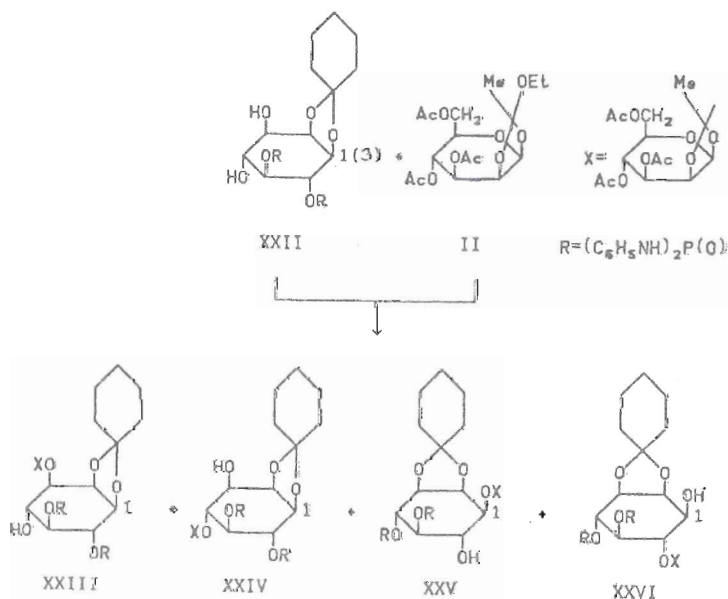
Согласно представлениям о реакционной способности гидроксильных групп *мио*-инозита, место присоединения ортоэфирной группировки в диастереомерах (III и V) (общий выход 37,8%) — положение 4 или 6, а в диастереомерах (IV и VI) (общий выход 12,2%) — 5 (схема 1). Аналогично место присоединения ортоэфирной группы в диастереомерах (XII и XIV) (общий выход 27%) —

положение 4 или 6, а в диастереомерах (XIII и XV) (общий выход 13,9%) — 5 (схема 2). Эти выводы согласуются с экспериментальными данными, полученными в нашей лаборатории [13, 14].

Из диастереомеров (III—VI) в условиях мягкого кислотного гидролиза получены энантиомеры (VII и VIII) (схема 1). Эти соединения имели противоположные знаки углов оптического вращения $[\alpha]^{20}$; другие физико-химические характеристики их совпадали. Аналогично из диастереомеров (XII—XV) получены энантиомеры (XVI—XVII) (схема 2). Стереохимическая конфигурация соединений (VII и VIII) подтверждена сведением их к известным тетрабензилкетальным производным (IX и X) [12] (схема 1), а соединений (XVI и XVII) — к тетрабензиловым эфирам (XX и XXI) [12] (схема 2). Кривые ДОВ соединений (IX, X и XX, XXI) подтверждали их энантиомерные отношения. Температуры плавления, ИК- и УФ-спектры практически не отличались от характеристик полученных ранее тетрабензилкетальных и тетрабензиловых эфиров [12, 15]. К некоторым недостаткам предложенных схем следует отнести сравнительно высокую трудоемкость, особенно в случае схемы 2, а также относительно невысокие выходы целевых диастереомеров. Кроме того, разделение рацематов на энантиомеры целесообразно проводить на заключительных стадиях синтеза, так как работа с хиральными соединениями в условиях многостадийного синтеза связана с определенными потерями материала.

Поэтому в качестве альтернативного варианта было предпринято разделение фосфатного диола (XXII) на энантиомеры по описанной ранее методике в условиях ВЭЖХ (схема 3). Однако низкие выходы диастереомеров (XXIII—XXVI) при всех изученных условиях проведения реакции, а также их распад в условиях ВЭЖХ показали неперспективность этой схемы.

Схема 3

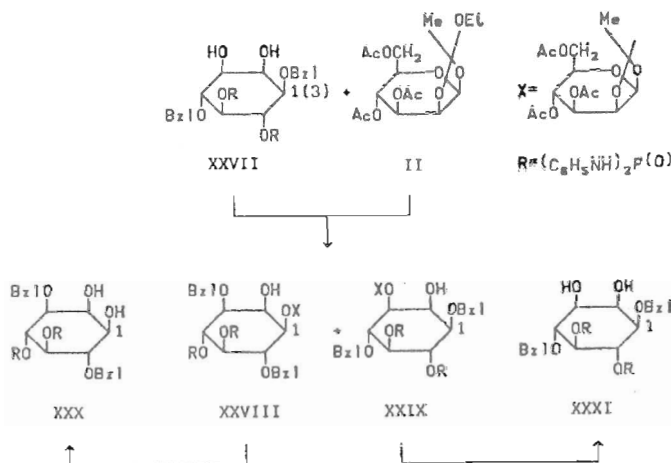


Более успешным оказалось расщепление фосфатного диола (XXVII) с другим сочетанием защитных групп (схема 4) [1]. Диастереомеры (XXVIII, XXIX) выделены методом адсорбционной ВЭЖХ в изократической системе изопропанол — петролейный эфир (1 : 10) с выходами 23,2 и 22,9% соответственно. Их гомогенность подтверждена данными аналитической ВЭЖХ. Гидролиз ортоэфиров (XXVIII) и (XXIX) 0,2 н.серной кислотой в 90% водном ацетоне давал соединения (XXX) и (XXXI) с выходами 82,1 и 81,5%, которые по ИК-, УФ-спектрам

хроматографической подвижности соответствовали рацемическому 1(3),4(6)-ди-О-бензил-5,6(4)-ди-О-(дианилидо)фосфо-*sn*-*мио*-инозиту (XXVII), но имели противоположный характер кривых ДОВ. Отнесение стереохимической конфигурации энантиомеров (XXX и XXXI) сделано превращением их в соответствующие дифосфаты известного строения [16].

Таким образом, в результате работы показана принципиальная возможность разделения с помощью ВЭЖХ диастереомерных углеводных производных *мио*-инозита. Применение метода ВЭЖХ позволило получить индивидуальные соединения с высокой степенью чистоты в препаративных количествах.

Схема 4



Экспериментальная часть

ИК-спектры получены на приборе Shimadzu IR-435 (Япония) в вазелиновом масле в тонком слое. УФ-спектры записаны на спектрофотометре Beckman DU-6 (США) в этаноле в кварцевых кюветах с толщиной слоя 10 мм. Спектры ¹H-ЯМР регистрировали на приборе Bruker WM-350 в дейтерохлороформе, внутренний стандарт-тетраметилсилан. Кривые ДОВ и оптическое вращение измеряли для растворов в хлороформе на спектрополяриметре Perkin — Elmer 241-МС (Швеция) при 20° С.

Для ТСХ использовали пластины Silufol UV-254 (Chemapol, ЧСФР) (вариант I) и пластины НРТLC-Fertigplatten Kieselgel 60F-254 (Merck, ФРГ) (вариант II) в системах растворителей: хлороформ — ацетон, 9 : 1 (А), бензол — ацетон, 7 : 3 (Б), бензол (В), хлороформ — ацетон, 12 : 1 (Г), хлороформ — ацетон — метанол, 17 : 2 : 2 (Д). При тонкослойной хроматографии по варианту I пятна веществ обнаруживали обугливанием при 400° С, по варианту II — опрыскиванием пластинок молибденовым синим с последующим прокаливанием при 300—350° С. Для колоночной хроматографии на силикагеле (L 40/100 мкм, Chemapol, ЧСФР) применяли системы растворителей: бензол — хлороформ, 4 : 1 (Е), хлороформ — ацетон, 10 : 1 (Ж).

Аналитическую ВЭЖХ соединений (III—VI, XII—XV, XXIII—XXVI, растворы в хлороформе 1 мг/мл) осуществляли на жидкостном хроматографе фирмы Kova (ЧСФР) (насос НРР 5002, UV-детектор LCD 2563), колонка Sерагон SG-X (3,3 × 150 мм, 7 мкм) (ЧСФР), в системах растворителей: хлороформ — ацетонитрил — метанол, 155 : 1 : 1 (З), хлороформ — ацетонитрил — метанол, 500 : 1 : 1 (И), хлороформ — ацетонитрил — метанол, 1000 : 1 : 1 (К) при скорости подачи растворителей 1 мл/мин. Аналитическую ВЭЖХ соединений (XXVIII, XXIX) проводили на жидкостном хроматографе фирмы LiQuoschrome (ВНР) (насос — модель 3121,

UV-детектор № 308), колонка Lichrosorb SI-60 (4,6 × 250 мм, 7 мкм, Merck), скорость подачи растворителей 2 мл/мин; системы растворителей: петролейный эфир — изопропанол, 7 : 1 (Л).

Препаративную ВЭЖХ соединений (III—VI, XII—XV) выполняли на жидкостном хроматографе фирмы Клауег (ФРГ) (насос — модель 64, условия разделения см. в подписях к рис. 1—3). Препаративную ВЭЖХ соединений (XXVIII, XXIX) осуществляли на жидкостном хроматографе фирмы Клауег (ФРГ), колонка Zorbax SIL (21,2 × 250 мм, 10 мкм) (Du Pont), скорость подачи растворителей 20 мл/мин; детекцию проводили при 290 нм; системы растворителей: петролейный эфир — изопропанол, 10 : 1 (П).

Данные элементного анализа полученных соединений на содержание С, Н, N, Р удовлетворительно совпали с вычисленными значениями.

Перезэтерификация 3,4,6-три-О-ацетил-1,2-О-этилортоацетил-β-D-маннопиранозы (II) 1(3),6(4)-ди-О-бензил-2,3(1)-О-циклогексилиден-сп-мио-инозитом (I). Раствор 0,182 г (0,413 ммоль) соединения (I) и 0,311 г (0,854 ммоль) 3,4,6-три-О-ацетил-1,2-О-этилортоацетил-β-D-маннопиранозы (II) [12] в 20 мл сухого дихлорэтана кипятили 10 мин в аппарате Сокслета, помещая в его экстракционную часть 5 г молекулярных сит 4 Å, затем в реакционную массу вносили 0,003 г (0,017 ммоль) TsOH и продолжали кипячение 7,5 ч; по окончании реакции добавляли 1 мл пиридина, фильтровали реакционную массу через оксид алюминия, растворитель удаляли. Получали смесь веществ, состоящую из исходных (II) и (I), R_f 0,65 и 0,23 соответственно, и двух пар диастереомеров (III и V, IV и VI), R_f 0,58 и 0,52; 0,39 и 0,45 (II, А). Продукты анализировали методом ВЭЖХ. Препаративное разделение компонентов реакционной смеси методом ВЭЖХ осуществляли в системе (М) (рис. 1).

Выход диастереомера (III) 0,061 г (19,1%), масло, R_f 0,58 (II, А), $[\alpha]_{589} +7,6^\circ$ (с 2,9). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3450 (ОН), 3100, 3020, 1500 (C₆H₅), 1745 (C=O в COOR, здесь и далее R — алкил), 1240 (C—O в COOR), 1065, 1050 (C—O в C—O—C, C—ОН). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,72 (с, C—CH₃), 1,98 (с, 3 CH₃CO), 1,52 (с, CH₂). T_R 12,2 мин (М).

Выход диастереомера (IV) 0,02 г (6,3%), масло, R_f 0,39 (II, А), $[\alpha]_{589} -4,5^\circ$ (с 2,5). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3400 (ОН), 3100, 1490 (C₆H₅), 1745, 1735 (C=O в COOR), 1230 (C—O в COOR), 1665, 1050, 1020 (C—O в C—O—C, C—ОН). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,74 (с, C—CH₃), 1,99 (с, 3 CH₃CO), 1,53 (с, CH₂). T_R 16,3 мин (М).

Выход диастереомера (V) 0,059 г (18,7%), масло, R_f 0,52 (II, А), $[\alpha]_{589} +6,3^\circ$ (с 5,9). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,73 (с, C—CH₃), 1,99 (с, 3 CH₃CO), 1,52 (с, CH₂). T_R 14,0 мин (М).

Выход диастереомера (VI) 0,019 г (5,9%), масло, R_f 0,45 (II, А), $[\alpha]_{589} -3,7^\circ$ (с 1,9). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,74 (с, C—CH₃), 2,00 (с, 3 CH₃CO), 1,54 (с, CH₂). T_R 14,3 мин (М).

ИК-спектры диастереомеров (V) и (VI) аналогичны описанным для диастереомеров (III) и (IV) соответственно.

1,6-Ди-О-бензил-2,3-О-циклогексилиден-сп-мио-инозит (VII).

а) Раствор 0,046 г ортоэфира (III) в 6 мл дихлорэтана кипятили в аппарате Сокслета, помещая в его экстракционную гильзу 1,5 г молекулярных сит типа 4 Å, добавляли 0,4 мг TsOH, 0,01 мл метанола и кипятили 6 мин, затем добавляли 1 мл пиридина, пропускали реакционную массу через оксид алюминия, упаривали растворитель, остаток очищали с помощью ВЭЖХ в системе (О), T_R 12,5 мин. Выход 0,014 г (52,3%), т.пл. 123° С (из этанола), R_f 0,35 (I, Б), $[\alpha]$, град (λ, нм): +13,85 (589), +18,2 (546), +35,4 (407), +46,1 (366), +61,95 (334) (с 1,37). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3300 (ОН), 1590, 1495 (C₆H₅), 1080, 1035 (C—O в C—O—C, C—ОН). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 258,5. ln ε 8,52. Вычислено: ln ε 8,44.

б) Раствор 0,092 г ортоэфира (IV) в 10 мл дихлорэтана, 0,67 мг TsOH и 0,02 мл метанола обрабатывали по указанной выше методике. Выход 0,019 г

(36,2%). Хроматографические, спектральные характеристики и данные ДОВ совпадают с данными для вещества, полученного по методике «а».

1,2-О-Циклогексилиден-3,4-ди-О-бензил-сп-мио-инозит (VIII).

а) Раствор 0,04 г соединения (V) в 5 мл дихлорэтана, 0,35 мг TsOH и 0,015 мл метанола обрабатывали по методике, указанной для соединения (VII), остаток очищали ВЭЖХ в системе М, T_R 12,5 мин. Выход 0,013 г (56,0%), т.пл. 125,5° С (из этанола), R_f 0,36 (I, B), $[\alpha]$, град (λ , нм): -14,1 (589), -18,3 (546), -36,1 (407), -46,0 (366), -62,1 (334) (c 1,3). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3305 (ОН), 1590, 1500 (C₆H₅), 1080, 1030 (C—O в C—O—C, C—ОН). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 258,5. $\ln \epsilon$ 8,48. Вычислено: $\ln \epsilon$ 8,44.

б) Раствор 0,078 г соединения (VI) в 8 мл дихлорэтана, 0,57 мг TsOH и 0,02 мл метанола обрабатывали по методике, указанной для соединения (VII). Выход соединения (VIII) 0,026 г (58,7%). Хроматографические, спектральные характеристики и данные ДОВ совпадают с данными для вещества, полученного по методике «а».

1,4,5,6-Тетра-О-бензил-2,3-О-циклогексилиден-сп-мио-инозит (IX). Смесь 0,019 г производного (VII), синтезированного из ортоэфиров (III) и (IV), 0,062 г порошкообразного гидроксида калия и 0,1 мл хлористого бензила кипятили 19 ч при перемешивании, избыток хлористого бензила и дибензильный эфир отгоняли с водяным паром, остаток экстрагировали бензолом (4 × 20 мл), экстракт промывали водой (4 × 10 мл), сушили сульфатом натрия, упаривали, вещество (IX) очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе Е. Выход 0,025 г (95,1%), т. пл. 74—75° С (из метанола), R_f 0,32 (I, B), $[\alpha]$, град (λ , нм): +28,75 (589), +36,7 (546), +46,7 (435), +51,6 (407) (c 1,25). Соединение (IX) по данным температуры плавления, ДОВ, ТСХ идентично образцу 1,4,5,6-тетра-О-бензил-2,3-О-циклогексилиден-сп-мио-инозита, синтезированного другим методом [12].

1,2-О-Циклогексилиден-3,4,5,6-тетра-О-бензил-сп-мио-инозит (X). Смесь 0,017 г производного (VIII), синтезированного из ортоэфиров (V) и (VI), 0,056 г гидроксида калия и 0,09 мл хлористого бензила обрабатывали по методике, указанной для соединения (IX), вещество (X) очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе Е. Выход 0,023 г (97,3%), т. пл. 73—74° С (из метанола), R_f 0,32 (I, B), $[\alpha]$, град (λ , нм): -29,1 (589), -37,1 (546), -46,3 (435), -52,3 (407) (c 2,3). Соединение (X) по данным температуры плавления, ДОВ, ТСХ идентично образцу 1,2-О-циклогексилиден-3,4,5,6-тетра-О-бензил-сп-мио-инозита, синтезированного другим методом [12].

Переэтерификация 3,4,6-три-О-ацетил-1,2-О-этилортоацетил-β-D-маннопиранозы (II) 1(3),4(6)-ди-О-бензил-2,3(1)-О-изопропилиден-сп-мио-инозитом (XI). Раствор 0,35 г (0,875 ммоль) 1(3),4(6)-ди-О-бензил-2,3(1)-О-изопропилиден-сп-мио-инозита (XI), 0,658 г (1,748 ммоль) ортоацетата (II) в 30 мл сухого дихлорэтана и 6,5 мг (0,038 ммоль) TsOH обрабатывали как описано для соединения (I), получали смесь веществ, состоящую из исходных (II) и (XI), R_f 0,58 и 0,18 соответственно, и двух пар диастереомеров (XII и XIV, XIII и XV), R_f 0,48 и 0,36, 0,26 и 0,29 (II, Г).

Продукты анализировали методом ВЭЖХ.

Препаративное разделение компонентов реакционной массы осуществляли методом ВЭЖХ в системе Н (рис. 2). Смесь диастереомеров (XII)—(XV) подвергалась препаративному разделению адсорбционной хроматографией в системе О (рис. 3). Диастереомеры (XIII) и (XV) разделяли рехроматографией в той же системе.

Выход диастереомера (XII) 0,091 г (14,3%), масло, R_f 0,48 (II, Г), $[\alpha]$, град (λ , нм): +12,85 (589), +16,07 (546), +25,7 (435), +29,6 (407), +38,2 (366), +49,3 (334), +58,9 (312) (c 9,1). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3300 (ОН), 1610, 1580, 1495 (C₆H₅), 1740 (C=O в COOR), 1245, 1230 (C—O в COOR), 1105, 1075, 1030 (C—O в C—O—C). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,70 (с, CH₃), 1,98 (с, 3 CH₃CO). T_R 9,06 мин (O).

Выход диастереомера (XIII) 0,046 г (7,2%), масло, R_f 0,26 (II, Г), $[\alpha]$, град (λ , нм): +13,6 (589), +18,3 (546), +25,7 (435), +43,3 (407), +55,5 (366), +63,5

(334) (*c* 4,6). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,72 (*c*, CH₃), 1,96 (*c*, 3 CH₃CO). T_R 10,78 мин (O).

Выход диастереомера (XIV) 0,081 г (12,7%), R_f 0,36 (II, Г), $[\alpha]$, град (λ , нм): +4,9 (589), +6,8 (546), +9,1 (435), +10,3 (407), +13,9 (334) (*c* 8,1). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,72 (*c*, CH₃), 1,97 (*c*, 3 CH₃CO). T_R 9,53 мин (O).

Выход диастереомера (XV) 0,043 г (6,7%), R_f 0,29 (II, Г), $[\alpha]$, град (λ , нм): -12,9 (589), -16,2 (546), -22,6 (435), -29,0 (407), -40,3 (366), -53,2 (334), -80,6 (312) (*c* 4,3). ¹H-ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,71 (*c*, CH₃), 1,95 (*c*, 3 CH₃CO). T_R 10,82 мин (O).

ИК-спектры диастереомеров (XIV) и (XV) аналогичны описанным для диастереомеров (XII) и (XIII).

1,4-Ди-О-бензил-2,3-О-изопропилиден-сп-мио-инозит (XVI). а) Синтез осуществляли по методике, описанной для соединений (VII), из 0,08 г ортоэфира (XII) в 10 мл сухого дихлорэтана, 0,6 мг TsOH и 0,2 мл метанола, остаток очищали с помощью ВЭЖХ в системе H, T_R 10,7 мин. Выход соединения (XVI) 0,023 г (52,0%), R_f 0,38 (II, Б), $[\alpha]$, град (λ , нм): +3,3 (589), +5,5 (546), +6,9 (435), +7,6 (407), +8,0 (366), +8,8 (334), +9,2 (312) (*c* 2,3). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3300 (ОН), 1600, 1500 (C₆H₅), 1100, 1040 (C—O в C—O—C, C—OH). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 258,5. $\ln \epsilon$ 8,50. Вычислено: $\ln \epsilon$ 8,44.

б) Раствор 0,028 г ортоэфира (XIII), 0,2 мг TsOH и 0,1 мл метанола обрабатывали по методике, указанной для соединения (VII). Выход производного (XVI) 0,01 г (65,1%). Соединение (XVI) по хроматографическим, спектральным характеристикам и данным ДОВ идентично соединению, полученному по методике «а».

1,2-О-Изопропилиден-3,6-ди-О-бензил-сп-мио-инозит (XVIII). а) Раствор 0,07 г ортоэфира (XIV), 0,54 мг TsOH и 0,2 мл метанола обрабатывали по методике, описанной для соединения (VII). Выход производного (XVIII) 0,024 г (62,1%), R_f 0,38 (I, Б), $[\alpha]$, град (λ , нм): -3,1 (589), -5,4 (546), -7,0 (435), -7,8 (407), -8,3 (366), -9,0 (334), -9,3 (312) (*c* 2,4). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3300 (ОН), 1595, 1498 (C₆H₅), 1385, 1360 (C(CH₃)₂), 1200, 1105 (C—O в C—O—C). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 258,5. $\ln \epsilon$ 8,48. Вычислено: $\ln \epsilon$ 8,44.

б) Раствор 0,03 г ортоэфира (XV), 0,23 мг TsOH и 0,1 мл метанола обрабатывали по методике, указанной для соединения (VII). Выход производного (XVIII) 0,01 г (6,1%). Хроматографические, спектральные характеристики и данные ДОВ соединения (XVIII) совпадают с данными для вещества, полученного по методике «а».

1,4,5,6-Тетра-О-бензил-2,3-О-изопропилиден-сп-мио-инозит (XVIII). Смесь 0,038 г производного (XVI), синтезированного из ортоэфиров (XII) и (XIII), 0,12 г порошкообразного гидроксида калия и 0,2 мл хлористого бензила кипятили 19 ч при перемешивании, реакционную массу обрабатывали по методике, описанной для соединения (IX), остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе E. Выход 0,053 г (96,2%), R_f 0,13 (I, В), $[\alpha]$, град (λ , нм): +45,4 (589), +56,4 (546), +94,5 (435), +112,7 (407), +150,1 (366), +200,0 (334) (*c* 0,53). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 1600, 1490 (C₆H₅), 1390, 1370 (C(CH₃)₂), 1190, 1110 (C—O в C—O—C). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 258,5. $\ln \epsilon$ 12,76. Вычислено: $\ln \epsilon$ 12,81.

1,2-О-Изопропилиден-3,4,5,6-тетра-О-бензил-сп-мио-инозит (XIX). Смесь 0,02 г производного (XVIII), синтезированного из ортоэфиров (XIV) и (XV), 0,08 г гидроксида калия и 0,1 мл хлористого бензила кипятили 19 ч при перемешивании, реакционную массу обрабатывали по методике, описанной для соединения (IX). Выход соединения (XIX) 0,0277 г (95,7%), R_f 0,13 (I, В), $[\alpha]$, град (λ , нм): -46,7 (589), -54,3 (546), -92,4 (435), -110,0 (407), -150,0 (366) (*c* 2,77). Спектральные характеристики (XIX) совпадают с характеристиками, приведенными для соединения (XVIII).

1,4,5,6-Тетра-О-бензил-сп-мио-инозит (XX). Раствор 0,02 г соединения (XVIII) в 7 мл 80% водной уксусной кислоты перемешивали 3 ч при 105° С, уксусную кислоту удаляли в вакууме, остаток упаривали с пиридином, растворяли в 5 мл смеси пиридин — вода, 1 : 1, экстрагировали хлороформом (4 × 10 мл), хлороформ

промывали водой, сушили сульфатом натрия, удаляли растворитель, остаток кристаллизовали из метанола. Выход соединения (XX) 0,018 г (96,7%), т.пл. 143—144° С (из метанола) (лит. данные [16]: 141—142° С), R_f 0,12 (I, A), $[\alpha]_{D}^{20} +27,1^\circ$ (с 1,8). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3480 (ОН), 3090, 1605, 1500 (C_6H_5). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 258,5. $\ln \epsilon$ 13,88. Вычислено: $\ln \epsilon$ 13,76.

*3,4,5,6-Тетра-О-бензил-*sn*-мио-инозит (XXI)*. 0,018 г соединения (XIX) в 6 мл 80% уксусной кислоты обрабатывали по методике, приведенной для соединения (XX). Выход производного (XXI) 0,016 г (95,5%), т.пл. 142° С (из метанола) (лит. данные [16]: 141—142° С), $[\alpha]_{D}^{20} -24,0^\circ$ (с 1,6). ИК- и УФ-спектры соединения (XXI) идентичны спектрам 1,4,5,6-тетра-О-бензил-*sn*-мио-инозита (XX).

*Переэтерификация 3,4,6-три-О-ацетил-1,2-О-этилортоацетил- β -D-маннопиранозы (II) 1(3),2-О-циклогексилиден-5,6(4)-ди-О-(дианилидо)фосфо-*sn*-мио-инозитом (XXII)*. Раствор 0,05 г (0,068 ммоль) соединения (XXII) и 0,052 г (0,143 ммоль) 3,4,6-три-О-ацетил-1,2-О-этилортоацетил- β -D-маннопиранозы (II) в 10 мл сухого дихлорэтана и 0,5 мг (0,003 ммоль) TsOH обрабатывали как описано для соединения (I), получали смесь исходных веществ: (II) и (XXII), R_f 0,65 и 0,27 соответственно, и диастереомеров (XXIII)—(XXVI), R_f 0,47, 0,42, 0,37, 0,35 (II, A).

Продукты анализировали методом ВЭЖХ.

*Переэтерификация 3,4,6-три-О-ацетил-1,2-О-этилортоацетил- β -D-маннопиранозы (II) 1(3),4(6)-ди-О-бензил-5,6(4)-ди-О-(дианилидо)фосфо-*sn*-мио-инозитом (XXVII)*. Раствор 0,67 г (0,816 ммоль) 1(3),4(6)-ди-О-бензил-5,6(4)-ди-О-(дианилидо)фосфо-*sn*-мио-инозита (XXVII), 0,615 г (1,634 ммоль) ортоацетата (II) в 15 мл сухого дихлорэтана и 6,1 мг TsOH обрабатывали как описано для соединения (I), получали смесь веществ, состоящую из исходных (II), R_f 0,88, и (XXVII), R_f 0,28, и диастереомеров (XXVIII) и (XXIX), R_f 0,68 и 0,71 (II, D).

Продукты анализировали методом ВЭЖХ.

Препаративное разделение компонентов реакционной смеси методом ВЭЖХ осуществляли в системе растворителей П, выделяли исходные соединения (II) и (XXVII), T_R 7,3 и 18,0 мин соответственно, и два хроматографически гомогенных диастереомера (XXVIII) и (XXIX), T_R 46,7 и 61,6 мин.

Выход диастереомера (XXVIII) 0,210 г (23,2%), т.пл. 192—193° С (из эфира), R_f 0,68 (II, D), $[\alpha]$, град (λ , нм): +27,0 (589), +36,2 (546), +64,1 (435), +79,3 (407), +114,0 (366), +174,2 (334), +257,0 (312) (с 1,65). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3246 (ОН), 3200, 1534 (NH), 1597, 1500 (C_6H_5), 2700, 1220 (P=O), 1040, 1020, 1000 (C—O в C—O—C, C—OH, P—O—C), 829,5 (P—N). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 275. ^1H -ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,74 (с, C—CH₃), 2,00 (с, 3 CH₃CO). T_R 46,7 мин (II).

Выход диастереомера (XXIX) 0,207 г (22,9%), т.пл. 201—202° С (из эфира), R_f 0,71 (II, D), $[\alpha]$, град (λ , нм): -21,1 (589), -23,8 (546), -51,6 (435), -66,6 (407), -104,2 (366), -168,0 (334), -275,1 (312) (с 1,63). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3250 (ОН), 3195 (NH), 1600, 1500 (C_6H_5), 2690, 1220 (P=O), 1040, 1015, 1000 (C—O в C—O—C, C—OH, P—O—C). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 275. ^1H -ЯМР-спектр (δ , м.д.): 1,75 (с, C—CH₃), 1,94, 2,08 (с, 3 CH₃CO). T_R 61,6 мин (II).

*3,6-Ди-О-бензил-4,5-ди-О-(дианилидо)фосфо-*sn*-мио-инозит (XXX)*. 0,38 г ортоэфира (XXVIII) обрабатывали 90 мл 0,1 н. серной кислоты в 90% водном ацетоне при 18—20° С, реакционную смесь перемешивали 10 мин с амберлитом УРА-400 (ОН⁻-форма) до нейтральной реакции, отфильтровывали, промывали хлороформом (20 мл), ацетоном (20 мл), фильтрат упаривали, остаток растворяли в 30 мл хлороформа, сушили сульфатом натрия, вещество (XXX) очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе (Ж). Выход 0,23 г (82,0%), т.пл. 182—183° С (из этанола), R_f 0,28 (II, B), $[\alpha]$, град (λ , нм): +35,1 (589), +44,0 (546), +104,1 (407), +155,2 (366), +239,5 (334), +372,0 (312) (с 2,3). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3300 (ОН), 3200 (NH), 1600, 1500 (C_6H_5), 1240, 1220 (P=O), 1280, 1210, 1200 (C—O в C—O—C, P—O—C), 810 (P—N). УФ-спектр (λ_{max} , нм): 275.

1,4-Ди-О-бензил-5,6-ди-О-(дианилидо)фосфо-*sn*-мио-инозит (XXXI). Соединение (XXXI) получали в условиях, описанных в предыдущей методике, исходя из 0,381 г ортоэфира (XXIX). Выход 0,23 г (81,5%), т.пл. 181° С (из этанола), $[\alpha]_D^{20}$, град (λ, nm): -34,1 (589), -44,2 (546), -106,0 (407), -154,3 (366), -239,0 (334), -380,1 (312) (с 2,3). ИК-, УФ-спектры аналогичны указанным для соединения (XXXI).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Степанов А. Е., Рунова О. Б., Крылова В. Н., Швец В. И., Бочков В. Н., Шлевер Ж., Стюсс Б. // Биоорганическая химия. 1991. Т. 17. № 2. С. 258—267.
2. Швец В. И., Степанов А. Е., Крылова В. Н., Гулак П. В. Мио-Инозит и фосфоинозитиды. М.: Наука, 1987. 248 с.
3. Ozaki S., Watanabe Y., Ogasawara T., Kondo Y., Shiotani N., Nishii H., Matsuki T. // Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 27. P. 3157—3160.
4. Garegg P. J., Lindberg E. // Carbohydr. Res. 1985. V. 139. P. 209—215.
5. Vassa J. P., de Solms S. J., Huff J. R. // J. Amer. Chem. Soc. 1987. V. 109. № 11. P. 3478—3479.
6. Кляцицкий Б. А., Швец В. И. // Успехи химии. 1974. Т. 41. В. 7. С. 1315—1334.
7. Кляцицкий Б. А., Швец В. И., Преображенский Н. А. // Журн. орган. химии. 1969. Т. 5. В. 1. С. 192—193.
8. Швец В. И., Евстигнеева Р. П. // Журн. орган. химии. 1972. Т. 8. В. 7. С. 1550—1552.
9. Gigg J., Gigg R., Payne S., Conant R. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1987. № 2. P. 423—429.
10. Люттик А. И., Крылова В. Н., Козлова С. П., Кляцицкий Б. А., Швец В. И., Евстигнеева Р. П., Жданович Е. С. // Журн общей химии. 1971. Т. 41. № 12. С. 2747—2763.
11. Крылова В. Н., Горнаева Н. П., Олейник Г. Ф., Швец В. И. // Журн. орган. химии. 1980. Т. 16. В. 2. С. 315—322.
12. Садовникова А. Е., Кузнецова З. П., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. // Журн. орган. химии. 1975. Т. 11. В. 6. С. 1211—1217.
13. Степанов А. Е., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. // Биоорганическая химия. 1976. Т. 2. № 12. С. 1618—1626.
14. Крылова В. Н., Люттик А. И., Кобелькова Н. И., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. // Журн. орган. химии. 1978. Т. 14. В. 9. С. 1858—1863.
15. Степанов А. Е., Кляцицкий Б. А., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. // Биоорганическая химия. 1976. Т. 2. № 12. С. 1627—1633.
16. Крылова В. Н., Кобелькова Н. И., Олейник Г. Ф., Швец В. И. // Журн. орган. химии. 1980. Т. 16. В. 1. С. 68—73.

Поступила в редакцию
20.VIII.1992

После доработки
2.XII.1992

O. B. Runova*, V. N. Krylova, N. S. Shastina, S. V. Eremin,
A. E. Stepanov, V. I. Shvets

STUDIES ON ASYMMETRICALLY SUBSTITUTED DERIVATIVES OF MYO-INOSITOL. XXXVI. RESOLUTION OF DIASTEREOMERIC CARBOHYDRATE DERIVATIVES OF MYO-INOSITOL BY HPLC

M.V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow;
*Research Centre of Molecular Diagnostics, Moscow

Efficiency of high-performance liquid chromatography is shown in resolution of diastereomeric *myo*-inositol derivatives obtained in reesterification conditions of racemic derivatives of *myo*-inositol by *D*-mannose ethyl ortho acetate. The optically active compounds so obtained can be used in synthesis of various *myo*-inositol phosphates.