УДК 547.915

ОПТИЧЕСКОЕ РАСЩЕПЛЕНИЕ РАЦЕМИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ *мио*-ИНОЗИТА НА ЭНАНТИОМЕРЫ В СИНТЕЗЕ ИНОЗИТСОДЕРЖАЩИХ ФОСФОЛИПИДОВ ПРИРОДНОГО СТРОЕНИЯ

А.Е. Степанов, **ведущий научный сотрудник,**
В.И. Швец, **заведующий кафедрой**
кафедра Биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В.Ломоносова
e-mail: aestepanov@yandex.ru

Рассмотрены методы расщепления (разделения) рацемических производных мио-инозита на оптические антиподы через образование диастереомерных соединений с углеводами.
Methods for resolution (splitting) of racemic myo-inositol derivatives into optical antipods via formation of diastereomeric compounds with carbohydrates are reviewed.

Ключевые слова: *мио-инозит, моносахариды, диастереомеры, оптические антиподы.*
Key words: *myo-inositol, monosaccharides, diastereomers, optical antipodes.*

Сложные фосфолипиды, фосфолипидные комплексы и конъюгаты, содержащие в своей структуре циклический шестиатомный полиол *мио*-инозит, широко распространены в животных и растительных организмах, входят в фосфолипидный пул многих микроорганизмов. Инозитсодержащие фосфолипиды, ввиду сложного строения и трудностей выделения из природного материала, были открыты значительно позднее классических фосфолипидов, после чего начались интенсивные исследования их биологических свойств, биосинтеза, участия в ключевых реакциях метаболических превращений, механизмов регуляции физиологического состояния клетки. Сложные проблемы в изучении структурно-функциональных взаимоотношений в ряду инозитсодержащих фосфолипидов потребовали разработки принципиально новых синтетических методов применительно к химии липидов и полиолов с целью получения индивидуальных образцов соединений заведомого строения и с природной стереохимической конфигурацией молекулы, необходимых для окончательного установления строения веществ, выделенных из различных источников.

При разработке путей синтеза инозитсодержащих фосфолипидов самая трудная проблема заключалась в практически полном отсутствии методов расщепления производных *мио*-инозита на оптические антиподы – в природных соединениях *мио*-инозита циклогексановый остов асимметрично замещен различными радикалами, вследствие чего такие структуры, образующиеся биосинтетическим путем, обладают оптической активностью, а их химический синтез приведет к успеху только на основе соответствующих исходных хиральных соединений. Работы по созданию методов получения оптически активных производных *мио*-инозита, необходимых стартовых соединений в направленном синтезе фосфоинозитидов и их биологически активных фрагментов природного строения, были начаты на рубеже 60-70-х годов прошлого века одновременно несколькими коллективами исследователей в разных странах, в том числе и в МИТХТ в небольшой группе к.х.н. В.И. Швеца – ныне д.х.н., профессора, академика РАМН.

В реализации поставленной цели группе под руководством В.И. Швеца удалось получить приоритетные результаты и достичь признанного лидирующего положения в этом направлении исследований сложных инозитсодержащих фосфолипидов.

В данном кратком обзоре в историческом аспекте показано развитие этих работ в МИТХТ и их значение для современного уровня биоорганической химии фосфоинозитидов.

При разработке методов получения оптически активных асимметрично замещенных производных *мио*-инозита исследованы три возможных подхода:

1. Полусинтетический метод, состоящий в использовании различных природных соединений *мио*-инозита, уже обладающих молекулярной асимметрией (например, галактин, квебрахит, борнезит и др.), для последующего превращения их в производные требуемого строения путем химической модификации. Природные соединения, используемые для этих целей, как правило, труднодоступные вещества, содержащиеся в небольших количествах в тропических растениях. Многостадийные синтезы на основе таких соединений приводят лишь к ограниченному набору оптически активных производных, которые часто не обладают искомой стереохимической конфигурацией и не дают возможности нарабатывать препаративные количества веществ [1, 2]. Метод не получил дальнейшего развития и в настоящее время не используется для синтеза оптически активных производных *мио*-инозита.

2. Второй возможный путь к получению оптически активных асимметрично замещенных производных *мио*-инозита – химический синтез из ациклических предшественников. Основа

этого подхода заключается в способности производных углеводов подвергаться циклизации с образованием соединений алициклического и ароматического ряда. Были предприняты попытки с помощью внутримолекулярной альдольной конденсации производных углеводов получить оптически активные бензиловые эфиры *мио*-инозита [3]. Здесь также были отмечены определенные трудности, обусловленные возможностью побочного образования других изомерных циклитов, сложностью разделения и выделения индивидуальных продуктов реакции циклизации, низким препаративным потенциалом и т.д. По этим причинам данный метод также не нашел практического использования в химии *мио*-инозита.

3. Третий подход оказался наиболее результативным и основан на расщеплении рацемических производных *мио*-инозита на оптические антиподы (энантиомеры, положения 1 и 3, 4 и 6 в рацематах *мио*-инозита являются энантиомерными). Расщепление – это разделение рацемата на два составляющих его энантиомера, максимальный выход каждого энантиомера – 50%. Расщепление можно провести с помощью физических процессов или химических реакций.

В химических методах расщепления используется промежуточное превращение рацемата в смесь диастереомеров. Процесс расщепления сводится к трем последовательным операциям:

1. Образование диастереомерных соединений (диастереомеров) при реакции рацемата с энантиомером хирального вещества (расщепляющим агентом).

2. Разделение полученной смеси диастереомеров на индивидуальные изомеры с использованием различий в их свойствах (растворимость, кристаллизация, хроматография).

3. Разрушение индивидуальных диастереомеров для выделения оптически чистых энантиомеров расщепленного рацемата.

Следует отметить, что хотя за период с первого расщепления рацемического соединения на энантиомеры, проведенного Л. Пастером 1853 году [4], и по настоящее время опубликовано большое количество работ, посвященных расщеплению рацемических спиртов и использованию для этого различных расщепляющих агентов, все же каждый новый пример удачного расщепления в значительной мере основан на эмпирическом подборе расщепляющего агента, подходящего для конкретного рацемата и способного легко образовывать с ним диастереомерные соединения.

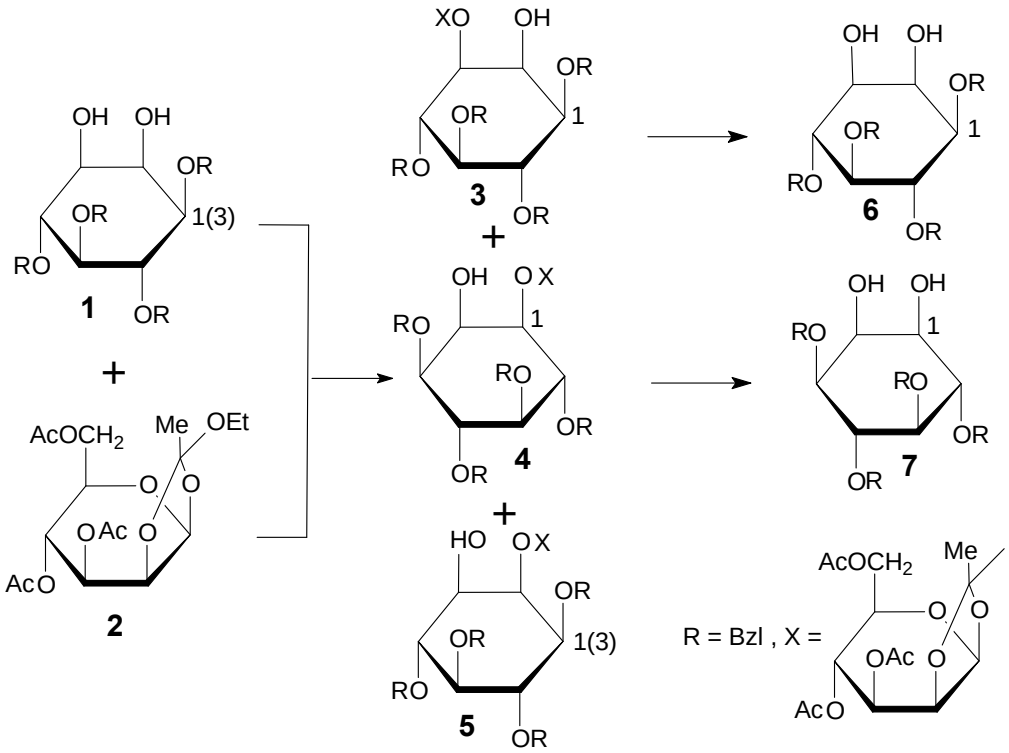
Нами, в ходе реализации многолетней программы получения и изучения свойств инозитсодержащих фосфолипидов, предложен и разработан универсальный препаративный метод оптического расщепления рацемических производных *мио*-инозита на энантиомеры, исходя из которых были осуществлены приоритетные синтеы хиральных моно-, ди-, трифосфатов *мио*-инозита; моно-, ди-, трифосфоинозитидов и маннофосфоинозитидов природного строения [5–12]. В качестве асимметрических агентов для образования диастереомеров были выбраны ортоэфиры моносахаридов. Метод имеет общее значение для биоорганической химии инозитсодержащих фосфолипидов и получил широкое международное признание специалистов в области синтеза и исследования биологических функций фосфолипидов.

В первых модификациях метода была исследована реакция переэтерификации алкилортоацетатов *D*-маннозы рацемическими асимметрично замещенными производными *мио*-инозита [5]. Образовавшиеся в результате реакции диастереомерные ортоэфирные соединения *D*-маннозы и производного *мио*-инозита разделяли на индивидуальные изомеры кристаллизацией или хроматографически. Выделение энантиомеров замещенного *мио*-инозита осуществлялось при мягком кислотном гидролизе каждого диастереомера, либо путем реакции «обратной» переэтерификации полученного диастереомера низшим спиртом (например, метиловым спиртом) в случаях, когда неприемлемы условия кислотного гидролиза. В качестве примера использования метода может служить процесс расщепления рацемического тетрабензилового эфира *мио*-инозита **1** на энантиомеры (схема).

При переэтерификации этилортоацетата *D*-маннозы **2** тетрабензиловым эфиром **1** образуются диастереомерные ортоэфирные соединения **3** и **4,** которые выделяли из реакционной массы с помощью селективной хроматографии и адсорбционной хроматографии. При мягком кислотном гидролизе ортоэфиров **3** и **4** получили энантиомерные 1,4,5,6- и 3,4,5,6-тетра-О-бензил-*sn*-*мио*-инозиты **6** и **7**. При аналогичной реакции переэтерификации *трет*-бутилортоацетата *D*-глюкозы тетрабензиловым эфиром **1** соответствующие диастереомерные ортоэфиры образуются с большими выходами, но малые различия в физико-химических свойствах делали их разделение малоэффективным.

Использование ортоэфирных диастереомерных производных *мио*-инозита имеет определенные недостатки: относительно низкий выход при образовании диастереомеров, лабильность ортоэфиров как в условиях реакции переэтерификации, так и при хроматографическом выделении.

Реакция спиртов с ортоэфирами моносахаридов в зависимости от условий процесса (количество катализатора) может приводить к новому ортоэфиру путем замены алкоксильного



остатка (переэтерификация) либо к образованию соответствующего гликозида исходного производного *мио*-инозита (гликозилирование) в результате раскрытия ортоэфирного цикла. Проведенные исследования показали большую устойчивость гликозидов *мио*-инозита в сравнении со структурно изомерными ортоэфирными соединениями. На основании этих данных ортоэфирный метод расщепления получил дальнейшее развитие – была разработана его модификация, заключающаяся в использовании гликозидных производных в качестве устойчивых промежуточных диастереомеров, причем показана применимость как диастереомерных глюкозидов, так и маннозидов. Алкилортоацетаты *D*-глюкозы, отличаясь гораздо большей доступностью, чем соединения *D*-маннозы, были успешно использованы для расщепления серии асимметрично замещенных рацемических *мио*-инозитов. Метод расщепления с использованием производных моносахаридов характеризуется широкой применимостью в отличие от классических приемов образования и разделения диастереомерных пар в ряду производных *мио*-инозита, он применим для разделения любых рацематов *мио*-инозита, несущих одну или несколько незамещенных гидроксильных групп.

Таким образом, в результате применения различных модификаций ортоэфирного метода для расщепления рацемических асимметрично замещенных производных были получены энантиомеры тетрабензилового и пентабензилового эфиров *мио*-инозита, тетраацетата и пентаацетата *мио*-инозита, двух дициклогексилиденовых кеталей и дибензилциклогексилиден-*мио*-инозита. Абсолютная конфигурация и оптическая чистота энантиомеров, полученных при расщеплении рацематов, установлена путем превращения их в соответствующие природные или синтетические соединения заведомого стереохимического строения.

Разработанный подход к препаративному получению энантиомеров асимметрично замещенных производных *мио*-инозита позволил осуществить синтезы ряда инозитсодержащих фосфолипидов природного строения, которые в настоящее время с успехом применяются для создания новых лекарственных форм и систем направленного транспорта активных фармацевтических субстанций [13, 14].

Работа выполнена в рамках реализации научного проекта, финансируемого Советом по грантам Президента Российской Федерации по поддержке молодых российских ученых и ведущих научных школ (грант НШ-3468.2010.4).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Желвакова Э.Г., Швец В.И., Преображенский Н.А. Исследования в области асимметрично замещенных производных *мио*-инозита. III. Синтез 1,2,4,5,6-пента-О-тозил-*мио*-инозита // Журн. орган. химии. 1970. Т. 6. № 1. С. 62–65.

2. Желвакова Э.Г., Ульянова О.Г., Швец В.И., Преображенский Н.А. Синтез 2,3,4,5,6-пента-О-тозил-*sn*-*мио*-инозита // Химия природных соединений. 1970. № 2. С. 163–167.

3. Каплун А.П., Башарули В.А., Швец В.И., Евстигнеева Р.П. Исследование асимметрического синтеза производных *мио*-инозита из *D*-глюкозы // Труды МИТХТ. 1975. Т. 5. № 2. С. 82–89.

4. Pasteur L. // C.R. Acad. Sci. 1853. V. 37. P. 162.

5. Shvets V.I., Klyashchitskii B.A., Stepanov A.E., Evstigneeva R.P. Resolution of asymmetrically substituted *myo*-inositols into optical antipodes // Tetrahedron. 1973. V. 29. P. 331–340.

6. Stepanov A.E., Shvets V.I. Synthetic studies of phosphoinositides // Chem. & Phys. Lipids. 1979. V. 25. P. 247–264.

7. Stepanov A.E., Shvets V.I. Formation of phosphoester bonds in phosphoglyceride synthesis // Chem. & Phys. Lipids. 1986. V. 41. P. 1–51.

8. Швец В.И., Степанов А.Е., Крылова В.Н., Гулак П.В. *мио*-Инозит и фосфоинозитиды. – М.: Наука, 1987. 248 с.

9. Stepanov A.E., Runova O.B., Schlewer G., Spiess B., Shvets V.I. Synthesis of chiral *sn-myo*-inositol-1,4,5-trisphosphate and its enantiomer // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. № 38. P. 5125–5128.

10. Shvets V.I., Stepanov A.E., Schmitt L., Spiess B., Schlewer G. Inositol phosphates and derivatives: Synthesis, biochemistry and therapeutic potential. – Washington: Amer. Chem. Society Book, 1991. 235 p.

11. Stepanov A.E., Shvets V.I. Advances in phosphoinositides: Chemistry, biochemistry and biomedical applications. – Washington: Amer. Chem. Society Book, 1998. 298 p.

12. Степанов А.Е., Швец В.И. Биологически активные фосфаты *мио*-инозита // Биоорган. химия. 1996. Т. 22. № 10-11. С. 737–744.

13. Швец В.И., Каплун А.П., Краснопольский Ю.М., Степанов А.Е., Чехонин В.П. От липосом семидесятых к нанобиотехнологии XXI века // Рос. нанотехнологии. 2008. Т. 3. № 11. С. 52–67.

14. Краснопольский Ю.М., Степанов А.Е., Швец В.И. Технологические аспекты получения липосомных препаратов в условиях GMP // Биофарм. журн. 2009. Т. 1. № 3. С. 18–29.