



УДК 547.952/953

СИНТЕЗ ЦЕРАМИД-1-ФОСФО-1'-(1', 2'-ДИОКСИ-3'-АМИНО)-ПРОПАНА

*Карнышев Н. Н., Бушнев А. С., Полстянов А. Е.,
Звоноква Е. Н., Евстигнеева Р. П.*

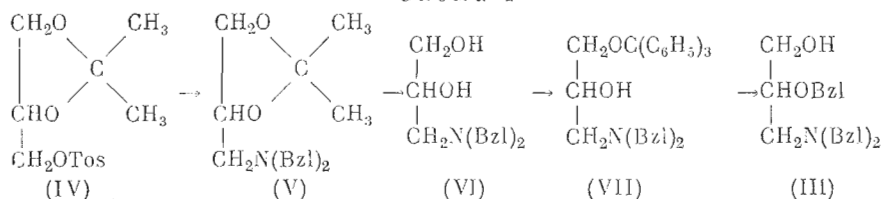
Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

В несколько стадий из 1,2-изопропилиден-3-тозил-*rac*-глицерина синтезировали 2-О-3-*N,N*-трибензил-1,2-диокси-3-аминопропан, конденсацией которого с 3-бензоилцерамид-1-фосфатом в присутствии триизопропилбензолсульфохлорида (TPS) и последующим удалением защитных групп получен церамид-1-фосфо-1'-(1', 2'-диокси-3'-амино)пропан — рацемат бактериального фосфорсодержащего сфинголипида.

В 1972 г. из микроорганизмов бараньего желудка был выделен необычный фосфорсодержащий сфинголипид — церамид-1-фосфо-1'-(1', 2'-диокси-3'-амино)пропан, структура которого была доказана анализом продуктов деградации природного соединения [1].

Нами осуществлен синтез рацемической формы этого сфинголипида (I), в основу которого положен метод создания фосфодиэфирной структуры, использованный ранее при синтезе другого представителя бактериальных фосфосфинголипидов — церамидфосфоглицерина [2]. По этому методу мы проводили конденсацию *rac*-3-бензоилцерамид-1-фосфата (II) с защищенным рацемическим диоксиаминопропаном (III). Синтез соединения (III) осуществлялся на основе доступного рацемического 1,2-изопропилиден-3-тозилглицерина (IV), из которого реакцией с дибензиламином получали диоксолан (V). Изопропилиденовую защиту удаляли кислотным гидролизом и образовавшийся дибензиламинопропандиол (VI) превращали в трибензильное производное (VII) с использованием тритильной группы для временной защиты первичного гидроксила в соединении (VII) (см. схему 1).

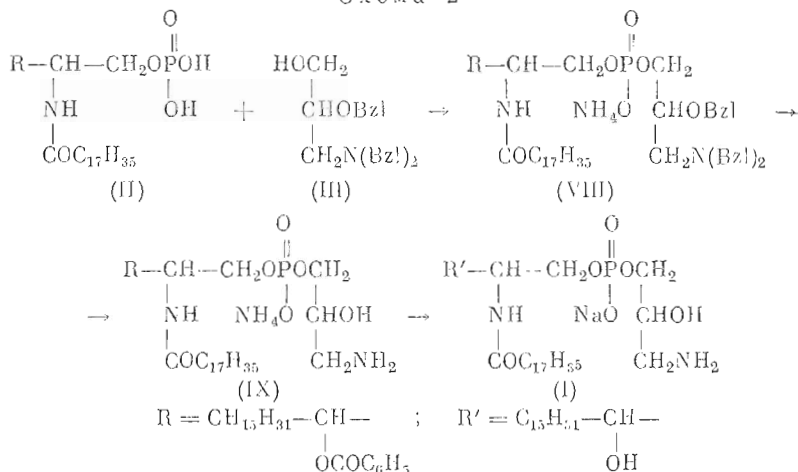
Схема 1



Выбор бензильных групп для защиты аминогруппы и вторичного гидроксила обуславливался возможностью их одновременного удаления в мягких условиях гидрогенолизом на палладиевом катализаторе.

Конденсация *rac*-3-бензоилцерамид-1-фосфата (II) с 2-О-3-*N,N*-трибензил-1,2-диокси-3-аминопропаном (III) в присутствии TPS осуществля-

Схема 2



лась, как и в предыдущей работе [2], при молярном соотношении реагирующих веществ 1 : 2 : 3. Продукт конденсации — диафир (VIII) был выделен в виде аммониевой соли с помощью хроматографической очистки на колонке с силикагелем. Последующее гидрирование соединения (VIII) привело к 3-бензоилцерамид-1-фосфо-1'-(1',2'-диокси-3'-амино)пропану (IX). Удаление бензоильной защиты осуществлялось метилатом натрия в метаноле, и церамид-1-фосфо-1'-(1',2'-диокси-3'-амино)пропан (I) был выделен в виде натриевой соли, чтобы избежать N-O-ацильной миграции, автокатализируемой фосфорнокислым остатком молекулы (см. схему 2).

Строение всех полученных соединений было подтверждено данными ИК-спектров и элементным анализом, их индивидуальность установлена при помощи ТСХ.

Для окончательного подтверждения структуры синтезированного таким образом сфинголипида (I) его подвергали окислению периодатом натрия в условиях, использованных для доказательства строения природного соединения [1]. Ранее этот же метод был успешно применен нами для деградации церамидфосфолипидов [2]. Реакция окисления протекала количественно (по данным ТСХ), причем единственный продукт реакции давал качественные специфические реакции на остаток фосфорной кислоты с молибдатом аммония и на альдегидную группу с 2,4-динитрофенилгидразином, а его хроматографическая подвижность соответствовала подвижности церамидфосфоглицерола, указанной в работе [1]. Выделенный продукт окисления (X) был идентичен церамидфосфоглицероалу, полученному нами ранее [2].

Экспериментальная часть

ИК-спектры синтезированных соединений сняты на спектрометре Perkin-Elmer 257 в тонкой пленке вещества для маслообразных и в таблетках с KBr для кристаллических соединений. ТСХ (кроме случаев, оговоренных особо) проводили на пластинках Silufol UV 254 (УССР), обнаружение пятен: в УФ-свете (А); нагревом до 300° (Б); молибдатом аммония (В); нингидрином (Г); 0,4% раствором 2,4-динитрофенилгидразина в 2 н. соляной кислоте (Д).

2,2-Диметил-4-добензиламинометил-1,3-диоксолан (V). Смесь 11,7 г рацемического 1,2-изопропилиден-3-тозилглицерина (IV) [3], 45 мл дибензиламина и 50 мл бензола кипятили 20 ч, охлаждали, отфильтровывали, к фильтрату добавляли раствор 8 мл ледяной уксусной кислоты в 100 мл гексана. Через 30 мин выпавший осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток хроматографировали на колонке с 500 г окиси

алюминия IV ст. акт., вымывая вещества гексаном. Выход 8,7 г (68,5%), масло. R_f 0,46 (А, Б, гексан — эфир, 5 : 1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3100 ср, 3080 ср, 3045 с, 2950 с, 2878 с, 1460 с, 1385 с, 1370 с, 1230 ср. Найдено, %: С 77,13; Н 8,08; N 4,69. $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{NO}_2$. Вычислено, %: С 77,13; Н 8,09; N 4,51.

3-N,N-Дибензил-1,2-диокси-3-аминопропан (VI). Раствор 3,34 г диоксиана (V) в 30 мл 3 н. соляной кислоты выдерживали 10 ч при 20°, промывали эфиром (3 × 30 мл), при 0° добавляли 10 г твердого едкого натра, полученный раствор экстрагировали смесью хлороформ — метанол, 10 : 1 (3 : 50 мл), объединенные экстракты упаривали и остаток перекристаллизовывали из хлороформа. Выход 2,01 г (71,5%), т. пл. 48—48,5°. R_f 0,62 (А, Б, хлороформ — метанол — 25% NH_4OH , 15 : 3 : 0,5). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3600—3200 шир, 3100 ср, 3080 ср, 3045 с, 2950 с, 2878 с, 1250 ср, 1080 с, 1045 с. Найдено, %: С 75,19; Н 7,87; N 5,13. $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_2$. Вычислено, %: С 75,25; Н 7,80; N 5,16.

1-O-Трифенилметил-3-N,N-дибензил-1,2-диокси-3-аминопропан (VII). К раствору 2,01 г соединения (VI) в 20 мл пиридина при 0° прибавляли раствор 2,20 г триэтилхлорида в 20 мл пиридина и выдерживали 24 ч при 20°. Растворитель удаляли в вакууме, остаток хроматографировали на колонке с 150 г окиси алюминия IV ст. акт., элюируя вещество системой гексан — эфир при изменении концентрации последнего от 0 до 100%. Выход 2,87 г (76,1%), т. пл. 134—135° (из эфира). R_f 0,40 (А, Б, гексан — эфир, 2 : 1). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3500—3300 шир, 3100 с, 3080 с, 3045 с, 2950 с, 2878 с, 1250 ср, 1080 с. Найдено, %: С 84,12; Н 6,91; N 2,75. $\text{C}_{36}\text{H}_{35}\text{NO}_2$. Вычислено, %: С 84,17; Н 6,87; N 2,73.

2-O-3-N,N-Трибензил-1,2-диокси-3-аминопропан (III). Смесь 2,18 г тритильного производного (VII), 5,0 г порошкообразного едкого кали и 15 мл бензилхлорида перемешивали 3 ч при 80°, фильтровали, к фильтрату добавляли 50 мл 80% уксусной кислоты и кипятили 30 мин. Упаривали смесь в вакууме (0,1 мм рт. ст.), остаток растворяли в 50 мл эфира и экстрагировали 2 н. соляной кислотой (4 × 50 мл), объединенные кислые экстракты обрабатывали при 0° твердым едким натром до pH 10, экстрагировали хлороформом (5 × 50 мл), хлороформные экстракты упаривали, остаток очищали на колонке с 100 г окиси алюминия II ст. акт., вещество (III) вымывали системой гексан — эфир при изменении концентрации последнего от 0 до 100%. Выход 0,79 г (49,9%), масло. R_f 0,72 (А, Б, хлороформ — метанол — 25% NH_4OH , 15 : 3 : 0,5). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3600—3200 шир, 3100 ср, 3080 с, 3045 с, 2950 с, 2878 с, 1460 с, 1385 с, 1280 с, 1215 ср, 1100 с, 1080 с. Найдено, %: С 79,67; Н 7,72; N 3,68. $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_2$. Вычислено, %: С 79,74; Н 7,53; N 3,88.

гас-3-Бензоилцерамид-1-фосфо-1'-(2'-O-3'-N,N-трибензил-1',2'-диокси-3'-амино)пропан (VIII). Раствор 0,60 г 3-бензоилцерамид-1-фосфата (II) [4], 0,55 г (III) и 0,71 г TPS в 40 мл пиридина выдерживали 5 ч при 20°, реакционную массу разлагали 3 мл воды, через 15 мин растворитель удаляли в вакууме (0,1 мм), остаток растворяли в 50 мл эфира, нерастворившуюся часть отфильтровывали, фильтрат упаривали. Остаток очищали на колонке (150 × 25 мм) с силикагелем Л 40/100 мкм, вымывая вещество (VIII) в виде аммониевой соли системой хлороформ — метанол — 25% NH_4OH , 15 : 3 : 0,5. Выход 0,51 г (60,0%), т. пл. 53—56° (из метанола). R_f 0,45 (А — В, хлороформ — метанол — 25% NH_4OH , 15 : 3 : 0,5). ИК-спектр (ν , см^{-1}): 3500—3200 шир, 3300 с, 1730 с, 1650 с, 1550 с, 1280 с, 1230 с, 1120 с, 1080 с, 1030 ср. Найдено, %: С 72,26; Н 9,55; N 3,51; P 2,69. $\text{C}_{67}\text{H}_{106}\text{N}_3\text{O}_8\text{P}$. Вычислено, %: С 72,33; Н 9,60; N 3,78; P 2,78.

гас-3-Бензоилцерамид-1-фосфо-1'-(1',2'-диокси-3'-амино)пропан, аммониевая соль (IX). Раствор 0,19 г фосфата (VIII) в 10 мл смеси толуол — метанол (2 : 1) гидрировали 20 ч над палладиевой чернью при 20°, катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, остаток хроматографировали на колонке (60 × 20 мм) с силикагелем Л 40/100 мкм, элюируя аммониевую

соль (IX) смесью хлороформ — метанол — 25% NH_4OH , 15 : 5 : 1. Выход 0,11 г (79,1%), т. пл. 130—134° (из хлороформа — метанола). ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3600—3100 шир, 1730 с, 1650 с, 1550 с, 1280 с, 1230 с, 1190 с, 1120 с, 1080 с. Найдено, %: С 65,42; Н 10,53; N 4,82; P 3,55. $\text{C}_{46}\text{H}_{88}\text{N}_3\text{O}_8\text{P}$. Вычислено, %: С 65,50; Н 10,53; N 5,00; P 3,68.

гас-Церамид-1-фосфо-1'-(1',2'-диокси-3'-амино)пропан (I). К раствору 93 мг бензоильного производного (IX) в смеси 3 мл хлороформа и 3 мл метанола прибавляли 1 мл 2 н. раствора метилата натрия в метаноле. Через 2 ч реакционную массу упаривали до половины объема и добавляли 2 мл воды, выпавший осадок отфильтровывали, промывали последовательно водой, ацетоном, хлороформом, сушили. Выход натриевой соли (I) 55 мг (68%), т. пл. 187—188° (из хлороформа — метанола). R_f 0,41 на пластинке DC-Fertigplatten Kieselgel 60 (Merck, ФРГ) (Б — Г, хлороформ — метанол — уксусная кислота — вода, 110 : 50 : 8 : 5), ср. [1]. ИК-спектр (ν , cm^{-1}): 3500—3100 шир, 1650 с, 1550 с, 1210 с, 1070 с. Найдено, %: С 62,91; Н 10,79; N 3,68; P 4,11. $\text{C}_{39}\text{H}_{80}\text{N}_2\text{O}_7\text{PNa}$. Вычислено, %: С 63,04; Н 10,87; N 3,77; P 4,17.

Окисление гас-церамид-1-фосфо-1'-(1',2'-диокси-3'-амино)пропана (I). Аналитическое количество натриевой соли (I) окисляли периодатом натрия по известному методу [1], контролируя ход окисления при помощи ТСХ (см. получение — предыдущую методику). Через 2 ч соединение (I) полностью превращалось в *гас-церамид-1-фосфоэтаналь (X)* с R_f 0,49 (Б, В, Д, хлороформ — метанол — уксусная кислота — вода, 110 : 50 : 8 : 5).

ЛИТЕРАТУРА

1. Kemp P., Dawson R. M. C., Klein R. A. (1972) *Biochem. J.*, **130**, 221—227.
2. Бушнев А. С., Карышев Н. Н., Удьянин В. В., Звонкова Е. Н., Евстигнеева Р. П. (1979) *Биоорганическая химия*, **5**, 234—237.
3. Baer E., Fisher H. O. L. (1948) *J. Amer. Chem. Soc.*, **70**, 609—610.
4. Bushnev A. S., Zvonkova E. N., Evstigneeva R. P. (1975) *Chem. Phys. Lipids*, **14**, 263—267.

Поступила в редакцию
10.VII.1978

SYNTHESIS OF CERAMIDE-1-PHOSPHO-1'-(1',2'-DIHYDROXY-3'-AMINO)PROPANE

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

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

The chemical synthesis of the racemic form of the title compound, a phosphorus containing microbial sphingolipid, has been performed. It involves condensation of 3-benzoylceramide phosphate with tribenzyl derivative of 1,2-dihydroxy-3-aminopropane in the presence of triisopropylbenzenesulphonyl chloride followed by deprotection using catalytic hydrogenolysis and methanolic sodium methylate treatment.