



УДК 547.593.261'118.057

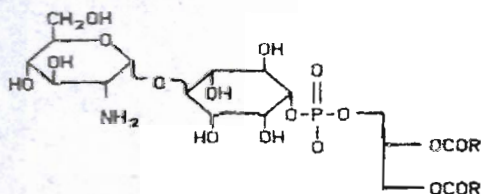
© 1994 Н. С. Шастина, Л. И. Эйнисман,  
А. Е. Степанов, В. И. Швец

## СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИКОЗИЛФОСФАТИДИНОЗИТА

Московская государственная академия тонкой химической технологии  
им. М. В. Ломоносова

Ключевые слова: *мио*-инозит, гликозилфосфатидинозит, оксазолиновый метод, водород-фосфонатный метод.

Недавно установлен ранее неизвестный механизм закрепления белков в плазматической мембране посредством образования ковалентной связи между белковой молекулой и гликозилфосфатидинозитом (ГФИ). Предположительная структура «якорных» участков таких мембранных белков содержит общий элемент — дизамещенный *мио*-инозит [1, 2]:



где R — остатки природных жирных кислот.

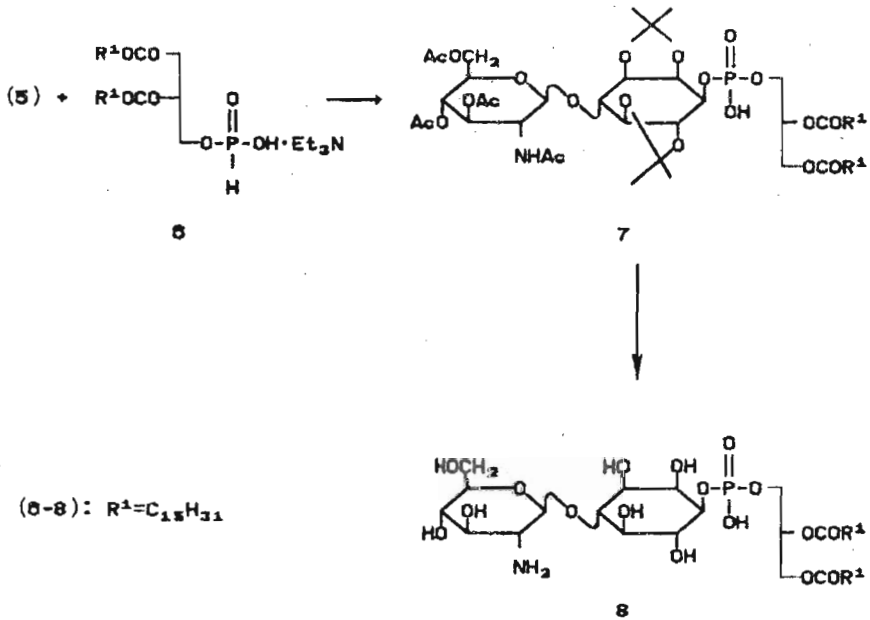
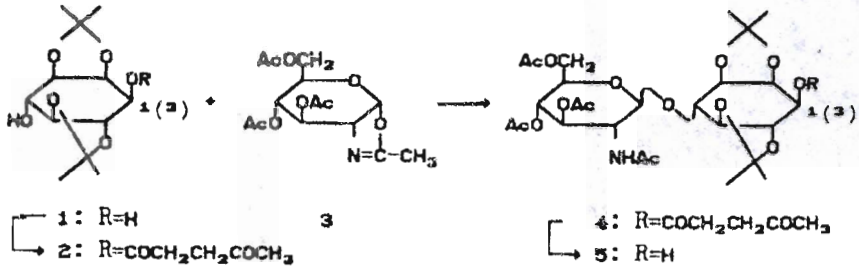
ГФИ приписывается также роль вторичного посредника при действии инсулина на клетку [3, 4], что делает соединения этого класса перспективными объектами для фармакологического изучения.

С целью разработки путей полного синтеза ГФИ нами изучен подход к получению 1(3)-*O*-(*rac*-1,2-ди-*O*-пальмитоилглицерофосфо)-4(6)-*O*-(2-дезоксиглюкопиранозил)-*sn*-*мио*-инозита (8) и его структурного изомера — 1(3)-*O*-(2-дезоксиглюкопиранозил)-4(6)-*O*-(*rac*-1,2-ди-*O*-пальмитоилглицерофосфо)-*sn*-*мио*-инозита (15), в котором глюкозаминидный и фосфатидный остатки находятся в положениях циклитного кольца *мио*-инозита, не характерных для природных липидов.

Синтез глюкозаминидного производного фосфатидинозита (8) представлен на схеме 1. Селективное ацилирование 1(3),2;4(6),5-ди-*O*,*O*-изопропилиден-*sn*-*мио*-инозита (1), полученного по модифицированному методу Гигга [5], действием левулиновой кислоты в присутствии дициклогексилкарбодиимида и хроматографическое разделение продуктов реакции на силикагеле приводили к 1(3)-*O*-левулиноильному производному (2). Выход 61%, т. пл. 147—148° С (этанол),  $R_f$  0,18 на силуфоле UV-254 (Chemapol, Чехо-Словакия) (вариант 1) в системе хлороформ — ацетон (9 : 2).

Для образования гексозаминидной связи между углеводной и инозитной моле-

Схема 1



кулами в димерном соединении (4) был выбран оксазолиновый метод гликозилирования, хорошо разработанный в олигосахаридном синтезе [6]; в качестве гликозильного донора использовали 2-метил-(3,4,6-три-О-ацетил-1,2-дидезокси- $\alpha$ -D-глюкопирано)[2,1-d]-2-оксазолин (3) [7]. Гликозилирование моногидроксильного производного (2) оксазолином (3) проводили в кипящей смеси нитрометан — толуол (1 : 1) при каталитическом действии *n*-толуолсульфокислоты. Хроматографическое разделение реакционной смеси на силикагеле приводило к выделению димера (4), имеющего  $\beta$ -конфигурацию гликозидного центра, что подтверждено характерной КССВ для Н-1' (<sup>1</sup>Н-ЯМР:  $J_{1,2'}$  8 Гц). Выход 40,7% (в расчете на вступивший в реакцию спирт (2)), т. пл. 98—100° С (хлороформ — петролейный эфир),  $R_f$  0,58 (вариант 1) в системе диэтиловый эфир — метанол (10 : 1).

Для дальнейшей функционализации молекулы с целью введения в положение 1(3) циклитного кольца остатка фосфатидной кислоты необходимо было

избирательно удалить левулиноильную защитную группировку, не затрагивая при этом ацетатных защит углеводов гидроксидов и гликозидной связи. Это достигалось при действии на полностью замещенное производное (4) гидразингидрата в смеси пиридин — уксусная-кислота (4 : 1) [8]. Образующееся с выходом 96,6% соединение (5) (масло) очищали колоночной хроматографией на силикагеле,  $R_f$  0,18 (вариант 1) в системе хлороформ — ацетон (3 : 1).

Для создания фосфодизфирного узла между молекулами гликозилинозита и 1,2-дипальмитоилглицерина был использован N-фосфонатный метод, состоящий в конденсации частично замещенного производного *мио*-инозита (5) с 1,2-дипальмитоил-*гас*-глицеро-N-фосфонатом (6) [9] в пиридине при активирующем действии пивалоилхлорида. Через 10 мин ТСХ-анализ показывал почти количественное превращение исходных соединений в продукт реакции. Последующее окисление образующегося N-фосфонатного дизфира (без его выделения из реакционной смеси) йодом в водном пиридине и очистка реакционной смеси хроматографией на силикагеле позволили получить фосфоинозитид (7). Выход 59%, т. пл. 107—109° С (осаждение из ацетона),  $R_f$  0,40 на пластинках Kieselgel 60F-254 НРТLC (Merck, ФРГ) (вариант 2) в системе хлороформ — метанол — 20% водн.  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 70 : 15 : 2 (система А).  $^{31}\text{P}$ -Спектр соединения (7) содержит сигнал одной фосфатной группировки.

Последовательное удаление кетальных и ацетатных защитных групп действием 50% водной уксусной кислоты и спиртовым раствором гидразингидрата привело к целевому гликозилфосфатидинозиту (8). Выход 72,5%, т. пл. >250° С (осаждение из ацетона),  $R_f$  0,19 (вариант 2) в системе хлороформ — метанол — вода (65 : 25 : 4).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$  (м. д.): 1,12—1,16 (2с, 6H, 2 $\text{CH}_3$ ), 1,46—1,74 (м, 56H, 28 $\text{CH}_2$  пальмитоила), 1,92 (м, 7H), 3,01—3,91 (м, 16H, 11СН инозита и глюкозамина, 5H глицерина), 4,55 (с, 1H, H-1'), 5,20 (м, 1H, СН инозита).

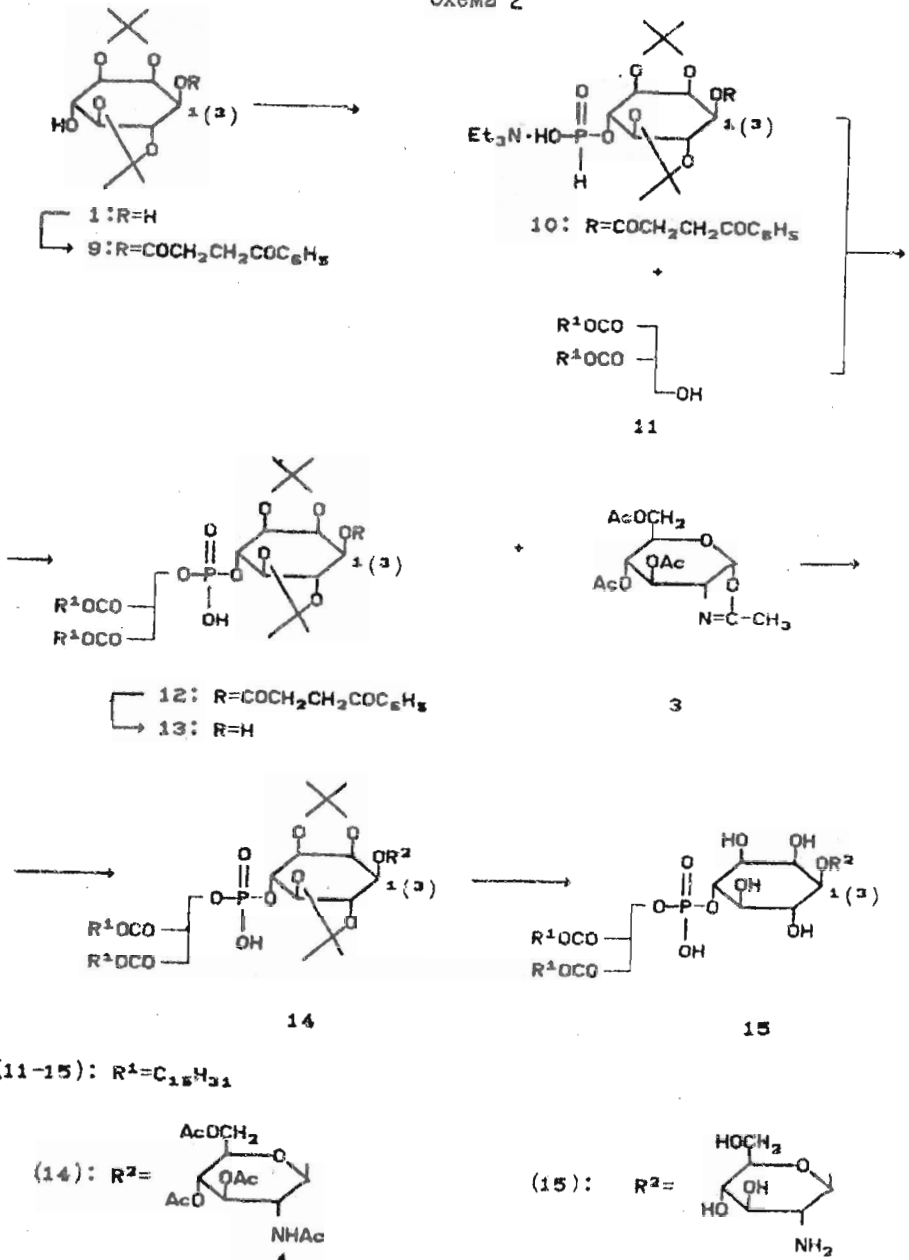
Синтез соединения (15) представлен на схеме 2. Селективным ацилированием дикетала (1) действием  $\beta$ -бензоилпропионовой кислоты в присутствии дициклогексилкарбодиимида получили моноацильное производное (9), выделенное из реакционной смеси хроматографией на силикагеле. Выход 67%, т. пл. 186—187° С (этанол),  $R_f$  0,15 (вариант 1) в системе хлороформ — ацетон (9 : 1). В свободное положение 4(6) циклитного кольца *мио*-инозита в соединении (9) направленно вводили остаток фосфатидной кислоты, используя N-фосфонатный метод фосфорилирования [10]. Для этого пентазамещенное производное (9) фосфитилировали действием триимидазолилфосфита, образующегося непосредственно перед реакцией, и колоночной хроматографией на силикагеле выделяли триэтиламмониевую соль N-фосфоната (10), представляющую собой аморфное соединение. Выход 93%,  $R_f$  0,45 (вариант 2) в системе А.  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектр соединения (10) свидетельствует об образовании фосфоэфирной связи ( $\delta$  6,98 м. д.,  $J_{\text{P-H}}$  642,5 Гц).

Полностью замещенное производное (10) конденсировали с 1,2-дипальмитоил-*гас*-глицерином (11) в пиридине в присутствии активирующих реагентов (пивалоилхлорида или 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорида). Промежуточный N-фосфонатный дизфир без выделения окисляли йодом в водном пиридине, получая с выходом 75,4% целевой фосфодизфир (12), очищенный с помощью хроматографии на силикагеле (т. пл. 201—203° С (осаждение из ацетона),  $R_f$  0,51 (вариант 2) в системе А).

Соединение (12) подвергали действию спиртового раствора гидразингидрата [11] для избирательного дезацилирования положения 1(3) при сохранении жирнокислотных остатков. Образующееся при этом моногидроксильное производное (13) (выход 61%, т. пл. 219—220° С (осаждение из ацетона),  $R_f$  0,33 (вариант 2) в системе А), выделенное из реакционной смеси хроматографией на силикагеле, гликозилировали с использованием оксазолинового метода соединением (3) в смеси нитрометан — толуол в присутствии каталитического количества *n*-толуолсульфокислоты.

Колоночной хроматографией выделяли полностью защищенный продукт (14) (выход 81%, т. пл. 106—108° С (осаждение из ацетона),  $R_f$  0,38 (вариант 2) в

Схема 2



системе А). Полученный гликозаминид (14) имел  $\beta$ -конфигурацию аномерного центра ( $^1H$ -ЯМР-спектр,  $\delta$  4,62 м. д., д,  $J_{1,2}$  8 Гц, Н-1'). Двухэтапное удаление защитных группировок в соединении (14) обработкой его сначала 50% водной уксусной кислотой, а затем спиртовым раствором гидразингидрата позволило получить целевой гликозилфосфатидиликозит (15). Выход 69,2%, т. пл.  $>250^\circ C$  (осаждение из ацетона),  $R_f$  0,19 (вариант 2) в системе хлороформ — метанол — вода (65 : 25 : 4).  $^1H$ -ЯМР-спектр (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (м. д.): 1,10—1,13 (2с, 6H, 2CH<sub>3</sub>), 1,40—1,69 (м, 56H, 28CH<sub>2</sub> пальмитоила), 1,94 (м, 7H), 3,02—3,91 (м, 16H, 11CH инозита и глюкозамина, 5H глицерина), 4,57 (с, 1H, Н-1'), 5,19—5,23 (м, 1H, СН инозита).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schmitz B., Klein R. A., Duncan I. A. // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 1987. V. 146. № 3. P. 1055—1063.
2. Low M. G. // *Biochim. et biophys. acta.* 1989. V. 988. № 3. P. 427—454.
3. Low M. G., Saltiel A. R. // *Science.* 1988. V. 239. № 4837. P. 268—275.
4. Saltiel A. R., Fox J. A., Sherline P., Cuartrecasas P. // *Science.* 1986. V. 233. № 4767. P. 967.
5. Gigg J., Gigg R., Payne S., Conant R. // *Carb. Res.* 1985. V. 142. № 1. P. 132—134.
6. Zurabyan S. E., Antonenko N. S., Khorlin A. Ya. // *Carb. Res.* 1970. V. 15. № 1. P. 21—27.
7. Бовин Н. В., Зурабян С. Э., Хорлин А. Я. // *Изв. АН СССР. Сер. хим.* 1981. № 12. С. 2806—2808.
8. Koeners H. J., Verhoeven J., van Boom J. H. // *J. Royal Netherlands Chem. Soc.* 1981. V. 100. № 2. P. 65—72.
9. Lindh I., Stawinski J. // *J. Org. Chem.* 1989. V. 54. № 6. P. 1338—1342.
10. Николаев А. В., Рябцева Е. В., Шибяев В. Н., Кочетков Н. К. // *Биоорганич. химия.* 1989. Т. 15. № 12. С. 1649—1659.
11. Шевченко В. П., Лазуркина Т. Ю., Молотковский Ю. Г., Бергельсон Л. Д. // *Биоорганич. химия.* 1976. Т. 2. № 7. С. 923—926.

Поступило в редакцию  
7.IX.1993

*N. S. Shastina, L. I. Einisman, A. E. Stepanov,  
V. I. Shvets*

### **SYNTHESIS OF GLYCOSYL PHOSPHATIDYLINOSITOL DERIVATIVES**

*M. V. Lomonosov Moscow State Academy  
of Fine Chemical Technology, Moscow*

The oxazoline method and two modifications of the hydrogenphosphonate method were used to obtain inositol-containing glycolipids.