



УДК 547.952/953

**СИНТЕЗ *rac*-ЦЕРАМИД-1-ФОСФОГЛИЦЕРИНА
ЧЕРЕЗ *rac*-3-БЕНЗОИЛЦЕРАМИДФОСФАТ***Бушнев А. С., Карпышев Н. Н., Уляшин В. В.,
Звонкова Е. Н., Евстигнеева Р. И.**Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова*

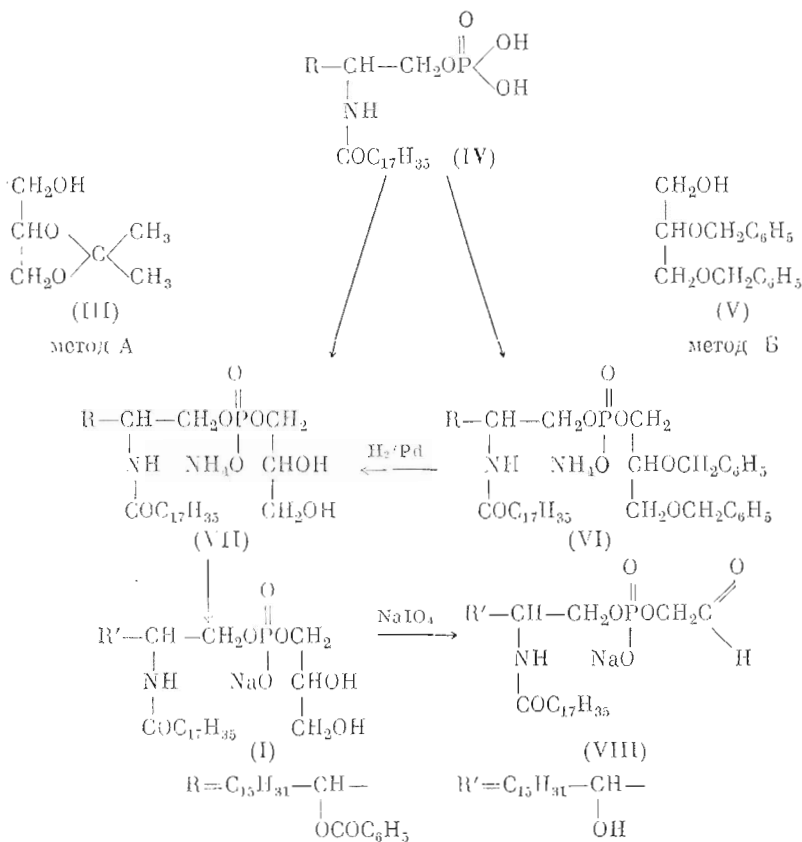
Осуществлен синтез *rac*-церамид-1-фосфоглицерина из *rac*-3-бензоилцерамид-1-фосфата конденсацией с изопропилиденглицерином или 1,2-дибензилглицерином в присутствии триизопропилбензолсульфохлаорида с последующим удалением защитных групп. Структура полученного соединения подтверждено данными физико-химических методов анализа и периодатным окислением.

В процессе разработки удобных путей синтеза сложных фосфорсодержащих сфинголипидов нами осуществлен синтез рацемического церамид-1-фосфоглицерина (I). Соединения подобного типа были выделены из анаэробной бактерии *Bacteroides melaninogenicus* [1, 2] и в настоящее время являются предметом биохимических исследований [3].

Ранее в нашей лаборатории был осуществлен синтез соединения (I) фосфорилированием *rac*-3-бензоилцерамида (II) с помощью изопропилиденглицерилдихлорфосфата [4]. Этот фосфорилирующий агент получали взаимодействием хлорокиси фосфора и изопропилиденглицерина (III) в пиридине непосредственно перед реакцией с *rac*-3-бензоилцерамидом (II) и использовали без выделения, поскольку он разлагался при перегонке в вакууме. Очевидно, что подобный подход к синтезу комплексных фосфолипидов не является универсальным из-за сложности и подчас невозможности получения соответствующих хлорфосфатов в качестве фосфорилирующих агентов.

В настоящей работе показана возможность синтеза *rac*-церамид-1-фосфоглицерина (I) из *rac*-3-бензоилцерамид-1-фосфата (IV) [5] двумя путями: конденсацией с изопропилиденглицерином (III) (метод А) и конденсацией с 1,2-дибензилглицерином (V) (метод Б) под действием триизопропилбензолсульфохлаорида (TPS) как конденсирующего агента, с последующим удалением защитных групп (см. схему).

Подобный подход к созданию фосфодиэфирных структур в ряду сфинголипидов был успешно использован в нашей лаборатории при синтезе сфингомиелина [6]. Выбор производных (III) и (V) в качестве глицеринсодержащих компонентов для синтеза фосфолипида (I) обусловливался следующими причинами: изопропилиденглицерин (III) — легко доступное как в рацемической форме, так и в оптически деятельном виде соединение с изопропилиденовой группировкой, легко удаляющейся мягким кислотным гидролизом, пригодное для получения как насыщенных, так и ненасыщенных соединений типа (I); 1,2-дибензилглицерин (V), хотя



может использоваться только для синтеза насыщенного фосфата (I) из-за необходимости применять каталитическое гидрирование для удаления защитных бензильных групп, позволяет однозначно получить промежуточный диффир (VI) благодаря устойчивости бензильных группировок в процессе фосфорилирования и выделения продуктов реакции.

В настоящей работе при получении фосфолипида (I) по методу А конденсацию 3-бензоилцерамидфосфата (IV) и изопропилиденглицерина (III) под действием TPS проводили в пиридине в качестве растворителя при соотношении реагирующих веществ 1 : 2 : 3, что обеспечивало полноту протекания реакции и сводило к минимуму образование побочных соединений. После обработки реакционной смеси разбавленной соляной кислотой для удаления следов пиридина и деблокирования глицеринового компонента 3-бензоилцерамид-1-фосфоглицерин (VII) выделяли в виде аммониевой соли. Подобным образом конденсацией соединений (IV) и (V) в присутствии TPS синтезировали 3-бензоилцерамид-1-фосфо-1'-(2',3'-дибензил)глицерин (VI), последующим гидронолизом которого на палладиевом катализаторе получали защищенный фосфат (VIII). Выделенные в обоих случаях образцы 3-бензоилцерамид-1-фосфоглицерина (VII) были идентичны по спектральным данным, хроматографической подвижности; смешанная проба образцов в виде свободной кислоты не давала депрессии точки плавления. Обработка аммониевой соли (VII) метанольным раствором метилата натрия привела к церамид-1-фосфоглицерину (I), свойства которого соответствовали описанным ранее [4].

Для подтверждения структуры церамид-1-фосфоглицерина (I) и доказательства отсутствия изомеров положения этого вещества по глицериновой части молекулы мы осуществили периодатное окисление по методу [7] и показали, что в результате окисления с высоким выходом образуется альдегид (VIII) — продукт деградации фосфолипида (I). Строение и

индивидуальность всех синтезированных соединений были подтверждены данными ИК- и УФ-спектроскопии, тонкослойной хроматографии, а также данными элементного анализа (в случае не описанных ранее веществ).

Экспериментальная часть

ИК-спектры синтезированных соединений сняты на спектрометре Perkin-Elmer 257 в таблетках с KBr, спектр УФ — на спектрофотометре Hitachi EPS-3T в хлороформе. ТСХ проводили на силикагеле Л 5/40 мкм (обнаружение — серной кислотой с нагревом до 250° или молибдатом аммония) в системах растворителей: хлороформ — метанол — 25% NH₄OH, 15 : 3 : 0,5 (А); хлороформ — метанол — 25% NH₄OH, 13 : 4 : 0,5 (Б); хлороформ — метанол — уксусная кислота — вода, 14 : 4 : 1 : 0,3 (В).

гас-3-Бензоилцерамид-1-фосфо-1'-(2',3'-добензил)глицерин (VI). К раствору 0,49 г *гас-3-бензоилцерамид-1-фосфата* (IV) [5] и 0,61 г TPS в 30 мл пиридина прибавляли при 20–22° раствор 0,36 г 1,2-добензилглицерина [8] (V) в 10 мл пиридина. Через 5 ч реакционную массу разлагали водой (3 мл) и разбавляли 250 мл эфира, органический слой отделяли, промывали 5 н. соляной кислотой, водой, упаривали, остаток наносили на колонку (150 × 20 мм) с силикагелем Л 40/100 мкм, вымывая соединение (VI) в виде аммониевой соли смесью хлороформ — метанол — 25% NH₄OH, 15 : 3 : 0,5. Выход 0,40 г (61,8%), т. пл. 70–73° (из хлороформа — метанола). *R_f* 0,45 (А). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3500–3100 шир, 3300 с, 1730 с, 1650 с, 1550 с, 1265 с, 1240 с, 1120 с, 1080 с. Найдено, %: С 70,33; Н 9,66; N 2,70; P 3,03. C₆₀H₉₉N₂O₉P. Вычислено, %: С 70,41; Н 9,75; N 2,74; P 3,03.

гас-3-Бензоилцерамид-1-фосфо-1'-глицерин (VII). а) К раствору 0,55 г 3-бензоилцерамидфосфата (IV) и 0,75 г TPS в 40 мл пиридина прибавляли раствор 0,21 г изопропилендиглицерина (III) в 10 мл пиридина. Через 5 ч реакционную массу разлагали добавлением 5 мл воды, растворитель удаляли при 0,1 мм рт. ст., остаток растворяли в 250 мл эфира, нерастворившуюся часть отфильтровывали, фильтрат промывали 5 н. соляной кислотой, водой, упаривали. Остаток очищали на колонке (200 × 25 мм) с силикагелем Л 40/100 мкм, элюируя вещество смесью хлороформ — метанол — 25% NH₄OH, 15 : 3 : 0,5. Выход аммониевой соли (VII) 0,42 г (70,1%), т. пл. 99–102° (из хлороформа — метанола).

б) Раствор 0,24 г аммониевой соли (VI) в 20 мл смеси толуол — метанол (3 : 1) гидрировали над палладиевой чернью 48 ч при 20–22°, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток растворяли в минимальном количестве смеси хлороформ — метанол (3 : 1) и добавляли 20 мл ацетона, содержащего небольшое количество аммиака. Выпавший осадок отфильтровывали и сушили. Выход аммониевой соли (VII) 0,20 г (~100%), т. пл. 99–102° (из хлороформа — метанола). *R_f* 0,41 (Б). ИК-спектр (ν , см⁻¹): 3500–3100 шир, 3300 с, 1730 с, 1650 с, 1550 с, 1240 с, 1120 с, 1080 с. Найдено, %: С 65,37; Н 10,31; N 3,28; P 3,26. C₄₆H₈₇N₂O₉P. Вычислено, %: С 65,53; Н 10,40; N 3,32; P 3,67.

Раствор 50 мг аммониевой соли (VII) в 10 мл смеси хлороформ — метанол — вода (15 : 5 : 1) перемешивали 30 мин с 0,5 г дауэкса 50W × 2 в H⁺-форме, отфильтровывали, упаривали. После перекристаллизации остатка из смеси эфир — хлороформ получали 43 мг свободной кислоты (VII), т. пл. 92–93,5°. Лит. данные [4]: т. пл. 92–93,5°.

гас-Церамид-1-фосфо-1'-глицерин (I), натриевая соль. К раствору 0,25 г аммониевой соли (VII) в смеси 12 мл хлороформа и 8 мл метанола прибавляли 2 мл 1 н. раствора метилата натрия в метаноле. Через 2 ч к реакционной массе добавляли уксусную кислоту до pH ~8, упаривали до половины объема, добавляли 10 мл воды, выпавший осадок отделяли и последовательно промывали водой, ацетоном, хлороформом. Выход соли (I) 0,15 г (67,1%), т. пл. 175–176°. Лит. данные [4]: т. пл. 176–

178°. R_f 0,26 (B). ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3300 шир, 1650 с, 1550 с, 1220 с, 1100 с, 1010 с.

rac-Церамид-1-фосфоэтаналь (VIII), натриевая соль. Суспензию 0,10 г натриевой соли (I) и 0,25 г периодата натрия в 15 мл смеси трет-бутанол — вода (1 : 1) перемешивали 2 ч при 40°. Реакционную массу разбавляли 15 мл воды, осадок отделяли, промывали водой, ацетоном, сушили в токе азота. Выход 0,08 г (74%), т. пл. 182—186°. R_f 0,29 (B); 0,65 (B), ср. [7]. ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3300 шир, 1680 с, 1550 с, 1100 с. 2,4-Динитрофенилгидразон: т. пл. 95—99° (из хлороформа — метанола), УФ-спектр (λ_{max} , нм): 252 (ϵ 10 500), 353 (ϵ 22 100).

ЛИТЕРАТУРА

1. La Bach J. P., White D. C. (1969) *J. Lipid Res.*, **10**, 528—534.
2. White D. C., Tucker A. N. (1970) *Lipids*, **5**, 56—62.
3. Lew M., Milford A. F. (1977) *J. Bacteriol.*, **130**, 445—454.
4. Бушнев А. С., Мицнер Б. И., Звонкова Е. П., Евстигнеева Р. П. (1973) *Ж. орган. химии*, **9**, 2490—2492.
5. Bushnev A. S., Zvonkova E. N., Evstigneeva R. P. (1975) *Chem. Phys. Lipids*, **14**, 263—267.
6. Звонкова Е. Н., Мицнер Б. И., Бушнев А. С., Орлова Е. Г., Крупна Г., Маркина П. Н., Талагаева С. В., Евстигнеева Р. П. (1975) *Биоорган. химия*, **1**, 1746—1754.
7. Kemp P., Dawson R. M. C., Klein R. A. (1972) *Biochem. J.*, **130**, 221—227.
8. Wickberg B. (1958) *Acta chem. scand.*, **12**, 1187—1201.

Поступила в редакцию
10.VII.1978

SYNTHESIS OF *rac*-CERAMIDE-1-PHOSPHOGLYCEROL FROM *rac*-3-BENZOYL CERAMIDE PHOSPHATE

BUSHNEV A. S., KARPYSHEV N. N., ULYASHIN V. V., ZVONKOVA E. N.,
EVSTIGNEEVA R. P.

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

A novel synthesis of ceramide-1-phosphoglycerol, naturally occurring in anaerobic bacteria *B. melaninogenicus*, has been reported which consists of 3-benzoylceramide phosphate condensation with isopropylidene glycerol or 1,2-dibenzylglycerol in the presence of triisopropylbenzenesulphonyl chloride as condensing agent followed by the removal of protecting groups. The structure of the compound obtained has been proved by physico-chemical means and by periodate oxidation.