



УДК 577.115:547.953.057

СИНТЕЗ ТИОАНАЛОГОВ ФАКТОРА АКТИВАЦИИ
ТРОМБОЦИТОВ (ФАТ)

Гордеев К. Ю., Серебrenникова Г. А., Евстигнеева Р. П.

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

Тиоалкильный, тиацетильный и фосфотионовый аналоги ФАТ синтезировали по единой схеме из соответствующих моноалкиловых эфиров глицерина через промежуточные рацемические фосфатидилхолины, которые расщепляли фосфолипазой A_2 с целью выделения природного изомера.

Фактор активации тромбоцитов (ФАТ) * в последние годы активно исследуется в лабораториях различных стран. Такой интерес к нему обусловлен его широкой распространенностью в природе и уникальным комплексом биологической активности (иммуностимуляция, медиация анафилактики, тромбоцитагрегирующее и антигипертензивное действие, способность к инициации хемотаксиса и хемотаксиса, лизиса тромбоцитов и многоядерных лейкоцитов, противоопухолевое действие [1]). Одним из направлений изучения различных сторон активности этого соединения является его химическая модификация, дающая возможность установить взаимосвязь структуры и физиологических свойств.

В ряде работ описаны серосодержащие аналоги ФАТ, полученные замещением кислорода на серу в различных положениях молекулы [2—7]; отмечено, что такая модификация делает аналоги по сравнению с самим ФАТ более цитотоксичными [2—4], повышает длительность их действия в организме [5, 6].

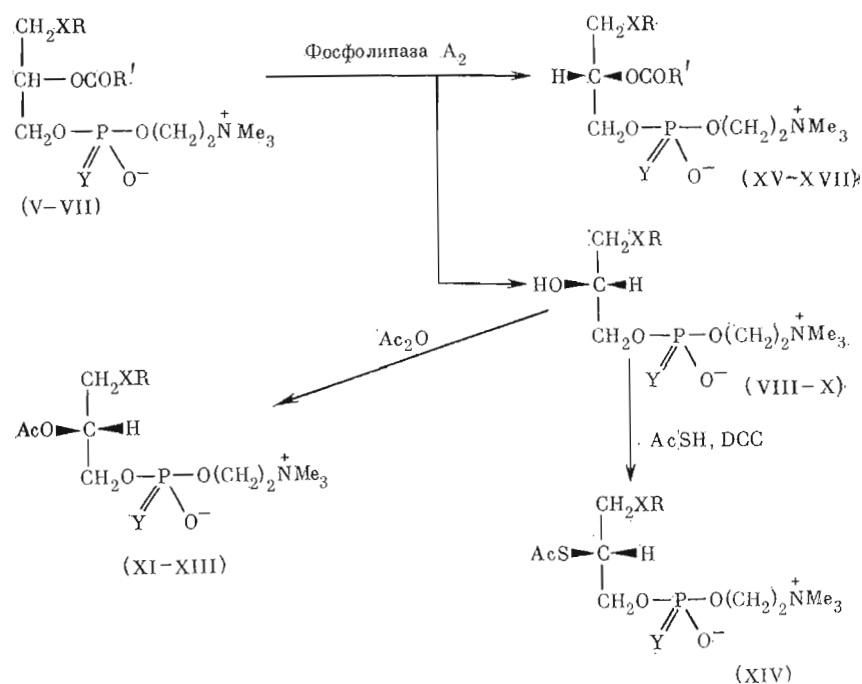
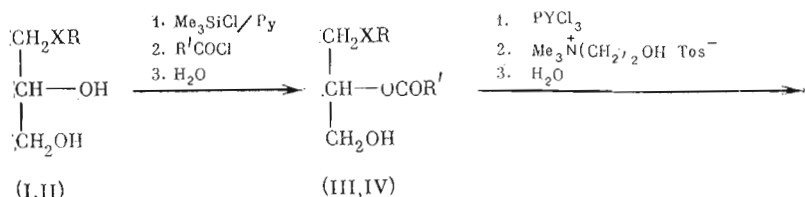
Целью данной работы была разработка удобного пути синтеза тиаалкильного (XIII), тиацетильного (XIV) и фосфотионового (XII) аналогов ФАТ, веществ, описанных ранее [2—7]. Синтез их проведен по единой схеме, основанной на получении соответствующих *O*- и *S*-алкиловых рацемических фосфолипидов с последующим расщеплением их фосфолипазой A_2 (КФ 3.1.1.4) с целью выделения природного изомера. Этот метод уже неоднократно использовался для разделения рацемических липидных смесей на оптические изомеры [8]. В качестве исходных соединений для синтеза тиааналогов ФАТ были использованы *rac*-1-октадецилглицерин (I) [5] и *rac*-1-октадецилтиопропан-2,3-диол (II) [9], синтезированные известными методами из *rac*-1,2-изопропилиденглицерина и *rac*-1-бром-2,3-изопропилиденпропандиола соответственно.

Монозамещенные производные глицерина (I, II) переводили в соответствующие диглицериды (III, IV) описанным методом [10]. Их обрабатывали триметилхлорсиланом в присутствии пиридина при -20°C , в этих условиях силилированию подвергается преимущественно 3-ОН-группа. Продукты силилирования без выделения ацилировали хлорангидридом миристиновой кислоты при 0°C с последующим удалением защитной группы обработкой водой. Фосфорилирование полученных диглицеридов (III, VI) проводили по Брокерхофу [11] — взаимодействием с хлороксидом или тиохлороксидом фосфора и затем с *n*-толуолсульфонатом холина; в результате были синтезированы соответствующие рацемические фосфатадилхолины (V—VII). Для получения энантиомеров при-

Сокращения: ФАТ — 1-гексадецил (или октадецил)-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин; Py — пиридин; DCC — N,N' -дициклогексилкарбодимид; Tos — тозил; EDTA — этилендиаминтетрауксусная кислота.

* Применяется также аббревиатура PAF (platelet activating factor).

родной конфигурации применяли метод стерического отбора при действии фосфолипазы A_2 на соответствующие фосфолипиды [8]. Полученные лизофосфатидилхолины природной конфигурации (VIII—X) ацетилировали уксусным ангидридом в присутствии катионита Amberlite IR-120 в ацетонитриле [12]. Таким путем были синтезированы 1-октадецил-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (XI), 1-октадецил-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфотионхолин (XII) и 1-дезоксид-1-октадецилтио-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (XIII). Лизофосфатидилхолин (VIII), кроме того, вводили во взаимодействие с тиоуксусной кислотой в присутствии DCC и получали 1-октадецил-2-дезоксид-2-ацетилтио-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (XIV).



| | I | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | IX | X | XI | XII | XIII | XIV | XV | XVI | XVII |
|---|---|----|-----|----|---|----|-----|------|----|---|----|-----|------|-----|----|-----|------|
| X | O | S | O | S | O | O | S | O | O | S | O | O | S | O | O | O | S |
| Y | — | — | — | — | O | S | O | O | S | O | O | S | O | O | O | S | O |

R = —C₁₈H₃₇; R' = —C₁₃H₂₇.

Энантиомерные фосфолипиды (XV—XVII) могут быть использованы для получения соответствующих антиподов ФАТ-аналогов посредством их щелочного омыления и ацетилирования.

Структура и индивидуальность всех синтезированных соединений установлена методами элементного анализа, ИК-, ¹H-ЯМР-, ³¹P-ЯМР-спектроскопии; для оптически активных соединений получены данные ДОВ. Свойства синтезированных соединений соответствуют приведенным в литературе [3, 6, 7].

Экспериментальная часть

Температуры плавления определены на столике Кофлера и исправлены. Данные ДОВ получены на спектрополяриметре Perkin — Elmer 241 MC (США) для 10% растворов в CHCl_3 — MeOH , 4 : 1, при 20° С. ИК-спектры сняты в вазелиновом масле на спектрофотометре Shimadzu IR-435 (Япония), спектры ^1H -ЯМР — в C^2HCl_3 на спектрометре Bruker WM-250 (ФРГ) при 250 МГц. Спектры ^{31}P -ЯМР получены для растворов веществ в смеси C^2HCl_3 — CHCl_3 , 1 : 1. ТСХ проведена на силуфолу UV-254 (ЧССР) в системах эфир — петр. эфир, 1 : 1 (А), хлороформ — метанол — вода, 65 : 25 : 4 (Б) хлороформ — метанол — вода, 65 : 35 : 10 (В), обнаружение молибденовым синим. Колоночная хроматография проведена на силикагеле L 40/100 мкм (Chemapol, ЧССР). Данные элементного анализа удовлетворительно соответствовали расчетным.

гас-1-Октадецил-2-миристоилглицерин (III). К раствору 9 г *гас-1-октадецилглицерина* (I) в смеси 150 мл сухого пиридина и 150 мл толуола прибавляли по каплям при -20°C в течение 20 мин раствор 3,6 г триметилхлорсилана в 100 мл толуола. Реакционную массу перемешивали 15—30 мин при 0°C , добавляли 6,2 г миристоилхлорида в 100 мл толуола и перемешивали 3—5 ч. Реакционную массу промывали водой (2×250 мл, 5% HCl , водой (по 250 мл), сушили сульфатом магния и упаривали, остаток кристаллизовали из этанола. Выход 14,1 г (97%). R_f 0,55 (А); т. пл. 48—49° С. ИК (ν , cm^{-1}): 3330, 3000—2950, 1745, 1420, 1370, 1128, 730. ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,83 (т, CH_3); 1,24 (с, CH_2); 2,33 (с, OH); 2,51 (с, COCH_2); 3,65 (м, CH_2O); 4,41 (м, HCOC).

гас-1-Дезокси-1-октадецилтио-2-миристоилглицерин (IV) получен аналогично взаимодействием тиоэфира (II) с триметилхлорсиланом и затем хлорангидридом миристиновой кислоты. Выход 70,2%. R_f 0,57 (А); т. пл. 47,5—48,5° С. ИК (ν , cm^{-1}): 3550, 3000—2950, 1740, 1465, 1143, 780. ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,84 (т, CH_3); 1,17 (с, CH_2); 2,30 (с, OH); 2,63 (м, CH_2S); 3,74 (м, CH_2O); 4,94 (м, HCOC).

гас-1-Октадецил-2-миристоилглицеро-3-фосфохолин (V). К раствору 1,5 г хлороксида фосфора в 1—2 мл хлороформа при 0°C в течение 30 мин добавляли по каплям раствор 4,5 г диглицерида (III) и 1,05 г триэтиламина в 50 мл хлороформа, реакции контролировали ТСХ (А). Смесь выдерживали 0,5 ч, добавляли 5 мл пиридина, выдерживали до исчезновения в реакционной массе следов диэфира (III), добавляли 4,8 г *n*-толуолсульфоната холина, перемешивали при 30—35° С в течение 10—15 ч и добавляли 1—2 мл воды. Реакционную массу разбавляли 50 мл хлороформа и последовательно промывали 50 мл воды, 3% Na_2CO_3 (2×50 мл), 3% HCl (2×50 мл), сушили сульфатом магния и упаривали. Очистку продукта проводили колоночной хроматографией на силикагеле в градиенте хлороформ → хлороформ — метанол, 1 : 2, и переосаждением из хлороформа ацетоном. Выход 4,79 г (83%). R_f 0,37 (Б); т. пл. 208—212° С. ИК (ν , cm^{-1}): 3000—2950, 1735, 1420, 1370, 1240, 1125, 730. ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,83 (т, CH_3); 1,24 (с, CH_2); 2,50 (с, COCH_2); 3,34 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,5 (м, CH_2O); 4,28 (м, POCH_2); 4,76 (м, HCOC).

Соединения (VI) и (VII) получены аналогично из диглицеридов (III) и (IV) взаимодействием с тионхлороксидом фосфора и хлороксидом фосфора соответственно и затем с *n*-толуолсульфонатом холина.

гас-1-Октадецил-2-миристоилглицеро-3-фосфотионхолин (VI). Выход 85,5%. R_f 0,47 (Б); т. пл. 191—193° С. ИК (ν , cm^{-1}): 3000—2950, 1745, 1420, 1370, 1228, 1020, 750. ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,85 (т, CH_3); 1,3 (с, CH_2); 3,31 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,43 (м, CH_2O); 4,1 (м, POCH_2); 5,05 (м, HCOC). ^{31}P -ЯМР (δ , м. д.): 39,5 (д).

гас-1-Дезокси-1-октадецилтио-2-миристоилглицеро-3-фосфохолин (VII). Выход 84%. R_f 0,36 (Б); т. пл. 205—207° С. ИК (ν , cm^{-1}): 3000—2950, 1745, 1460, 1250, 1150, 770. ^1H -ЯМР (δ , м. д.): 0,9 (т, CH_3); 1,24 (с, CH_2); 2,51 (с, COCH_2); 3,34 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,52 (м, CH_2S); 4,28 (м, POCH_2); 4,76 (м, HCOC).

1-Октадецил-sn-глицеро-3-фосфохолин (VIII). К раствору 0,5 г фосфатидилохолина (V) в 80 мл эфира добавляли раствор 3 мг фосфолипазы A_2 яда среднеазиатской кобры [8] в 10 мл буфера (50 мМ трис- HCl ; CaCl_2 — 25 мМ; NaCl — 0,2 М; EDTA — 1 мМ, pH 8,0) и интенсивно взбалтывали

3 ч при 28—30° С. Осадок отделяли, промывали 200 мл эфира, растворяли в хлороформе и очищали колоночной хроматографией на силикагеле в градиентной системе смесь хлороформ — метанол, 1:1, против смеси хлороформ — метанол, 1:5. Продукт переосаждали из метанола эфиром. Выход 173 мг (98%). R_f 0,31 (В); т. пл. 246—248° С. ДОВ (указаны длина волны и $[\alpha]$, град): 589, —0,66; 579, —0,74; 546, —1,01; 436, —1,59; 407, —1,87; 366, 3,04. ИК (ν , см^{-1}): 3250, 3000—2950, 1470, 1350, 1300, 1110, 1060, 770. ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,92 (т, CH_3); 1,22 (с, CH_2); 2,3 (с, OH); 3,3 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,53 (м, CH_2O); 4,26 (м, POCH_2); 4,41 (м, НСОН).

Лизофосфатиды (IX) и (X) получены из фосфатидилхолинов (VI) и (VII) соответственно аналогичным способом.

*1-Октадецил-*sn*-глицеро-3-фосфотионхолин (IX)*. Выход 98%. R_f 0,23 (В); т. пл. 239—240° С. ДОВ (длина волны, $[\alpha]$, град): 589, —0,71; 579, —0,80; 546, —1,07; 436, —1,66; 407, —1,95; 366, 3,12. ИК (ν , см^{-1}): 3000—2950, 3250, 1420, 1370, 1225, 1020, 750. ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,86 (т, CH_3); 1,29 (с, CH_2); 3,31 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,43 (м, CH_2O); 4,05 (м, POCH_2); 5,02 (м, НСОН). ^{31}P -ЯМР (δ , м.д.): 58,4 (с).

*1-Дезокси-1-октадецилтио-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (X)*. Выход 98%. R_f 0,27 (В); т. пл. 243—244° С. ДОВ (длина волны, $[\alpha]$, град): 589, —0,73; 579, —0,82; 546, —1,10; 436, —1,69; 407, —1,99; 366, —3,16. ИК (ν , см^{-1}): 3250, 3000—2950, 1460, 1250, 1170, 1060, 750. ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,87 (т, CH_3); 1,24 (с, CH_2); 2,58 (с, CH_2S); 3,34 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,56 (м, CH_2O); 4,30 (м, POCH_2); 4,77 (м, НСОН).

*1-Октадецил-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (XI)*. К раствору 610 мг лизофосфатидилхолина (VIII) в 75 мл ацетонитрила добавляли 1,5 г промытой ацетонитрилом и высушенной смолы Amberlite IR-120 и 26 мл уксусного ангидрида, интенсивно перемешивали 5 ч при 35—40° С. Катионит отфильтровывали и промывали ацетонитрилом (2 × 50 мл), фильтрат сушили сульфатом магния и упаривали. Вещество очищали колоночной хроматографией на силикагеле в градиенте смесь хлороформ — метанол, 1:1, против смеси хлороформ — метанол, 1:4, и переосаждали из хлороформа ацетоном. Выход 483 мг (73%). R_f 0,43 (В); т. пл. 257—259° С. ДОВ (длина волны, $[\alpha]$, град): 589, —0,52; 579, —0,56; 546, —0,83; 436, —1,39; 407, —1,62; 366, —2,75. ИК (ν , см^{-1}): 3000—2950, 1745, 1420, 1370, 1240, 1060, 750. ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,88 (т, CH_3); 1,30 (с, CH_2); 2,06 (с, COCH_3); 3,35 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,55 (м, CH_2O); 4,28 (м, POCH_2); 5,1 (м, НСОС).

Аналоги ФАТ (XII) и (XIII) получены аналогичным способом из лизофосфатидов (IX) и (X) соответственно.

*1-Октадецил-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфотионхолин (XII)*. Выход 71%. R_f 0,41 (В); т. пл. 251—253° С. ДОВ (длина волны, $[\alpha]$, град): 589, —0,54; 579, —0,57; 546, —0,85; 436, —1,42; 407, —1,64; 366, —2,78. ИК (ν , см^{-1}): 3000—2950, 1745, 1420, 1370, 1228, 1132, 960, 840. ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,88 (т, CH_3); 1,30 (с, CH_2); 2,06 (с, COCH_3); 3,35 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 3,55 (м, CH_2O); 4,28 (м, POCH_2); 5,1 (м, НСОС). ^{31}P -ЯМР (δ , м.д.): 58,4 (с).

*1-Дезокси-1-октадецилтио-2-ацетил-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (XIII)*. Выход 78%. R_f 0,40 (В); т. пл. 253—255° С. ДОВ (длина волны, $[\alpha]$, град): 589, —0,59; 579, —0,66; 546, —0,92; 436, —1,50; 407, —1,76; 366, —2,93. ИК (ν , см^{-1}): 3000—2950, 1734, 1422, 1371, 1237, 1115, 730. ^1H -ЯМР (δ , м.д.): 0,92 (т, CH_3); 1,24 (с, CH_2); 3,05 (д, CH_2S); 2,07 (с, COCH_3); 3,22 (с, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$); 4,0 (м, CH_2S); 4,2 (м, POCH_2); 5,1 (м, НСОС).

*1-Октадецил-2-дезоксид-2-ацетилтио-*sn*-глицеро-3-фосфохолин (XIV)*. К раствору 115 мг лизофосфатидилхолина (VIII) в 30 мл хлористого метилена добавляли 30—35 мг ДСС и при охлаждении до 0° С по каплям прибавляли 2 мл тиоуксусной кислоты, перемешивали 8—10 ч при 35—40° С. Реакционную массу промывали водой (3 × 30 мл), 3% Na_2CO_3 , 3% HCl (по 30 мл), сушили сульфатом магния и упаривали. Вещество очищали хроматографией на силикагеле, как описано для лизофосфатида (VIII), и переосаждали из хлороформа ацетоном. Выход 77 мг (69%). R_f 0,38 (В); т. пл. 249—251° С. ДОВ (длина волны, $[\alpha]$, град): 589, —0,39; 579, —0,42; 546, —0,68; 436, —1,22; 407, —1,45; 366, —2,52. ИК (ν , см^{-1}): 3000—2950,

1725, 1637, 1420, 1369, 1240, 1135, 1151, 960, 845, 730. ¹H-ЯМР (δ, м.д.): 0,89 (т, CH₃); 1,28 (с, CH₂); 2,09 (с, COCH₃); 3,22 (с, N(CH₃)₃); 3,58 (м, CH₂O); 4,0 (м, POCH₂); 5,16 (м, HCOC).

ЛИТЕРАТУРА

1. Гордеев К. Ю., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. Биорган. химия, 1984, т. 10, № 12, с. 1589—1605.
2. Bosies E., Call R., Weinmann G., Bicker U., Pahlke W. Patent GDR № 201685, 21.10.1285.
3. Aarsman A. J., Roosenboom C. F. P., Van der Marel G. A., Shadid B., Van Boom J. H., Van den Bosh H. Chem. Phys. Lipids, 1985, v. 36, № 3, p. 229—242.
4. Berdel W. E., Fromm M., Fink U., Rahlke W., Brugger U., Reichert A., Rastetter J. Cancer Res., 1983, v. 43, № 11, p. 5538—5543.
5. Hillmar I., Muramatsu T., Zoellner N. Hoppe-Seyler's Z. Physiol., Chem., 1984, v. 365, № 1, p. 33—41.
6. Betzing H., Wirtz-Peitz F., Prop G. Patent FRG, DE 3025804 A1, 18.07.80.
7. Чупин В. В., Василенко И. А., Предводителев Д. А., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. Докл. АН СССР, 1979, т. 248, № 1, с. 235—237.
8. Евстратова Н. Г., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. Биорган. химия, 1982, т. 8, № 11, с. 1497—1500.
9. Малина Е. В., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. Журн. орган. химии, 1982, т. 18, № 5, с. 967—970.
10. Малина Е. В., Ряховский В. В., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. Деп. ОНИИТЭХИМ, № 1090 XII-Д-82, 18.10.82 г.
11. Brockerhoff H., Ayengar N. K. N. Lipids, 1979, v. 14, № 1, p. 88—89.
12. Totani N., Muramatsu T. Chem. Phys. Lipids, 1981, v. 29, № 4., p. 375—377.

Поступила в редакцию
6.XI.1985

SYNTHESIS OF THIO ANALOGUES OF PLATELET ACTIVATING FACTOR (PAF)

GORDEEV K. Yu., SEREBRENNIKOVA G. A., EVSTIGNEEVA R. P.

M. V. Lomanosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow

Synthesis of thioalkyl, thioacetyl and phosphothionyl PAF analogues was carried out starting with corresponding monoalkyl glycerol ethers. The synthetic route was based on preparation of racemic phosphatidylcholines and subsequent hydrolysis with phospholipase A₂ to afford isomers having natural configuration.