



УДК 547.915.5 : 542.91

СИНТЕЗ 1-О-(2'-МЕТОКСИАЛКИЛ)-2-АЦИЛ-*sn*-
-ГЛИЦЕРО-3-ФОСФОРИЛЭТАНОЛАМИНА И -ФОСФОРИЛХОЛИНА*Розин А. Э., Еременко Л. Е., Серебренникова Г. А.,
Евстигнеева Р. П.**Институт тонкой химической технологии
им. М. В. Ломоносова, Москва*

Описан синтез 1-О-(2'-метоксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицеро-3-фосфорилэтанол-амина и -фосфорилхолина, основных представителей фосфолипидов алкильного типа, содержащих β-метоксикальциевую группировку. Обсуждаются условия и методы фосфорилирования. Исследованы физико-химические свойства синтезированных соединений.

В настоящее время к числу обычных гидрофобных компонентов фосфолипидов наряду с жирными кислотами относят длинноцепные жирные спирты и альдегиды. Они входят в состав липидов, содержащих простую эфирную связь (соответственно алкильные и альдегидогенные липиды — плазмалогены).

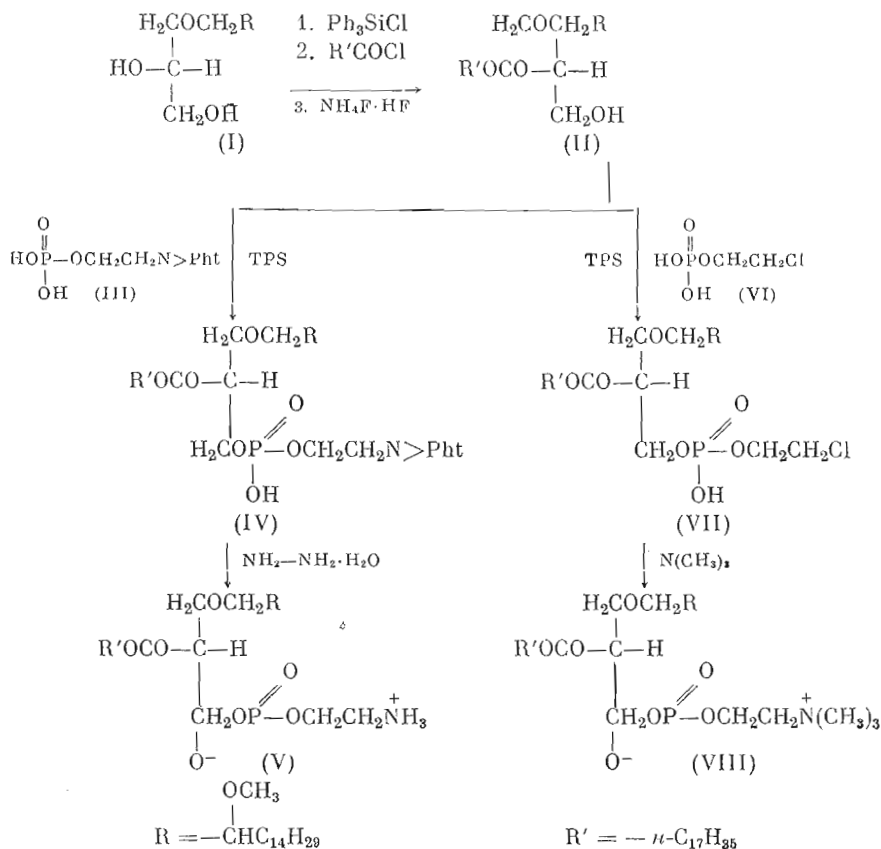
В результате многочисленных исследований было установлено, что основной путь метаболизма липидов алкильного типа включает ферментативное дегидрирование их в плазмалогены [1], а в случае β-замещенных алкиловых эфиров глицерина и его производных, по-видимому, осуществляется элиминирование электроотрицательных группировок, также с образованием альдегидогенных липидов [2]. Подтверждением последнего механизма служит обнаружение в природных источниках 1-О-(2'-окси)- и 1-О-(2'-метокси)алкилглицеринов [3, 4]. Строение этих соединений было установлено на основе данных ГЖХ, а также ИК- и масс-спектрометрии.

В данной работе описан синтез 1-О-(2'-метоксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицеро-3-фосфорилхолина (V) и -фосфорилэтанол-амина (VII), основных представителей фосфолипидов алкильного типа, содержащих β-метоксикальциевую группировку. Используя метод, ранее разработанный для получения 1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицеринов [5], мы синтезировали 1-О-(2'-метоксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицерин (II) [6], что позволило применить наиболее удобные методы фосфорилирования при синтезе фосфолипидов β-метоксикальциевого типа.

Осуществленный нами ранее принцип построения фосфодиэфирной структуры на основе фосфорилирования 1-О-алкил-2-ацил-*sn*-глицеринов алкилдихлорфосфатами [7], несмотря на ряд достоинств, имеет и недостатки. Так, в условиях фосфорилирования ($-15 \div +20^\circ$) наблюдается образование в качестве побочного продукта 1-О-алкил-2-ацил-3-хлор-3-дезоксид-*sn*-глицерина, особенно в случае использования β-хлорэтилфосфата при получении фосфатидилхолина. Кроме того, применение дихлорфос-

фатов делает необходимым гидролиз промежуточных хлорфосфатов и последующую обработку ионообменниками при выделении фосфолипидов, что усложняет выделение продуктов и ведет к уменьшению конечных выходов.

В данной работе при создании фосфодиэфирной структуры в целевых фосфолипидах (V) и (VIII) нами использована конденсация 1-О-(2'-метоксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицерина (II) с β-фталимидоэтилфосфатом (III) и β-хлорэтилфосфатом (VI) в присутствии 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорида (TPS) как конденсирующего агента (схема).



В синтезах фосфатидилэтаноламина с использованием конденсирующих агентов описано два пути создания фосфодиэфирной связи. Первый заключается в конденсации фосфатидной кислоты с производным этаноламина [8], второй — в конденсации диглицерида с замещенным фосфатом [9]. В синтезе фосфатидилхолина реализован только первый способ [10]. Однако, на наш взгляд, метод, включающий фосфорилирование диглицеридов, более предпочтителен ввиду большей доступности диглицеридов по сравнению с фосфатидными кислотами. В связи с этим нами выбран последний способ; в качестве конденсирующего агента использован триизопропилбензолсульфохлорид.

Фосфорилирование 1-О-(2'-метоксигексадецил)-2-стеароил-*sn*-глицерина (II) β-фталимидоэтилфосфатом (III) и β-хлорэтилфосфатом (VI) проводилось в среде безводного пиридина при 60° в присутствии триизопропилбензолсульфохлорида и завершалось за 30 мин. Снятие фталоильной защитной группировки с соединения (IV) осуществлялось гидразинолизом [7]. Кватернизацию соединения (VII) проводили по известной методике [7].

Высокие выходы на стадии фосфорилирования (86—88%) и экспериментальная простота делают использованный метод удобным для препаративного получения этого класса глицерофосфолипидов.

Структура и индивидуальность синтезированных соединений (V) и (VIII) была подтверждена с помощью ИК-спектроскопии, элементного анализа и ТСХ. Дополнительным доказательством структуры и индивидуальности глицерофосфолипидов (V) и (VIII) служило наличие интенсивных пиков молекулярных ионов при использовании масс-спектрометрии с десорбцией в сильном электрическом поле*.

Изучены оптические свойства синтезированных соединений.

Экспериментальная часть

Данные ДОВ получены на спектрополяриметре СПУ-М в CHCl_3 при 20° . ИК-спектры сняты в таблетке с KBr на спектрофотометре Perkin-Elmer 257 (США). Масс-спектры получены на приборе Varian-Mat 731 (США). Потенциал эмиттера относительно вытягивающего электрода составлял 12 кВ. Ток нагрева эмиттера подбирался в пределах 15—20 мА. ТСХ проведена на силикагеле 5/40 Chemapol (ЧССР) в системах петролейный эфир — эфир — метанол, 10 : 10 : 1 (А); CHCl_3 — метанол — ацетон — конц. NH_4OH , 15 : 7 : 5 : 1 (Б). Данные элементного анализа удовлетворительно соответствовали расчетным. β -Фталимидостилфосфат (т. пл. 174 — 175°) был синтезирован, как описано ранее [11], β -хлорэтилфосфат (стеклообразное вещество) был получен гидролизом β -хлорэтилдихлорфосфата [7] водой на холоду и высушен над P_2O_5 в вакууме.

1-О-(2'-Метоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицерин (II). К раствору 17 г 1-О-(2'-метоксигексадецил)-sn-глицерина [5] (I) в 25 мл безводного CCl_4 и 25 мл безводного пиридина прибавили по каплям при перемешивании в течение 30 мин раствор 16 г трифенилхлорсилана в 100 мл безводного CCl_4 . Реакционную массу выдержали 1 ч при 20° , прилили 20 мл безводного пиридина и при перемешивании прибавили раствор 30 г стеароилхлорида в 50 мл CCl_4 . Смесь выдержали 3 ч при 60° , отфильтровали осадок через окись алюминия, промыли CCl_4 , объединенный фильтрат упарили. К остатку добавили 50 мл ацетона, 10 мл пиридина, 5 мл воды и 10 г кислого фтористого аммония. Реакционную смесь кипятили 10 мин, охладили, вылили в воду, экстрагировали эфиром и сушили Na_2SO_4 . Эфирный раствор упарили, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Вещество элюировали смесью бензол — петролейный эфир (10 : 1) и кристаллизовали из гексана. Выход соединения (II) 24,6 г (82%). Т. пл. 29 — 30° . R_f 0,47 (А). ДОВ: $[\alpha]_{589} -4,0^\circ$; $[\alpha]_{467} -8,6^\circ$; $[\alpha]_{397} -11,0^\circ$; $[\alpha]_{354} -13,8^\circ$. ИК (cm^{-1}): 3460, 2940, 2860, 1735, 1470, 1380, 1230, 1050.

1-О-(2'-Метоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-фосфорил- β -фталимидэтаноламин (IV). 2 г диэфира (II) смешали с 0,71 г β -фталимидостилфосфата (II), сушили 1 ч над P_2O_5 , добавили раствор 1,5 г триизопренилбензолсульфохлорида в 50 мл безводного пиридина и перемешивали 30 мин при 60° , смесь охладили, вылили в 50 мл эфира и промыли водой (3 \times 25 мл). Эфирный экстракт сушили Na_2SO_4 , упарили, остаток нанесли на колонку с силикагелем. Малополярные примеси элюировали эфиром, вещество вымывали смесью CHCl_3 — метанол (10 : 1) и кристаллизовали из ацетона. Выход 1,98 г (86,0%). Т. пл. 74 — 75° . R_f 0,62 (А). ДОВ: $[\alpha]_{589} -4,0^\circ$; $[\alpha]_{467} -5,4^\circ$; $[\alpha]_{397} -7,9^\circ$; $[\alpha]_{354} -10,0^\circ$. ИК (cm^{-1}): 2940, 2860, 1760, 1735, 1620, 1470, 1380, 1150, 1080, 1050, 950.

1-О-(2'-Метоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-фосфорилэтаноламин (V). К раствору 1,98 г фосфодиэфира (IV) в 40 мл смеси метанол — вода (3 : 1) добавили 0,29 г гидразингидрата, растворенного в 20 мл той

* Результаты масс-спектрометрии фосфолипидов являются предметом отдельной публикации.

же смеси. Реакционную массу кипятили 5 ч, упарили досуха, остаток растворили в 50 мл CHCl_3 при 40° , фильтровали и упарили. Остаток хроматографировали на силикагеле, малополярные примеси элюировали CHCl_3 . Вещество вымывали смесью CHCl_3 — метанол, 17 : 3, и кристаллизовали из ацетона. Выход 1,3 г (77,0%). Т. пл. $168-169^\circ$. R_f 0,47 (Б). ДОВ: $[\alpha]_{589} +1,8^\circ$; $[\alpha]_{467} +2,4^\circ$; $[\alpha]_{397} +3,6^\circ$; $[\alpha]_{354} +4,6^\circ$. ИК (cm^{-1}): 2940, 2860, 1735, 1640, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950. M^+ 736,8.

1-O-(2'-Метоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-фосфорил-β-хлорэтанол (VII). 0,25 г эфира (II) смешали с 0,05 г β-хлорэтилфосфата (VI) и сушили над P_2O_5 . Затем добавили раствор 0,2 г триизопропилбензолсульфохлорида в 30 мл безводного пиридина и 30 мин перемешивали при 60° . Реакционную массу охладили, вылили в 50 мл эфира, промыли водой (3 × 25 мл), высушили Na_2SO_4 и упарили. Остаток нанесли на колонку с силикагелем, малополярные примеси элюировали CHCl_3 , вещество — смесью CHCl_3 — метанол, 17 : 4. Выход 0,27 г (88,1%). R_f 0,5 (Б). ИК (cm^{-1}): 2940, 2860, 1735, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950.

1-O-(2'-Метоксигексадецил)-2-стеароил-sn-глицеро-3-фосфохоллин (VIII). В ампулу с раствором 0,27 г фосфодиэфира (VII) в 3 мл безводного бензола при -20° добавили 2 мл триметиламина. Запаянную ампулу выдержали 72 ч при 80° , затем реакционную массу упарили досуха и остаток хроматографировали на силикагеле. Примеси элюировали смесью CHCl_3 — метанол, 4 : 1, вещество — смесью CHCl_3 — метанол, 1 : 1. Выход 0,2 г (71,0%). Т. пл. $212-214^\circ$. R_f 0,13 (Б). ДОВ: $[\alpha]_{589} +3,6^\circ$; $[\alpha]_{467} +5,6^\circ$; $[\alpha]_{397} +6,2^\circ$; $[\alpha]_{354} +8,6^\circ$. ИК (cm^{-1}): 2940, 2860, 1735, 1470, 1380, 1230, 1110, 1080, 1050, 950. M^+ 778,7.

ЛИТЕРАТУРА

1. Paltauf F. (1974) J. Biol. Chem., 249, 2661—2662.
2. Snyder F., Malone B., Blank M. L. (1970) J. Biol. Chem., 245, 1790—1799.
3. Hallgren B., Stallberg G. (1974) Acta chem. scand., 28, 1074—1079.
4. Hallgren B., Stallberg G. (1967) Acta chem. scand., 21, 1519—1536.
5. Розин А. Э., Гудкова С. Ф., Серебrenникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) Ж. орган. химии, 11, 2308—2311.
6. Розин А. Э., Серебrenникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1975) Биоорган. химия, 1, 1312—1319.
7. Розин А. Э., Гудкова С. Ф., Серебrenникова Г. А., Евстигнеева Р. П. (1976) Биоорган. химия, 2, 78—81.
8. Aneja R., Chadha J. S., Davies A. P. (1969) Tetrahedron Lett., 4183—4186.
9. Каплун А. П., Кабанова М. А., Лютин А. И., Швец В. И., Евстигнеева Р. П. (1973) Ж. общ. химии, 43, 1839—1844.
10. Aneja R., Chadha J. S. (1974) Biochim. et biophys. acta, 248, 455—459.
11. Швец В. И., Петрова М. К., Теплянская Р. Б., Архангельская Н. В., Зияд Коф-фай аль-Аззави, Голубкова Е. В., Иванова Е. Г., Преображенский И. А. (1969) Ж. орган. химии, 5, 2033—2039.

Поступила в редакцию
22.III.1976

THE SYNTHESIS OF 1-O-(2'-METHOXYALKYL)-2-ACYL-sn-GLYCERO-3-PHOSPHORYLETHANOLAMINE AND -PHOSPHORYLCHOLINE

ROZIN A. E., EREMEŃKO L. E., SEREBRENNIKOVA G. A.,
EVSTIGNEEVA R. P.

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

A method for chemical synthesis of 1-O-(2'-methoxyalkyl)-2-acyl-sn-glycero-3-phosphorylethanolamine and -phosphorylcholine based on phosphorylation of 1-O-(2'-methoxyalkyl)-2-acyl-sn-glycerol with 2-phthalimidooethyl phosphate and 2-chloroethyl-phosphate in the presence of TPS was elaborated. The methods and experimental phosphorylation procedures are discussed. The compounds prepared were characterized by IR, ORD and mass spectra.