



УДК 547.426.2

## АНИЛИДОФОСФИТЫ — ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ ВЕЩЕСТВА ФОСФОЛИПИДНОГО СИНТЕЗА

*Предводители Д. А., Грачев М. Б., Нифантьев Э. Б.*

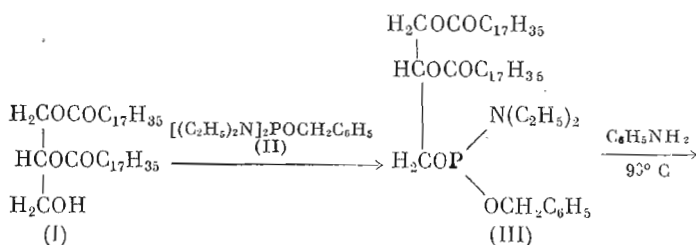
*Московский государственный педагогический институт им. В. И. Ленина*

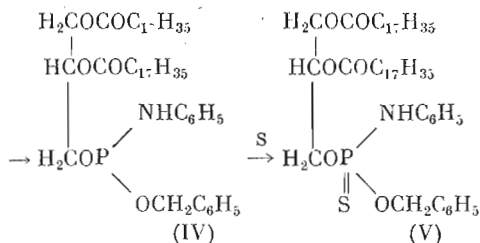
Предложен подход к синтезу фосфатидных кислот на основе анилидофосфитов 1,2-дистеароил-(1,2-О-изопропилиден)-*rac*-глицерина. Обнаружено явление окислительной десульфуризации анилидотиофосфатов при обработке их изоамилнитритом.

В литературе описано получение ряда фосфолипидов на основе средних глицероанилидофосфатов. Последние образуются путем фосфорилирования соответствующих глицеридов хлорангидридами анилидофосфорных кислот [1—3]. Границы применения такого подхода не определены, и еще не ясны преимущества этого метода перед родственными вариантами, базирующимися на применении других реагентов пентавалентного фосфора.

Целью настоящей работы, продолжающей цикл исследований по синтезу фосфатидных кислот и их аналогов на основе фосфитов и амидофосфитов глицерина [4, 5], является поиск новых решений в использовании фосфоанилидной защиты. В качестве ключевых промежуточных веществ синтеза были выбраны ранее неизвестные глицероанилидофосфиты, которые введены в некоторые превращения, еще нетрадиционные для химии фосфолипидов, но перспективные для получения фосфатидных кислот.

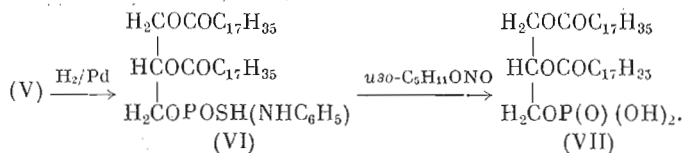
Работа включает в себя две связанные между собой синтетические линии. В первой из них исходным веществом является бензилдиэтиламинофосфит 1,2-дистеароил-*rac*-глицерина (II), легко образующийся из 1,2-дистеароил-*rac*-глицерина (I) и бензилтетраэтилдиамидофосфита (II). Диэтиламинофосфит (III) при обработке анилином претерпевает переамидирование до анилидофосфита (IV). Анилидофосфит (IV) в отличие от других производных трехвалентного фосфора окисляется с образованием смеси веществ, но гладко присоединяет серу, превращаясь в анилидотиофосфат (V) (способ *a*):





Анилидотиофосфат (V) выделен с выходом 41% (считая на 3 стадии синтеза). Его индивидуальность показана методами ТСХ и  $^{31}\text{P}$ -ЯМР. Наличие сигнала при  $-66$  м.д. подтверждает его тионное строение. Строение углеродистых фрагментов молекулы подтверждено спектрами ПМР (см. «Экспериментальную часть»)\*.

При гидрогенолизе анилидотионфосфата (V) над палладиевой чернью образуется кислый анилидотиофосфат (VI), который путем обработки изоамилнитритом претерпевает дезамидирование и окислительную десульфуризацию:

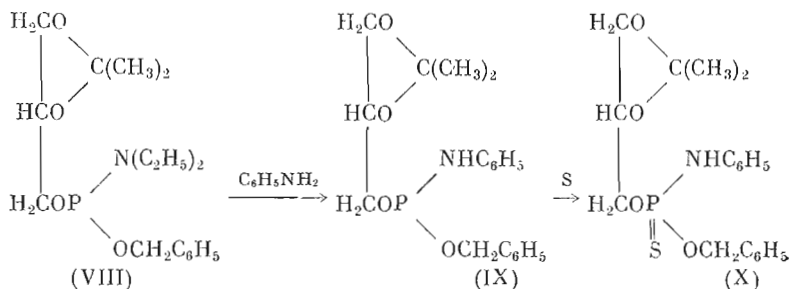


Выход фосфатидной кислоты (VII) на две стадии 42,1%. По своим свойствам полученный продукт полностью соответствует образцу, синтезированному в работе [4].

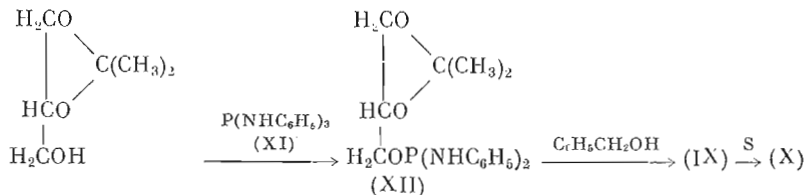
С целью проверки общности найденной реакции обессеривания тионпроизводных фосфора в аналогичных условиях диэтилтионфосфат ( $\delta_{\text{TP}}$  (диоксан) =  $-58$  м.д.) обработан изоамилнитритом и было фиксировано образование диэтилфосфата ( $\delta_{\text{TP}}$  (диоксан) =  $+1,05$  м.д.).

Второй вариант синтеза основан на использовании амидофосфитов 1,2-изопропилиденглицерина:

Способ а



Способ б

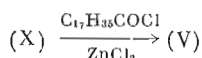


Получение амидофосфита (VIII) описано нами ранее [8]. Дианилидофосфит 1,2-О-изопропилиденглицерина (XII) синтезирован нами впервые. Его алкоголиз, как и алкоголиз других анилидофосфитов [6], проходит в

\* Строение других полученных соединений доказывалось аналогично.

мягких условиях (реакция начинается уже при комнатной температуре), что привлекательно для решения задач биорганической химии.

Авидотионфосфат (X) подобно другим кеталам фосфоглицеринов [4] ацилируется стеароилхлоридом в присутствии хлористого цинка (способ б):



Используемый метод применительно к средним фосфатам не всегда дает хорошие результаты из-за частичного дезалкилирования образующихся продуктов хлористым водородом. Тионфосфаты в этом отношении имеют преимущество из-за относительной пассивности в дезалкилировании [4]. Таким образом, предложенный нами способ синтеза фосфатидных кислот на основе производных кислот трехвалентного фосфора, предполагающий сульфуризацию анилидофосфитных интермедиатов, а не их окисление, является целесообразным.

Следует отметить, что в спектрах  $^{31}\text{P}$ -ЯМР соединений (IX) и (X) проявляется диастереомерная анизохронность, обнаруженная нами ранее [7–9], а затем и другими исследователями для подобных систем [2]. Кроме этого для соединения (X) в спектрах ПМР фиксирована диастереотопность для метиленовых протонов бензильной группы (два дублета).

### Экспериментальная часть

Все синтезы с применением производных трехвалентного фосфора проводили в атмосфере сухого аргона. Колоночную хроматографию и выделение соединений на пластинках осуществляли на окиси алюминия (II степень активности по Брокману, Венгрия) и на силикагеле L 40/100 мкм (ЧССР); ТСХ — на окиси алюминия в системах бензол — диоксан, 3 : 1 (А), гексан — диоксан, 4 : 1 (Б), и на силикагеле L 5/40 мкм в системах хлороформ — метанол, 14 : 1 (В), бензол — этилацетат, 4 : 1 (Г), хлороформ — метанол, 3 : 1 (Д). Обнаружение при ТСХ осуществляли парами иода, молибденовым реагентом [10] с последующим прокаливанием при 200–300° С, а в случае серосодержащих соединений — также опрыскиванием пластинок 1% водным раствором  $\text{AgNO}_3$ .

Спектры ПМР снимали на приборе BS-487-С (Tesla, ЧССР,  $\nu_0$  60 МГц), внутренний стандарт — тетраметилсилан. Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР- $\{^1\text{H}\}$  снимали на приборах WP-60 при частоте 24,28 МГц и НХ-90 при частоте 36,43 МГц (Bruker, ФРГ), внешний стандарт — 85% фосфорная кислота.

О-Бензилтетраэтилдиамидофосфит (II) и (1,2-О-изопропилиден-глицеро-3)-О-бензильдиэтиламидофосфит (VIII) получали по методу [8], триаиллидофосфит (XI) — по методу [11].

*1,2-Дистеароил-глицеро-3-О-бензилалилдотионфосфат (V)*. Способ а. 0,86 г 1,2-дистеарина (I) и 0,39 г амидофосфита (II) нагревали 1 ч при 100° С и давлении 65 кПа;  $R_f$  амидофосфита (III) 0,91 (А), 0,70 (Б).

Неочищенный амидофосфит (III) и 1,4 г анилина нагревали 6 ч при 90° С и 65 кПа;  $R_f$  анилидофосфита (IV) 0,96 (А), 0,75 (Б).

Образовавшийся неочищенный анилидофосфит (IV) и 0,044 г серы в 1 мл бензола нагревали 2 ч при 45° С. Раствор фильтровали, упаривали в вакууме и выделяли тионфосфат (V) препаративным хроматографированием на пластинках с силикагелем с применением системы В. Продукт с силикагеля экстрагировали смесью хлороформ — метанол, 4 : 1. Растворители удаляли в вакууме, а остаток тионфосфата (V) сушили 4 ч при 30° С в вакууме  $1 \cdot 10^{-4}$  Па. Выход 0,495 г (40,8%), т. пл. 40–41° С (метанол);  $R_f$  0,82 (Б), 0,83 (В), 0,72 (Г). Спектр ПМР ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0,9 т (6 H,  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ), 1,28 м (60 H,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_2$ ), 2,24 т (4 H,  $\text{CH}_2\text{OCO}$ ), 4,1 м (4 H,  $\text{CH}_2\text{CHCH}_2$ ); 4,8–5,2 м (3 H,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{O}$ ), 7,1–

7,3 м (11 Н,  $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{CHCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): синглет — 65,2. Найдено, %: С 70,82; Н 10,32; Р 3,45.  $\text{C}_{52}\text{H}_{88}\text{NO}_6\text{PS}$ . Вычислено, %: С 70,50; Н 10,04; Р 3,50.

*Способ б.* 1,65 г тиофосфата (X), 3,83 г хлорангидрида стеароилхлорида и 0,12 г  $\text{ZnCl}_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$  выдерживали в токе аргона 2 ч при 40° С. Реакционную смесь растворяли в 5 мл системы В и фильтровали через слой (диаметр 4 см) окиси алюминия (50 г), элюируя 45 мл системы В. Растворители удаляли в вакууме и тиофосфат (V) выделяли как в способе а. Выход 1,79 г (48,1%).

*1,2-Дистеароил-гас-глицеро-3-фосфат (VII).* 0,302 г анилидотиофосфата (V) гидрировали в смеси хлороформ — метанол, 1:1, в присутствии 0,4 г палладиевой черни в течение 13 ч при 20° С. Катализатор отделяли центрифугированием, промывали хлороформом и раствор упаривали в вакууме;  $R_f$  кислого тиофосфата (VI) 0,74 (В), 0,63 (Г).

Неочищенный тиофосфат (VI) растворяли в 5 мл смеси пиридин — уксусная кислота, 1:1, при 40° С; охлаждали до 20° С, добавляли 2 мл свежеперегнанного изоамилнитрита и выдерживали смесь 12 ч при 20° С. Затем добавляли 2 мл пиридина и упаривали раствор при 40° С в вакууме 70 Па, эту операцию повторяли дважды. Остаток растворяли в 5 мл хлороформа, промывали 5 мл 2%  $\text{HCl}$ , водой (2 раза по 5 мл) и сушили раствор над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Фосфатидную кислоту (VII) выделяли на пластинках с силикагелем в системе хлороформ — метанол, 3:1, продукт с силикагеля элюировали системой хлороформ — метанол, 1:1. Выход 0,101 г (42,1%). Физико-химические характеристики аналогичны образцу, полученному по методу [4].

*(1,2-О-Изопропилиден-гас-глицеро-3)-О-бензиланилидотиофосфат (X).* *Способ в.* Аналогично синтезу соединения (IV) из 4,95 г амидофосфита (VIII) и 1,36 г анилина получали анилидофосфит (IX);  $R_f$  0,92 (А), 0,53 (Б). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{C}_6\text{H}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): синглеты — 132,53; — 132,34.

Раствор неочищенного анилидофосфита (IX) и 0,512 г серы в 10 мл бензола нагревали 2 ч при 45° С. Бензол отгоняли в вакууме, а соединение (X) выделяли на колонке (диаметр 3 см) с окисью алюминия (250 г), элюируя системой Б. Продукт (X) — бледно-желтое вязкое масло, стабильное при хранении. Выход 5,56 г (65,6%);  $R_f$  0,83 (А), 0,46 (Б), 0,81 (В), 0,72 (Г). Спектр ПМР ( $\text{CCl}_4$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,22; 1,29 два с [6 Н,  $(\text{CH}_3)_2\text{C} \begin{array}{l} \diagup \\ \diagdown \end{array}$  ], 4,0 м (5 Н,  $\text{OCH}_2\text{CHCH}_2\text{O}$ ), 4,9; 5,0 два д (2 Н,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $^3J_{\text{PCH}}$  6 Гц), 6,2 д (1 Н;  $\text{NH}$ ,  $^2J_{\text{PNH}}$  13,5 Гц), 6,9—7,2 м (10 Н,  $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{C}_6\text{H}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): синглеты — 64,8; — 64,9. Найдено, %: С 58,25; Н 6,05; Р 7,57.  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{NO}_4\text{PS}$ . Вычислено, %: С 57,94; Н 6,15; Р 7,87.

*Способ г.* Смесь 3,71 г трианилидофосфита (XI) ( $R_f$  0,91 (А), 0,75 (Б)) и 1,98 г 1,2-О-изопропилиденглицерина нагревали 4 ч при 40° С;  $R_f$  дианилидофосфита (XII) 0,82 (А), 0,63 (Б). Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{C}_6\text{H}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): синглет — 105,1.

К неочищенному дианилидофосфиту (XII) добавляли 1,62 г бензилового спирта и нагревали реакционную смесь 4 ч при 35° С. К раствору неочищенного анилидофосфита (IX) в 5 мл бензола добавляли 0,48 г серы и получали соединение (X) как в методе в. Выход 1,77 г (30%).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Lammers J. G., van Boom J. H. Synthesis of phosphotriester intermediates (preliminary communication). — Rec. trav. chim., 1977, v. 96, № 7—8, p. 216—218.
2. Lammers J. G., van Boom J. H. Synthesis of phosphotriester intermediates. — Rec. trav. chim., 1979, v. 98, № 4, p. 243—250.
3. Крылова В. Н., Горнаева Н. П., Швец В. И., Евстигнеева Р. И. Синтез трифосфоинозитида. — Докл. АН СССР, 1979, т. 246, № 2, с. 339—340.

4. *Нифантьев Э. Е., Предводителев Д. А., Смирнова Л. И., Фурсенко И. В.* Ацилирование ацеталей и кеталей глицеринов. Новый синтез диацетилбензилглицеринов и фосфатидных кислот.— *Биоорганическая химия*, 1980, т. 6, № 9, с. 1346—1354.
5. *Предводителев Д. А., Смирнова Л. И., Смирнов М. Б., Нифантьев Э. Е.* К вопросу об ацильной миграции при синтезе фосфатидных кислот на основе ацеталей и кеталей фосфоглицеридов.— *Докл. АН СССР*, 1981, т. 256, № 2, с. 402—406.
6. *Нифантьев Э. Е., Иванова Н. Л., Предводителев Д. А.* Алкоголиз ариламинов фосфористых кислот.— *Докл. АН СССР*, 1976, т. 228, № 2, с. 357—359.
7. *Нифантьев Э. Е., Предводителев Д. А., Грачев М. К., Шин Ю. А.* 2-Глико-1,3,2-диоксафосфоринаны. Синтез и явление диастереомерной анизохронности в спектрах ЯМР  $^{31}\text{P}$ .— *Докл. АН СССР*, 1977, т. 235, № 3, с. 595—598.
8. *Предводителев Д. А., Грачев М. К., Смирнов М. Б., Нифантьев Э. Е.* Синтез и спектры ЯМР  $^{61}\text{P}$ -(1,2-дистеароил-*rac*-глицеро-3-фосфо)мальтозы.— *Биоорганическая химия*, 1979, т. 5, № 10, с. 1509—1514.
9. *Аларкон Х. Х., Предводителев Д. А., Нифантьев Э. Е.* Синтез липидов и их моделей на основе алкиленфосфитов. III. Метилфосфоновые аналоги фосфатидилхолинов и *N,N*-диметилфосфатидилэтаноламинов.— *Биоорганическая химия*, 1978, т. 4, № 11, с. 1513—1519.
10. *Dittmer J. C., Lester R. L.* A simple, specific spray for the detection of phospholipids on thin-layer chromatograms.— *J. Lipids Res.*, 1964, v. 5, № 1, p. 126—127.
11. *Гришин Ю. Г., Чистоклетов В. Н., Косовцев В. В., Петров А. А.* Синтез и свойства три(моноарил)амидов фосфористой кислоты.— *Ж. орган. химии*, 1975, т. 11, № 8, с. 1752—1755.

Поступила в редакцию  
11.VI.1980

## ANILIDOPHOSPHITES — THE INTERMEDIATES FOR SYNTHESIS OF PHOSPHOLIPIDS

PREDVODITELEV D. A., GRACHEV M. K., NIFANTYEV E. E.

*V. I. Lenin State Pedagogical Institute, Moscow*

On the basis of 1,2-distearoyl-(1,2-O-isopropylidene)-*rac*-glycerol anilidophosphites, a route to the synthesis of phosphatidic acid was proposed. The phenomenon of oxidative desulphurisation of anilidothiophosphates was observed upon their treatment with isoamylnitrite.