



УДК 547.953 : 542.95

СИНТЕЗ 1-О-АЛКИЛ-2-АЦИЛ-*sn*-ГЛИЦЕРО-3-ФОСФОРИЛ-
ЭТАНОЛАМИНОВ (ХОЛИНОВ)*Розин А. Э., Василенко И. А., Гудкова С. Ф.,
Серебрянникова Г. А., Евстигневса Р. П.**Московский институт тонкой химической технологии
им. М. В. Ломоносова*

Описан препаративный синтез 1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицеро-3-фосфорилэтанол-аминов (холлинов), основанный на фосфорилировании 1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицеринов β -фталимидоэтилдихлорфосфатом и β -хлорэтилдихлорфосфатом. Обсуждаются условия фосфорилирования и снятия защитных групп. Исследованы физико-химические и оптические свойства синтезированных соединений.

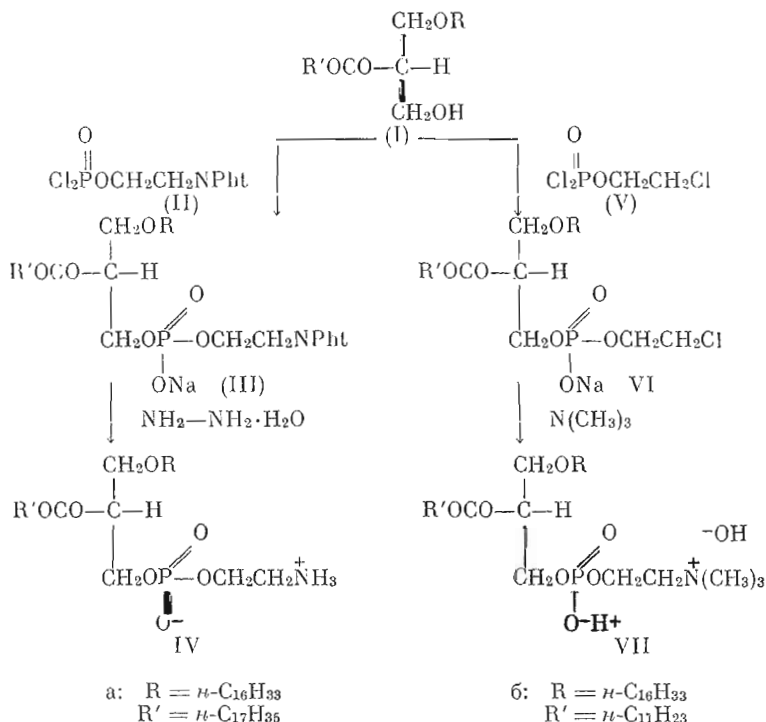
Большое число биофизических и биохимических исследований, проводимых в последние годы [1], по изучению роли липидов с простой эфирной связью в функционировании биологических структур определяют актуальность поиска препаративных методов синтеза фосфолипидов алкильного типа. Это обусловлено тем, что используемые при получении данного типа липидов 1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицерины были труднодоступны: основным путем их получения был ферментативный гидролиз 1-О-алкил-2,3-диацил-*sn*-глицеринов панкреатической липазой [2]. Синтезы, основанные на фосфорилировании соответствующих йодглицеринов серебряными солями защищенных фосфорных кислот, несмотря на ряд достоинств, все же многостадийны и трудоемки.

Разработанный нами ранее препаративный универсальный метод синтеза диглицеридов алкильного [3], ацильного и алкенильного типа [4] с использованием трифенилсилильной защитной группировки позволяет применять для получения алкильных фосфолипидов наиболее удобные и перспективные методы фосфорилирования.

В данной работе предложен препаративный метод синтеза алкильных фосфолипидов природной стереохимической конфигурации с использованием приемов, разработанных при синтезах фосфолипидов диацильного типа, ранее модифицированных и примененных нами для получения альдегидогенных соединений [5]. С целью синтеза фосфатидилэтанол-амина и фосфатидилхолина алкильного типа использовался метод фосфорилирования 1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицеринов (Ia) и (Iб) алкилдихлорфосфатами — β -фталимидоэтилдихлорфосфатом [6] (II) и β -хлорэтилдихлорфосфатом (V) [7].

Фосфорилирование соединений (Ia) и (Iб) дихлорфосфатами (II) и (V) проводилось при -20° с использованием четырехкратного избытка фосфорилирующего агента. Гидролиз промежуточных хлорфосфатов проводили насыщенным раствором Na_2CO_3 с целью выделения фосфатов (III) и (VI) в виде хорошо кристаллизующихся натриевых солей, которые очи-

щали хроматографированием. Снятие фталоильной защитной группировки осуществлялось гидразинолизом по измененной методике, впервые использованной нами в синтезе фосфатидальэтанолamina [5]. Удаление защитной группировки проводили в растворе вода — метанол (1 : 3) с двукратным избытком гидразингидрата. В результате изменения условий выход повысился до 77—78% по сравнению с ранее приведенным (60%) [8]. При удалении фталилгидразида из реакционной массы использовалась его плохая растворимость в хлороформе.



Кватернизацию соединения (VI) проводили по известной методике [2].

1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицеро-3-фосфорилэтанолamin (IV) и 1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицеро-3-фосфорилхолин (VII) в виде натриевых солей очищали хроматографированием на силикагеле и затем с помощью ионообменной хроматографии переводили в свободные фосфаты. Такая последовательность обработки позволяет избежать захвата различных катионов свободными фосфатами при контакте с сорбентами, стеклом и т. д.

Структура и индивидуальность синтезированных соединений была подтверждена с помощью ИК-спектроскопии, элементного анализа, ТСХ и путем сравнения хроматографической подвижности синтезированных соединений и их диацильных и альдегидогенных аналогов. Изучены оптические свойства синтезированных соединений.

Экспериментальная часть

Данные ДОВ получены на фотоэлектрическом спектрополяриметре СПУ-4М при 20° в хлороформе (*c* 1) для соединений (IIIa), (IIIб), (VIa), (VIб) и хлороформе — метаном (1 : 1, *c* 0,5) для соединений (IVa), (IVб), (VIIa), (VIIб). ИК-спектры сняты в таблетке с КВг на спектрофотометре «Perkin-Elmer» (США). ТСХ проведена на силикагеле Л1 5/40 μ («Chemapol», ЧССР) в системе хлороформ — метанол — ацетон — аммиак, 15 : 7 : 5 : 1. Данные элементного анализа удовлетворительно соответствуют расчетным.

1-О-гексадецил-2-стеароил-sn-глицеро-3-(β-фталимидоэтил)фосфат натрия (IIIa). К раствору 2,11 г β-фталимидоэтилдихлорфосфата (II) в 25 мл сухого хлороформа при -20° прибавляли по каплям при перемешивании (40 мин) раствор 1,085 г 1-О-гексадецил-2-стеароил-*sn*-глицерина (Ia) в 20 мл сухого хлороформа и 1,1 мл безводного пиридина. Реакционную массу перемешивали 3 ч, оставляли стоять на 48 ч при $18-20^{\circ}$ и затем перемешивали 2 ч с водным раствором 2,2 г Na_2CO_3 . Смесь упаривали досуха, остаток очищали хроматографированием на силикагеле (20 г). Малополярные примеси элюировали хлороформом, вещество — хлороформом с 5% метанола. Выход 1,31 г (82%), т. пл. $46-48^{\circ}$, R_f 0,6. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} -2,4^{\circ}$; $[\alpha]_{467} -3,4^{\circ}$; $[\alpha]_{397} -4,0^{\circ}$; $[\alpha]_{354} -4,4^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2830, 1730, 1620, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950.

1-О-гексадецил-2-лауроил-sn-глицеро-3-(β-фталимидоэтил)фосфат натрия (IIIб) получали из 0,445 г 1-О-гексадецил-2-лауроил-*sn*-глицерина (Iб) по приведенной выше методике. Выход 0,57 г (82,6%), т. пл. $27-29^{\circ}$, R_f 0,6. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} -2,8^{\circ}$; $[\alpha]_{467} -3,2^{\circ}$; $[\alpha]_{397} -4,0^{\circ}$; $[\alpha]_{354} -4,8^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2830, 1730, 1620, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950.

1-О-гексадецил-2-стеароил-sn-глицеро-3-(β-аминоэтил)фосфат (IVa). К раствору 0,42 г натриевой соли (IIIa) в 15 мл смеси метанол — вода (3 : 1) добавляли 0,05 г гидразингидрата и кипятили 2 ч. Реакционную массу упаривали досуха, остаток растворяли в 10 мл нагретого до 40° хлороформа, отфильтровывали осадок фталилгидразида, промывали его нагретым до 40° хлороформом. Объединенный фильтрат упаривали и остаток хроматографировали на силикагеле Л (15 г). Малополярные примеси элюировали смесью хлороформ — метанол (15 : 1), вещество — смесью хлороформ — метанол (4 : 1). Полученную натриевую соль фосфолипида пропускали через ионообменник IRC-50. 1-О-гексадецил-2-стеароил-*sn*-глицеро-3-(β-аминоэтил)фосфат (IVa) элюировали смесью метанол — вода (9 : 1). Выход 0,274 г (77,0%), т. пл. $197-199^{\circ}$, R_f 0,45. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} +2,4^{\circ}$; $[\alpha]_{517,3} +4,0^{\circ}$; $[\alpha]_{467} +4,8^{\circ}$; $[\alpha]_{397} +6,0^{\circ}$; $[\alpha]_{373} +6,4^{\circ}$; $[\alpha]_{354} +7,2^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2860, 1730, 1640, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950.

1-О-гексадецил-2-лауроил-sn-глицеро-3-(β-аминоэтил)фосфат (IVб) синтезировали из 0,35 г натриевой соли (IIIб), как описано для фосфолипида (IVa). Выход 0,22 г (78,2%), R_f 0,45. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} +2,4^{\circ}$; $[\alpha]_{517,3} +4,0^{\circ}$; $[\alpha]_{467} +4,8^{\circ}$; $[\alpha]_{397} +6,0^{\circ}$; $[\alpha]_{373} +6,4^{\circ}$; $[\alpha]_{354} +7,2^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2860, 1730, 1640, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950.

1-О-гексадецил-2-стеароил-sn-глицеро-3-(β-хлорэтил)фосфат натрия (VIa). К раствору 2,7 г β-хлорэтилдихлорфосфата [9] в 25 мл безводного хлороформа прибавляли по каплям (40 мин) при -20° раствор 1,99 г 1-О-гексадецил-2-стеароил-*sn*-глицерина (Ia) в 20 мл безводного хлороформа и 2,2 мл безводного пиридина. Реакционную массу перемешивали 3 ч, выдерживали 48 ч при $18-20^{\circ}$, обрабатывали при перемешивании водным раствором Na_2CO_3 . Затем реакционную смесь упаривали досуха, остаток хроматографировали на силикагеле Л. Малополярные примеси элюировали хлороформом, вещество — хлороформом с 15% метанола. Выход 1,75 г (68,6%), т. пл. $79-80^{\circ}$, R_f 0,5. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} -3,8^{\circ}$; $[\alpha]_{467} -6,6^{\circ}$; $[\alpha]_{397} -13,2^{\circ}$; $[\alpha]_{354} -17,2^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2860, 1730, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950, 770.

1-О-гексадецил-2-лауроил-sn-глицеро-3-(β-хлорэтил)фосфат натрия (VIб) получали из 0,7 г 1-О-гексадецил-2-лауроил-*sn*-глицерина (Iб) по приведенной для фосфолипида (VIa) методике. Выход 0,65 г (70,0%), т. пл. $58-60^{\circ}$, R_f 0,5. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} -6,6^{\circ}$; $[\alpha]_{467} -10^{\circ}$; $[\alpha]_{397} -13,6^{\circ}$; $[\alpha]_{354} -15,4^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2860, 1730, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950, 770.

1-О-гексадецил-2-стеароил-*sn*-глицеро-3-фосфорилхолин (VIIa). В ампулу с раствором 0,5 г натриевой соли (VIa) в 3 мл безводного бензола при -20° добавляли 2 мл триметиламина. Запаянную ампулу выдерживали 72 ч при 80° , затем реакционную массу упаривали досуха и остаток очищали хроматографированием на кремневой кислоте. Малополярные примеси элюировали хлороформом с 5% метанола, вещество — хлороформом с 30% метанола. Полученную натриевую соль фосфолипида (VIIa) пропускали через ионообменник, элюировали смесью метанол — вода (10 : 1). Выход 0,37 г (73,6%), т. пл. $207-209^{\circ}$, R_f 0,14. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} +4,0^{\circ}$; $[\alpha]_{517,3} +4,8^{\circ}$; $[\alpha]_{467} +5,6^{\circ}$; $[\alpha]_{427,5} +6,0^{\circ}$; $[\alpha]_{397} +7,2^{\circ}$; $[\alpha]_{373} +8,0^{\circ}$; $[\alpha]_{353} +9,6^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2860, 1730, 1320, 1230, 1110, 1080, 1050, 950.

1-О-гексадецил-2-лауроил-*sn*-глицеро-3-фосфорилхолин (VIIb) синтезировали из 0,35 г натриевой соли (VIb), как описано для (VIIa). Выход 0,252 г (72%), т. пл. $189-190^{\circ}$, R_f 0,14. Данные ДОВ (при 20°): $[\alpha]_{589} +6,0^{\circ}$; $[\alpha]_{517,3} +8,8^{\circ}$; $[\alpha]_{467} +10^{\circ}$; $[\alpha]_{427,5} +12,4^{\circ}$; $[\alpha]_{397} +14,8^{\circ}$; $[\alpha]_{373} +18,8^{\circ}$. ИК-спектр (см^{-1}): 2940, 2860, 1730, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950.

ЛИТЕРАТУРА

1. Snyder F. (1972) *Ether Lipids*, pp. 158—177, Acad. Press.
2. Paltauf F. (1973) *Chem. Phys. Lipids*, **11**, 270—294.
3. Розин А. Э., Гудкова С. Ф., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) *Ж. орган. химии* **11**, 2308—2311.
4. Василенко И. А., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) *Биоорганической химии*, **1**, 56—60.
5. Василенко И. А., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) *Биоорганической химии*, 1307—1312.
6. Hirt R., Berchtold R. (1957) *Helv. chim. acta*, **40**, 1928—1932.
7. Shapiro D., Flowers H. M., Spector-Shefer S. (1958) *J. Amer. Chem. Soc.*, **80**, 2339—2346.
8. Дорофеева Л. Т., Толкачев О. Н., Преображенский Н. А. (1961) *Ж. общ. химии*, **33**, 2880—2883.
9. Ronshaw R. R., Hopkins C. J. (1929) *J. Amer. Chem. Soc.*, **51**, 963—967.

Поступила в редакцию
26.V.1975

SYNTHESIS OF 1-O-ALKYL-2-ACYL-*sn*-GLYCERO-3-PHOSPHORYL ETHANOLAMINE AND 1-O-ALKYL-2-ACYL-*sn*-GLYCERO-3-PHOSPHORYL CHOLINE

ROZIN A. E., VASILENKO I. A., GUDKOVA S. F.,
SEREBRENNIKOVA G. A., EVSTIGNEEVA R. P.

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

The synthesis of 1-O-alkyl-2-acyl-*sn*-glycero-3-phosphoryl ethanolamine (choline) from 1-O-alkyl-2-acyl-*sn*-glycerol is described. The conditions of phosphorylation of the latter compound with phosphorodichloridate 2-phthalimidoethyl and of the protecting groups removal are discussed. Physical and chemical properties of the compounds synthesized are studied.