



УДК 547. 915.5 : 542.95

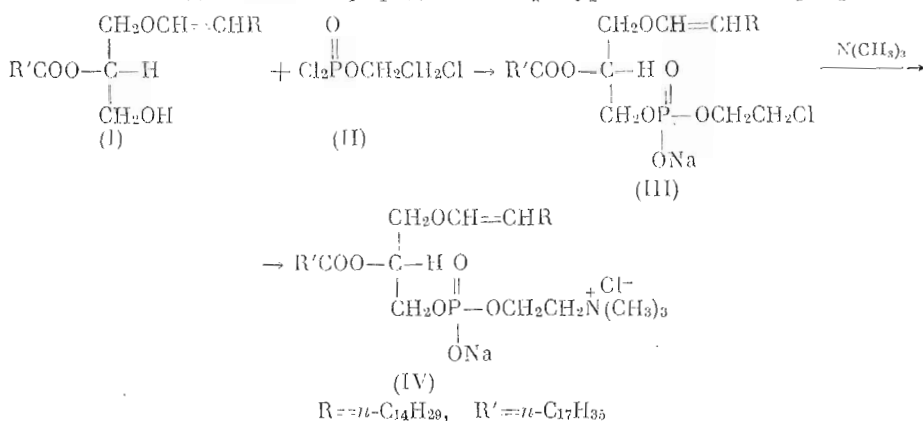
СИНТЕЗ ФОСФАТИДАЛЬХОЛИНА

Василенко И. А., Серебренникова Г. А., Евстигнеева Р. П.

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

Предложен метод синтеза фосфатидальхолина природной конфигурации, включающий фосфорилирование 1-О-(алкен-1-ил)-2-ацил-*sn*-глицеринов β-хлорэтилдихлорфосфатом и последующее взаимодействие полученного соединения с триметиламино. Разработаны условия фосфорилирования и очистки альдегидогенных соединений. Изучены физико-химические свойства синтезированных соединений.

Фосфатидальхолины наряду с соответствующими диацильными фосфолипидами являются основными представителями мембранных фосфолипидов. Наличие 1-алкенильноэфирной группировки, по-видимому, обуславливает определенное различие структурной и функциональной роли альдегидогенных липидов в мембране. Так, поверхностный потенциал монослоя фосфатидальхолина на 25—30% ниже поверхностного потенциала диацильной формы, что в свою очередь определяет различие этих форм в специфическом взаимодействии с белками [1]. До настоящего времени не выяснена роль альдегидогенных липидов, и в частности фосфатидальхолина, в организации и функционировании мембран, что в значительной мере определяется малой доступностью фосфатидальхолинов. Выделение их из природных источников в индивидуальном виде затруднительно, а химический синтез соединений с природной конфигурацией не был разработан.



Описанный в работе [2] метод получения рацемического фосфатидальхолина (в виде смеси *цис*- и *транс*-форм) и гомологичной смеси соединений природной конфигурации основан на фосфорилировании соответствующих 1-О-(алкен-1-ил)-2-ацилглицеринов, получаемых расщеплением ней-

тральных плазмалогенов панкреатической липазой. Однако при этом фосфатидальхолин был получен с низким выходом, авторы не указывали, в виде каких солей было идентифицировано соединение, отсутствовали сведения об оптической чистоте.

Нами осуществлен полный химический синтез фосфатидальхолина (IV) природной конфигурации на основе *цис*-1-О-(алкен-1-ил)-2-ацил-*sn*-глицеринов (I), препаративный метод получения которых предложен нами ранее [3].

Эта схема позволяет использовать в ряду альдегидогенных липидов наиболее простые и удобные методы создания фосфодиэфирной связи.

Принципиальная возможность использования замещенных хлорфосфатов для фосфорилирования альдегидогенных соединений продемонстрирована нами ранее на примере синтеза фосфатидальэтаноламина природной конфигурации [4].

В качестве фосфорилирующего агента при получении фосфатидальхолина был выбран β -хлорэтилдихлорфосфат (II), который широко используется в синтезе фосфатидилхолинов [5] и позволяет унифицировать синтез фосфолипидов различного типа. Однако следует отметить, что применение методов, разработанных для синтеза фосфолипидов диацильного типа, к альдегидогенным соединениям требует учета лабильности этих соединений при проведении реакций, а также в процессе их выделения и очистки.

Оптимальные результаты фосфорилирования 1-О-(алкен-1-ил)-2-ацил-*sn*-глицеринов (I) β -хлорэтилдихлорфосфатом (II) достигались проведением реакции при -20° с использованием четырехкратного избытка фосфорилирующего агента. Полученный промежуточный хлорфосфат гидролизовали насыщенным водным раствором углекислого натрия и соединение (III) выделяли в виде натриевой соли, которую очищали хроматографированием на колонке с силикагелем II, элюирование проводили смесью хлороформ — метанол (15 : 1). Выделение соединения (III) в виде свободного фосфата, обладающего кислотными свойствами, нежелательно, поскольку алкенильноэфирная группа может расщепляться за счет автокаталитического гидролиза. Превращение соединения (III) в фосфатидальхолин (IV) осуществлялось взаимодействием последнего с триметиламином в среде бензола в запаянной ампуле (80° , 36 ч). Фосфатидальхолин был выделен в виде натриевой соли и очищался хроматографированием на силикагеле II, элюирование вещества проводилось смесью хлороформ — метанол, 2 : 1.

Структура и индивидуальность синтезированных соединений была подтверждена с помощью ИК- и ПМР-спектроскопии, элементным анализом, ТСХ и сравнением хроматографической подвижности полученных соединений и их диацильных аналогов. В ИК-спектре фосфатидальхолина (IV) отчетливо проявляется поглощение в области 1660 см^{-1} , что позволяет идентифицировать *цис*-двойную связь в составе алкенильноэфирной группы.

Экспериментальная часть

Данные ДОВ получены на фотоэлектрическом спектрополяриметре СПУ-М в хлороформе (*c* 0,7) для соединения (III) и в смеси хлороформ — метанол (1 : 1) (*c* 0,4) для соединения (IV). Спектры ПМР получены в растворе смеси CDCl_3 и CD_3OD (1 : 1) на спектрофотометре GNM 4H-100 с рабочей частотой 100 МГц. В качестве стандарта взят тетраметилсилан. ИК-спектры сняты в вазелине на спектрофотометре «Perkin-Elmer» № 257 (США). ТСХ проведена на силикагеле А 5/40 μ в системе хлороформ — метанол — аммиак, 3 : 1 : 1 : 0,25 (А), хлороформ — метанол — вода, 65 : 25 : 4 (Б). Данные элементного анализа удовлетворительно соответствуют расчетным.

Натриевая соль цис-1-О-(гексадецен-1-ил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-β-хлорэтилфосфата (III). К раствору 0,8 г β-хлорэтилдихлорфосфата (II) [6] в 10 мл безводного пиридина прибавляли по каплям в течение 30 мин при -20° и перемешивали раствор 0,5 г цис-1-О-(гексадецен-1-ил)-2-стеароил-sn-глицерина (I) в 15 мл безводного пиридина, выдерживали 3 ч при -20° и 48 ч при 18-20°. Затем к реакционной массе прибавляли по каплям раствор 2 г Na₂CO₃ в 10 мл воды и перемешивали 2 ч при +40°. Реакционную массу упаривали досуха в вакууме при температуре не выше +50°, остаток наносили на колонку с 20 г силикагеля Л, малополярные примеси элюировали хлороформом, соединение (III) — смесью хлороформ — метанол (15 : 1). Вещество перекристаллизовывали из ацетона. Выход 0,76 г (61%), т. пл. 31-32°, R_f 0,7 (А). Данные ДОВ (при 20°): [α]₅₈₉ -5,8°; [α]₄₆₇ -8,6°; [α]₃₉₇ -10,1°; [α]₃₅₄ -13°. ИК-спектр, см⁻¹: 3020 (-CH=CH-), 1740 (-COOR), 1660 (-OCH=CH-, цис), 1250 (P=O), 1030 (P-O-C).

Натриевая соль цис-1-О-(гексадецен-1-ил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-холинфосфата (IV). К раствору 0,4 г соединения (III) в 3 мл бензола, помещенному в ампулу, приливали 1 мл триметиламина. Запаянную ампулу выдерживали 36 ч при 80°. Затем реакционную массу упаривали досуха и наносили на колонку с силикагелем Л. Малополярные примеси элюировали хлороформом, соединение (IV) вымывали смесью хлороформ — метанол (2 : 1), затем высаживали из хлороформного раствора ацетоном. Выход 0,32 г (74%), т. пл. 190-192° R_f 0,2 (А), 0,4 (Б). Данные ДОВ (при 20°): [α]₅₈₉ -8,7°; [α]₄₆₇ -2°, [α]₄₂₇ -2°, [α]₃₉₇ -0,7°. ИК-спектр, см⁻¹: 3020 (-CH=CH-), 1740 (-COOR), 1660 (-OCH=CH-, цис), 1250 (P=O), 1080 (P-O-C), 980 ($\overset{+}{N}$ (CH₃)₃). Спектр ПМР δ, м. д.: 0,91 (CH₃), 1,29 (CH₂), 3,8 (CH₂O-глицерина), 4,0 (CH₂OP), 4,29 ($\overset{+}{N}$ (CH₃)₃), 4,7 $\overset{+}{N}$ (CH₃)₃, 5,9 (OCH=CH-, цис, дублет, j 6,5 Гц).

ЛИТЕРАТУРА

1. Snyder F. (1972) *Ether Lipids*, p. 177-179. Acad. Press, New York and London.
2. Slotboom A. J., de Haas G. H., van Deenen L. L. M. (1967) *Chem. Phys. Lipids*, **1**, 192-208.
3. Василенко И. А., Сербренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 56-60.
4. Василенко И. А., Сербренникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 1307-1312.
5. Paltau F. (1973) *Chem. Phys. Lipids*, **11**, 270-294.
6. Ronshaw R. R., Hopkins C. J. (1929) *J. Amer. Chem. Soc.*, **51**, 963-967.

Поступила в редакцию
26.VI.1975

SYNTHESIS OF PHOSPHATIDALCHOLINE

VASILENKO I. A., SEREBRENNIKOVA G. A., EVSTIGNEEVA R. P.

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

A method of the synthesis of phosphatidylcholine basing on the phosphorylation of 1-*O*-alk-1-*cis*-enyl-2-acyl-*sn*-glycerols with 2-chloroethyl phosphorodichloridate has been developed. Conditions of the phosphorylation are discussed. Physical and chemical properties of the compounds synthesized has been studied.