



УДК 577.161.1.03+547.26'118

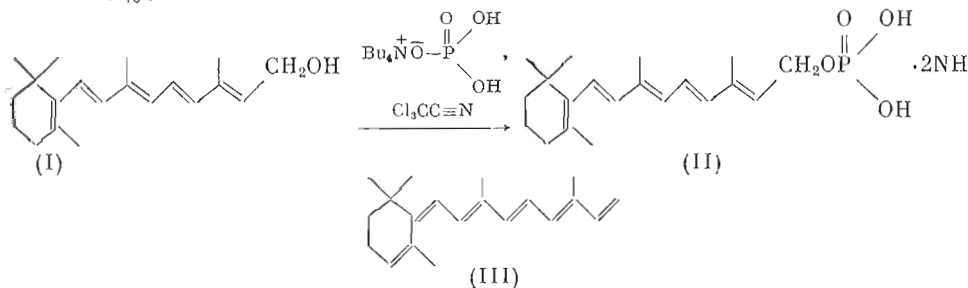
ЭФФЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ РЕТИНИЛФОСФАТА

Данилов Л. Л., Мальцев С. Д., Шибанов В. Н.

Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР,
Москва

полностью-транс-Ретинол (витами А) представляет собой изопреноидный C_{20} -спирт, содержащий систему сопряженных двойных связей. Биохимическая активность ретинола и его производных общеизвестна, тогда как механизм действия и пути метаболизма все еще остаются неясными. Фосфат ретинола, как полагают, наряду с фосфатом долихола является промежуточным соединением при биосинтезе гликопротеинов у эукариот [1]. Химический синтез ретинилфосфата представляет весьма сложную задачу, поскольку и исходный ретинол (I), и его фосфат (II) разлагаются как в щелочных, так и в кислых условиях с образованием ангидро-ретинола (III), чрезвычайно легко окисляются и подвергаются фотохимической изомеризации.

В литературе описаны два способа получения ретинилфосфата (II): взаимодействие значительного избытка ретинола (I) с хлорокисью фосфора в присутствии пиридина и триэтиламина, при котором до 70% ретинола остается непревращенным и выход составляет 3–6% [2], и реакция ретинола с бис(триэтиламмоний)фосфатом в условиях значительного избытка трихлорацетонитрила (способ Крамера) [3] с выходом продукта 8–10%:



Недавно нами был разработан метод фосфорилирования изопреноидных спиртов различной длины и степени насыщенности с применением моно(тетра-*n*-бутиламмоний)фосфата и близкого к эквимольному количества трихлорацетонитрила [4]. Эффективность этого метода продемонстрирована на примере получения фосфатов полипренолов с выходом около 80%. Мы установили, что этот метод при внесении небольших модификаций может быть успешно использован для получения фосфата ретинола с высоким выходом.

Образец ретинола (28,2 мг, содержание (I) 39,4 мкмоль по $\epsilon_{325} 52480$ [5], F. Hoffman La Roche) и моно(тетра-*n*-бутиламмоний)фосфат (185 мг, 500 мкмоль по неорганическому фосфату [6]) растворяли в 0,5 мл хлороформа, высушенного пропусканием через слой оксида алюминия I–II степени активности, охлаждали до $-20 \div -30^\circ C$, прибавляли трихлорацетонитрил (70 мкл, 700 мкмоль), встряхивали при $20^\circ C$ до образования гомогенного невязкого раствора (приблизительно в течение 1 мин), вновь охлаждали до $-20 \div -30^\circ C$ и выдерживали 10–15 мин. Растворитель удаляли в вакууме масляного насоса. После экстракции фосфорилированных соединений, не содержащих остатка ретинола (распределение между верх-

ней и нижней фазой равновесной системы бутанол — вода), нижнюю фазу отбрасывали, верхнюю дополнительно промывали еще 2 раза нижней фазой системы, разбавляли метанолом и наносили на колонку (1×7 см) с DEAE-целлюлозой DE-52 (OAc⁻), уравновешенной метанолом. После промывки колонки метанолом объединенный раствор содержал, по данным УФ-спектра и ТСХ (хлороформ — метанол — вода, 60 : 25 : 4), непревращенный ретинол (I) (выход 7,5 мкмоль (18%), R_f 0,90, λ_{\max} 325 нм) и ангидроретинол (II) (выход 4,0 мкмоль (10%), R_f 1,00, λ_{\max} 346, 368 и 388 нм, ϵ_{368} 89 250 (см. [7])). После элюции 30 мМ раствором ацетата аммония в метаноле (130 мл) фракции, содержащие соединение (II), объединяли. Выход ретинилфосфата (II) 25,2 мкмоль (64% по ϵ_{325}), R_f 0,15, отношение ретинол — кислотолabileный фосфат [6] 1 : 1,07 (теор. 1 : 1), УФ-спектр идентичен спектру *полностью-транс*-ретинпола (λ_{\max} 325 нм). Дополнительная элюция 150 мМ раствором ацетата аммония в метаноле дает 3 мкмоль (8%) соединения с R_f 0,05, УФ-спектр которого идентичен спектру ретинола и которое, по всей видимости, является ретинилдифосфатом.

Полученный в результате анионообменной хроматографии фосфат ретинпола (II) в виде метанольного элюата (концентрация ацетата аммония 30 мМ) был устойчив при хранении в атмосфере аргона и в отсутствие света при 4°С. В таких условиях через 14 месяцев не наблюдалось каких-либо изменений его УФ-спектра и отношения ретинол — кислотолabileный фосфат.

Таким образом, разработан эффективный метод получения фосфата ретинола, дающий возможность получать устойчивую его форму в препаративных количествах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Frot-Contaz J. P., Silverman-Jones C. S., De Luca L. M. // J. Lipid Res. 1976. V. 17. № 3. P. 220–230.
2. Позняков С. П., Дмитриевский А. Д. // Биохимические методы/Ред. Кретович В. Л., Штольц К. Ф. М.: Наука, 1980. С. 70–73.
3. Bhat P. V., De Luca L. M., Wind M. L. // Analyt. Biochem. 1980. V. 102. № 1. P. 243–248.
4. Данилов Л. Л., Мальцев С. Д., Шибаетов В. Н. // Биоорганич. химия. 1988. Т. 14. № 9.
5. Data for Biochemical Research/Eds Dawson R. M. C., Elliott D. C., Elliott W. H., Jones K. M. Second edition. Oxford: Clarendon Press, 1969. P. 212–213.
6. Danilov L. L., Maltsev S. D., Shibaev V. N., Kochetkov N. K. // Carbohydr. Res. 1981. V. 88. № 2. P. 203–211.
7. Isler O., Huber W., Ronco A., Kufler M. // Helv. chim. acta. 1947. B. 30. F. 6. S. 1911–1927.

Поступило в редакцию
13.VI.1988

EFFICIENT SYNTHESIS OF RETINYL PHOSPHATE

DANILOV L. L., MAL'TSEV S. D., SHIBAEV V. N.

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR,
Moscow*

Retinyl phosphate was prepared in high yield by reaction of retinol with tetra-*n*-butyl ammonium dihydrogen phosphate and trichloroacetonitrile.