

УДК 547.593.262

ИНОЗИТФОСФАТИДЫ: СТРОЕНИЕ, БИОХИМИЯ, СИНТЕЗ

Б. А. Кляццкий, С. Д. Соколов и В. И. Швец

В обзоре освещены вопросы, касающиеся достижений в области установления строения, выяснения биологической роли и синтеза одного из классов фосфолипидов — инозитфосфатидов — за последние 10—12 лет.

В первой части рассматриваются вопросы установления строения монофосфоинозитидов, ди- и трифосфоинозитидов, маннозидов фосфатидилинозита и более сложных «инозитидных» комплексов. Вторая часть посвящена биохимии инозитфосфатидов, в частности, специфичным для фосфоинозитидов свойствам и функциям. Проблемы и успехи в области синтеза фосфоинозитидов обсуждаются в последней части. На большом экспериментальном материале показана сложность избирательной защиты гидроксильных групп миоинозита с целью получения исходных соединений в синтезе инозитфосфатидов. Показано, что работы последних лет открывают путь к синтезу оптически активных фосфоинозитидов природного строения. Библиография — 114 наименований.

ОГЛАВЛЕНИЕ

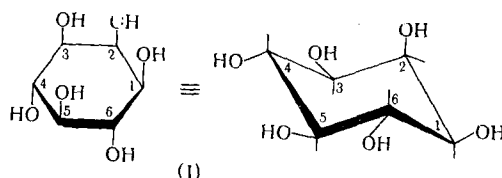
I. Введение	740
II. Составные части и строение инозитфосфатидов	740
III. Биохимия инозитфосфатидов	747
IV. Синтез инозитфосфатидов	749

I. ВВЕДЕНИЕ

Одними из важнейших представителей фосфолипидов являются инозитфосфатиды. Впервые на присутствие фосфоинозитидов в природе указал Андерсон¹, который выделил их из туберкулезных бацилл. В настоящее время установлено присутствие фосфоинозитидов в растениях, различных органах животных и микроорганизмах; они найдены в соевых бобах², фасоли³, молоке⁴, мозге⁵, печени, почках и других источниках⁶. Опубликованы два обзора, в той или иной мере освещающие вопросы строения и синтеза инозитфосфатидов^{6,7}. По мере углубления и расширения наших знаний об инозитфосфатидах вскрываются все новые стороны их биологической роли и химических свойств, показывающие чрезвычайно большое значение этих соединений в жизни различных организмов. Настоящий обзор кратко освещает последние работы в области химии и биохимии инозитфосфатидов.

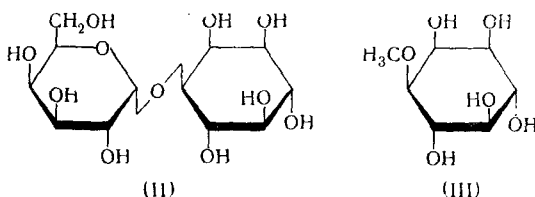
II. СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ И СТРОЕНИЕ ИНОЗИТФОСФАТИДОВ

Структурным элементом всех инозитфосфатидов является миоинозит (МИ) (I), единственный из инозитов, присутствующий в природе в виде фосфатных производных⁸.



МИ широко распространен в природе как в свободном, так и в связанном виде. Например, МИ найден в каучуковом латексе⁹, семенной плазме¹⁰, сахарной свекле¹¹. В этих источниках МИ присутствует наряду с галактином¹² — 1-0- α -D-галактопиранозил-(1R)-миоинозитом (II). (Здесь и далее обозначение конфигурации в асимметрично замещенных производных МИ дается по Энжелу¹³.)

Следует упомянуть также такие природные соединения МИ как (+)-борнезит¹⁴ — 1-0-метил-(1R)-миоинозит (III), α -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 6)- α -D-галактопиранозил-(1 \rightarrow 1)-миоинозит¹⁵, выделенный вместе с галактином из корней гороха, и различные миоинозитманнозиды, строение которых будет обсуждаться ниже:



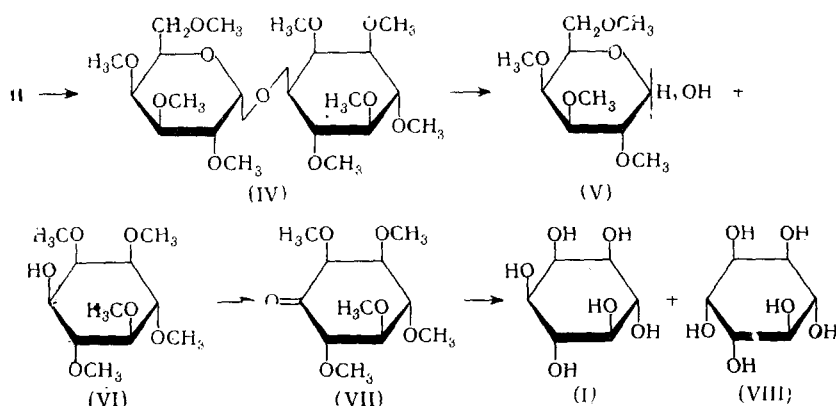
Из других составных частей инозитфосфатидов, помимо обычно встречающихся в их гидролизатах фосфатов, глицерина, жирных кислот, нужно отметить сахара и амины. Еще не так давно многие исследователи считали сахара и амины «загрязнениями» в инозитфосфатидах, стараясь избавиться от них хроматографическими и химическими методами очистки¹⁶. Часто в результате такой «очистки» происходило, по-видимому, разрушение сложной нативной молекулы инозитфосфатида¹⁷. В ряде работ Андерсона¹⁸ показано, что манноза входит в инозитсодержащие гликолипиды туберкулезной бациллы. Арабиноза и галактоза найдены в очищенных фосфоинозитах соевых бобов¹⁹ и липидах земляного ореха²⁰. Из гликолипидов кислотоустойчивых бактерий выделена также D-глюкоза, связанная гликозидной связью с МИ²¹. В 1965 г. Галанос и Капоулас разработали методику выделения липидных фракций²², позволившую им предположить, что липиды, в том числе и инозитфосфатиды, находятся в растительных и животных тканях в виде сложных комплексов, представляющих собой триэфиры фосфорной кислоты²³. Составными частями этих «триэфирных комплексов» могут быть и сахара.

Азотистые основания также являются действительными составными частями инозитфосфатидов. Так, этаноламин обнаружен в инозитфосфатидах из земляного ореха²⁰, соевых бобов и в гликолипиде кислотоустойчивых бактерий. Холин, этаноламин, серин могут входить в «триэфирные комплексы»^{22, 23}. Во многих инозитфосфатидах обнаружены аминокислоты: L-орнитин²⁴, оксилизин, аспарагин, глутамин, глицин, аланин и др.³ Так, из жиров шерсти выделены инозитфосфатиды, содержащие глутаминовую и аспарагиновую кислоты, валин, лейцин, треонин и изолейцин²⁵.

Еще в 1956 г. структура простейших инозитфосфатидов не была установлена, в частности был неясен такой важный вопрос, как место присоединения фосфата к МИ⁶. Большинство исследователей считало, что фосфатный остаток связан с аксиальной 2-ОН-группой МИ, так как при гидролизе инозитфосфатидов был выделен 2-фосфат МИ.

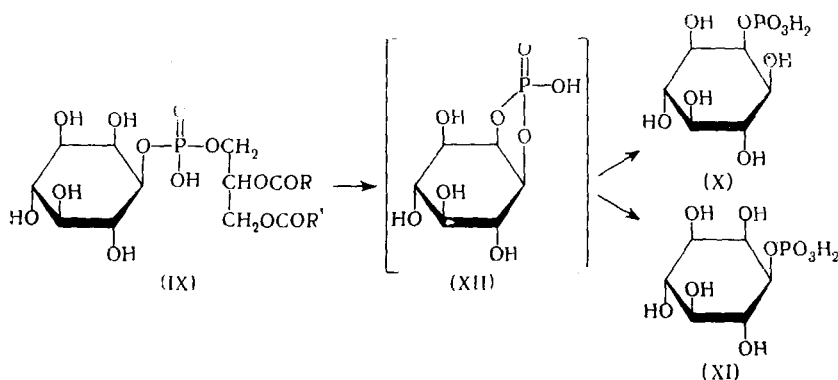
В 1953 г. Кабат и др.¹² установили, что в галактине (II) остаток галактопиранозы соединен α -гликозидной связью с 1-ОН-группой МИ. Метилированием II диметилсульфатом был получен нонаметилгалактин

(IV), гидролиз которого в 0,5 *N* соляной кислоте привел к 2,3,4,6-тетраметил-*D*-галактозе (V) и пентаметиловому эфиру МИ (VI). Последний окислили хромовым ангидридом в миоинозозу (VII), при восстановлении которой с последующим деметилированием получили как МИ (I), так и (—)-инозит (VIII), что доказало приведенное строение галактина (II):



В 1958 г. Андерсон и Пост¹⁴ показали, что в борнезите (III) метилирована 1-ОН-группа МИ.

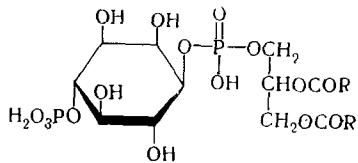
В отличие от этих природных соединений МИ установление положения связи МИ-фосфат в фосфоинозотидах представляло большие трудности из-за миграции фосфатного остатка при гидролизе природных липидов. Молекула МИ (I), имеющая плоскость симметрии, проходящую через положения 2—5, оптически неактивна, но введение заместителя в положения 1, 3, 4 или 6 должно вызывать появление оптической активности. В 1959 г. появился ряд работ^{26–28}, в которых было показано, что гидролиз природных фосфоинозитидов, например фосфатидилинозита (IX), приводит к смеси 2- и 1-фосфатов МИ (X и XI), образующихся в результате фосфатной миграции в условиях гидролиза, проходящей через образование циклического эфира (XII):



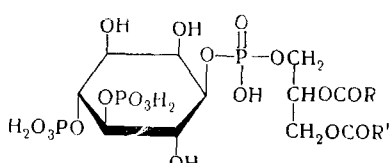
Так как полученный 1-фосфат МИ (XI) оказался оптически активным, то и промежуточный циклический фосфат (XII) должен быть оптически активным, что было бы невозможно, если бы в природном соединении (X) МИ был фосфорилирован в положение 2. Так было дока-

зано, что в природных фосфоинозитах фосфатный остаток связан с C_1 молекулы МИ. Это же подтверждается и в другой работе²⁷: глицерил-фосфоринозит, выделенный из печени коровы ($[\alpha]_D^{25} - 13,5^\circ$ для циклогексиламмониевой соли) после периодатного окисления дал оптически активный гликольальдегидфосфорилмиоинозит ($[\alpha]_D^{25} - 13,2^\circ$ для циклогексиламмониевой соли, т. е. основной вклад в оптическую активность природного соединения вносит асимметрично замещенный 1-фосфат МИ). Таким образом, в галактине (II), борнезите (III) и фосфоинозитах соевых бобов²⁹, печени³⁰ и др. источников МИ замещен в 1 (экваториальном) положении.

В последние годы ряд крупных лабораторий (Баллоу, Хауторн, Даусон и др.) ведут интенсивные исследования в области полифосфоинозитидов, обладающих высокой метаболической активностью и важными биологическими функциями. Для ди- и трифосфоинозитидов установлены структуры (XIII и XIV)³¹⁻³³.



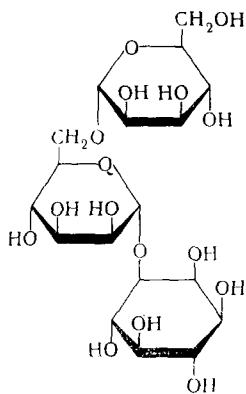
(XIII)



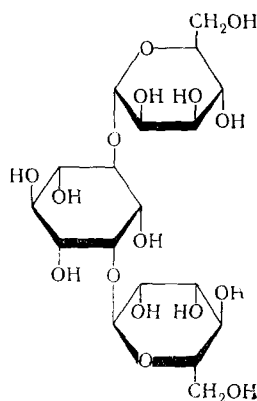
(XIV)

Периодатным окислением трифосфата МИ, выделенного из продуктов щелочного гидролиза трифосфоинозида мозга быка, с последующим восстановлением и дефосфорилированием был получен *D*-идит. Аналогично из дифосфата получили *D*-треит³². Это позволило установить, что трифосфоинозитид является 4,5-дифосфатом 1-фосфатидил-(1*S*)-миоинозита (XIV), а дифосфоинозитид—4-фосфатом 1-фосфатидил-(1*S*)-миоинозита (XIII)³³.

К интересному классу инозитфосфатидов относятся некоторые гликолипиды кислотоустойчивых бактерий. Андерсон показал, что в состав этих липидов входит соединение МИ с 2 молекулами маннозы, названное маннинозитозой³⁴. В 1960 г. Вилкас и Ледерер³⁵ при гидролизе полностью метилированной маннинозитозы получили эквимолекулярную смесь три- и тетра-*O*-метилманнозы, а периодатным окислением показали 1→6 связь двух остатков маннозы. На основании этих данных маннинозитозе была приписана структура (XV). Эта структура была даже подтверждена синтезом³⁶, однако в 1964 г. Ли и Баллоу³⁷ в блестящей работе по миоинозитманнозидам из гликолипидов *Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium phlei* показали ее несостоятельность и устано-



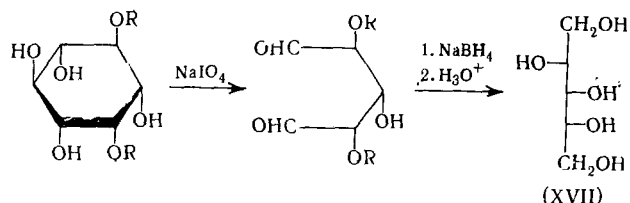
(XV)



(XVI)

вили строение маннинозитозы (XVI) и пентаманнозида фосфатидил-миоинозита.

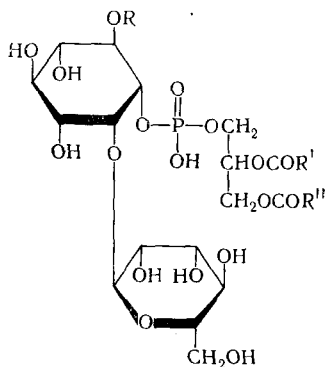
При исчерпывающем периодатном окислении диманнозилмиоинозита с последующим восстановлением полиальдегидов боргидридом натрия и кислотным гидролизом продуктов восстановления получены арабит (XVII) (в случае пентаманнозида МИ для XVII установлена *D*-конфигурация) и глицерин (из 4,5 и 6 С-атомов манноз) в соотношении 1:2.



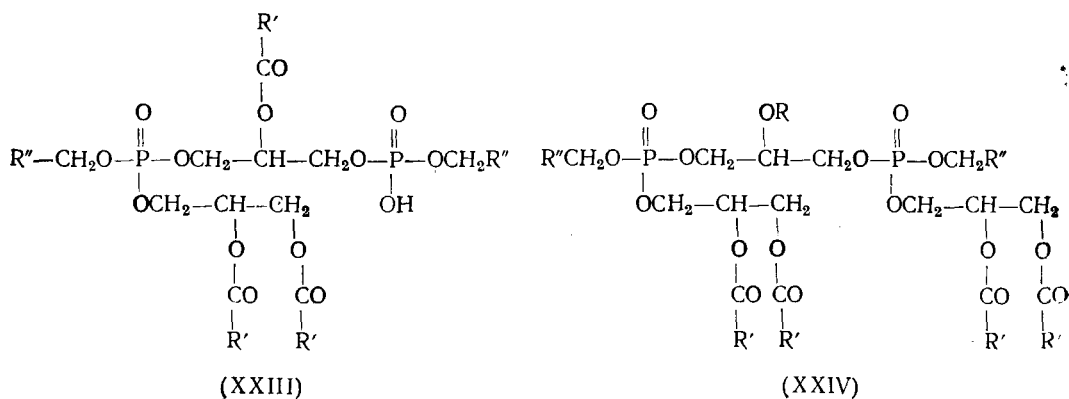
Исчерпывающее метилирование диманнозида МИ с последующим метанолизом привело к образованию 2 молей 2,3,4,6-тетра-*O*-метилманнозы на 1 моль 1,3,4,5-тетра-*O*-метилмиоинозита. Строение последнего подтверждено и данными спектра ЯМР. По сигналу аномерного протона в спектре ЯМР диманнозида МИ установлены α -гликозидные связи в этом соединении.

Остаток фосфатидной кислоты в маннозидах фосфатидилмиоинозита должен находиться в положении 1 кольца МИ, так как только этим можно объяснить образование при периодатном окислении из тех же продуктов, что и при окислении диманнозида МИ. Таким образом, гликолипид из *Mycobacterium tuberculosis* является 1-фосфатидил-2,6-ди-*O*- α -*D*-маннопираннозил-(1*S*)-миоинозитом (XVIII)³⁷. Наличие остатков маннозы с двух сторон связи фосфат — МИ объясняет устойчивость фосфатного диэфирного мостика к щелочному гидролизу и необычную устойчивость интактных гликолипидов в горячей уксусной кислоте (отсутствие свободных OH-групп у атомов углерода кольца МИ, соседних с фосфатной связью).

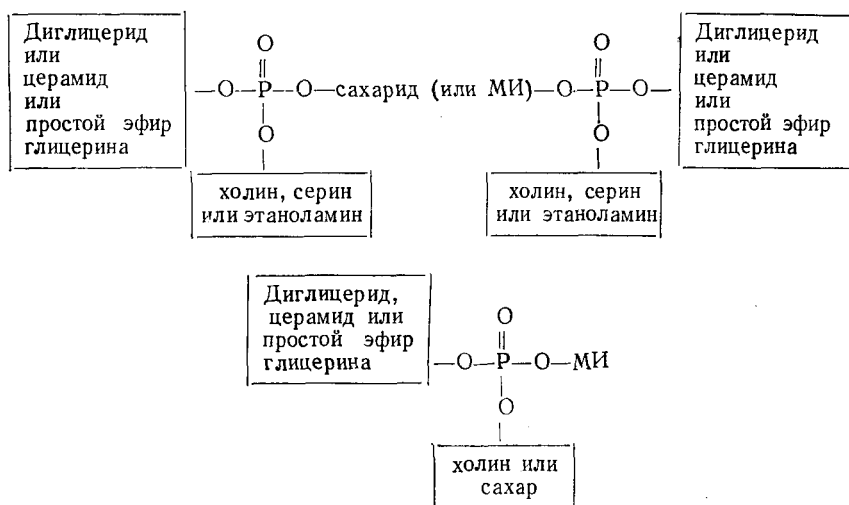
Строение мономаннозида МИ, выделенного из *Mycobacterium tuberculosis*, было доказано его исчерпывающим метилированием с дальнейшим метанолизом и идентификацией полученного пентаметилмиоинозита путем сравнения его со всеми четырьмя возможными изомерами при газо-жидкостной хроматографии³⁸. Было установлено, что манноза связана с 2-OH-группой МИ, т. е. интактный липид имеет строение (XIX):



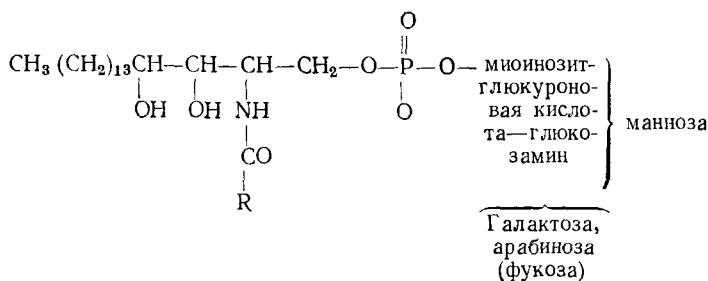
ной кислоты со структурой (XXIV, $R = \text{OCCH}_2\text{R}''$): где R' — остатки жирных кислот; R'' — остатки азотистых оснований.



Как уже отмечалось, Галанос и Капоулас^{4, 22, 23} разработали методику выделения липидных комплексов из природных источников и предложили ряд структур для таких комплексов, одним из важных компонентов которых является МИ. Они считают, что в действительности в животных и растительных тканях присутствуют «триэфирные комплексы», а отдельные представители фосфолипидов — лишь продукты их деградации при выделении из природных источников. Авторы особо отмечают роль МИ в стабилизации «триэфирных комплексов». Ниже приводятся некоторые предполагаемые структуры липидных комплексов:



Серия работ Картера⁴⁵ посвящена выделению из семян растений фитогликолипидов, в состав которых входит МИ. На основании изучения продуктов деградации фитогликолипида для него предложено следующее строение⁴⁶:



В 1966 г. из микроорганизмов *Torulopsis utilis* был выделен сфинголипид, содержащий дигидросфингозин, МИ и маннозу⁴⁷.

Дальнейшие работы по выделению, установлению строения и синтезу сложных триэфирных липидных комплексов должны окончательно решить вопрос об их присутствии в животных и растительных тканях и их структуре.

III. БИОХИМИЯ ИНОЗИТФОСФАТИДОВ

Биохимия инозитфосфатидов как представителей класса фосфолипидов служила предметом исследования во многих лабораториях и достаточно широко представлена в отдельных работах, обзорах и монографиях (см., например, обзор Хауторна⁴⁸). В настоящем разделе будут рассмотрены работы последних лет, отражающие свойства и функции, специфичные для инозитфосфатидов.

Фосфоинозитиды, наряду с другими фосфолипидами, служат структурными компонентами клеток. В клетках некоторых тканей обнаружено повышенное содержание инозитфосфатидов. Так, в клетках глазного хрусталика человека процент содержания инозитфосфатидов (и сфингомиелина) значительно выше, чем в других тканях тела, где в фосфолипидной фракции преобладает лецитин⁴⁹. Высказывается предположение о некоторой специфичной функции, выполняемой инозитфосфатидами как структурными компонентами клеточных мембран в волокнах глазного хрусталика человека. МИ, меченный ¹⁴C, активно включается в цитоплазматические мембраны грибка *Neurospora crassa*⁵⁰, при этом мембраны частиц, содержащие протеазу, были относительно бедны лецитином и обогащены инозитфосфатидами. В мутантах *N. crassa*, выращенных на среде с недостаточным количеством МИ, структурная интеграция протеазных частиц была нарушена.

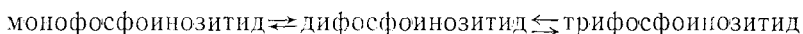
В последнее время много работ посвящается изучению свойств мономолекулярных пленок различных фосфолипидов, в какой-то степени моделирующих биологические мембраны. Изучался гидролиз фосфолипидной А мономолекулярных пленок⁵¹ из лецитина, фосфатидилэтаноламина и фосфатидилинозита, меченных ³²P. Изменение поверхностного потенциала пленки служило мерой степени распада липида. Потеря пленкой радиоактивности при гидролизе обуславливалось тем, что липосоединения покидали пленку. Физико-химическое и биохимическое изучение энзиматического гидролиза в присутствии ионов Ca²⁺ показало, что наименьшая скорость гидролиза была в пленках из ³²P-фосфатидилинозита, который обладает наибольшим сродством к Ca²⁺.

Ряд исследователей выделили специфичные для инозитфосфатидов энзимы. Хауторн⁵² выделил из морской свинки фосфоинозитидинозит-фосфогидролазу, действующую на моно-, ди- и трифосфоинозитиды и не гидролизующие другие фосфолипиды. В результате энзиматического

гидролиза образуются диглицерид и инозитфосфаты; неорганического фосфата обнаружено не было. Инглиш и др.⁵³ выделили энзим, названный миоинозиткиназой. В продуктах реакции обнаружен 1-фосфат МИ.

Инозитфосфатиды принимают участие в таких важнейших процессах в клетке, как изменение объема митохондрий и активный транспорт через мембрану⁵⁴. «Контрактивный» белок, ответственный за сокращение митохондрий при добавлении АТФ и Mg^{2+} , терял свою активность при экстракции растворителями, удаляющими липиды. Активным компонентом был фосфатидилинозит в концентрации 10^{-6} М. Другие липиды не обладают подобной активностью⁵⁵. При изучении метаболизма фосфоинозитидного комплекса в слюнной железе кошки при электрической стимуляции Гаут и др.⁵⁶ пришли к выводу о повышенной метаболической активности в фосфоинозитидном комплексе и сделали предположение, что фосфоинозитид, связанный с мембранным белком, может активно участвовать в транспортных процессах в клетке. Липоаминокислоты, к которым в последнее время проявляется значительный интерес, также могут участвовать в активном транспорте через мембрану. Предполагается⁵⁷, например, что синтез антител происходит через образование липоаминокислотного комплекса на или в клеточной мембране, посредством которого аминокислота попадает в клетку. Эти комплексы, возможно, принимают участие в синтезе белка. Не исключено, что они имеют структуру триэфиров фосфорной кислоты²³. В липидной части фосфатидопептидов из ламелл и хлоропластов фасоли обнаружен фосфатидилинозит. Устойчивость фосфатидопептидов к кислотному гидролизу и их ИК спектры свидетельствуют о сложноэфирной связи липид-пептид³.

Предполагается активное участие в транспорте через мембрану и полифосфоинозитидов, найденных в различных органах и тканях. Впервые исследовали метаболизм фосфоинозитидного комплекса мозга Брокерхоф и Баллоу^{39, 58}. Они показали путь биосинтеза от монофосфоинозита к ди- и трифосфоинозидам фосфорилированием первого. Донором фосфатной группы может являться АТФ. Более поздние работы⁵⁹ подтвердили, что включение ортофосфата- ^{32}P в дифосфоинозитид митохондриальных фракций из печени уменьшается ингибиторами окислительного фосфорилирования. В инозитидном комплексе наряду с фосфорилированием идет и дефосфорилирование, т. е. происходит обменный процесс:



Этим, возможно, и объясняется биохимическая роль инозитидного комплекса в транспорте катионов⁶⁰.

Чрезвычайно высокая метаболическая активность инозитидного комплекса, его участие в активном транспорте через мембрану обсуждаются в многочисленных работах последних 3—4 лет. Хауторн⁶¹, изучая место синтеза дифосфоинозитидов печени крысы, установил, что они синтезируются преимущественно в плазматических мембранах. Он же продемонстрировал синтез полифосфоинозитидов *in vitro*, катализируемый гомогенатом мозга крысы⁶². Высокая метаболическая активность фосфоинозитидных комплексов объясняется наличием в них полифосфоинозитидов. Фрейс и др.⁶³ показали большую скорость обмена инозитфосфатидов по сравнению с другими фосфолипидами, изучая обмен различных фосфолипидов в мозге крысы, а Николас⁶⁴ пришел к такому же выводу, установив более быструю потерю радиоактивности инозитфосфатидами миелина, меченными $1\text{-}^{14}C$ -ацетатом, по отношению к цереброзидам фосфатидилэтаноламину и другим липидам.

Своеобразна биохимия и других представителей инозитфосфатидов. Установлено⁶⁵, что инозитмонофосфатиды с остатками двух различных жирных кислот, выделенные из липидных фракций мозга лошади, являются антикоагулянтами крови. Бактериальные гликолипиды обладают серологической активностью. Фосфатидные антигены ряда микобактерии были идентифицированы как маннозиды фосфатидилинозита⁶⁶. Они фиксируют комплемент в сыворотке, содержащей антитела против туберкулезных бацилл. Гликолипиды кислотоустойчивых бактерий очень токсичны: 5—10 мкг убивают взрослую мышь через 5—8 дней после инъекции. Причина смерти до сих пор не ясна. Введение некоторых липидных фракций туберкулезных бацилл вызывает иммунизацию животных, увеличивая, например, время жизни мыши, зараженной вирулентными туберкулезными бациллами. Подробные сведения о биологической роли и функциях гликолипидов кислотоустойчивых бактерий приведены в обзоре Ледерера⁶⁷.

Имеются также многочисленные работы о биосинтезе и метаболизме МИ^{68–70}. Установлено участие МИ в клеточном морфогенезе, липидном синтезе и транспорте, транспорте ионов и гормонов через клеточные мембраны и в других важных жизненных процессах⁷¹. Биохимия МИ подробно представлена в недавнем обзоре Постернака⁷².

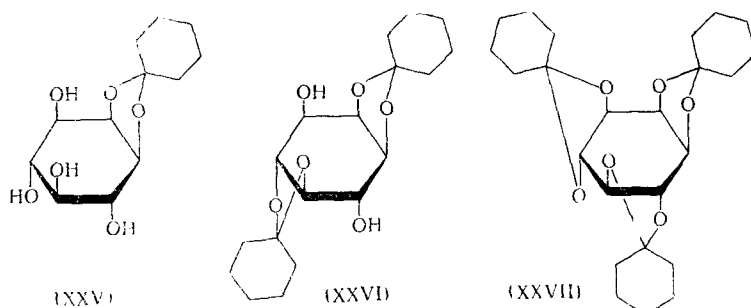
IV. СИНТЕЗ ИНОЗИТФОСФАТИДОВ

Наряду с биохимическим изучением многие лаборатории занимаются синтетическими исследованиями в области инозитфосфатидов. Сами по себе фосфоинозитиды, в частности их основная составная часть — МИ, представляют широкое поле деятельности для химиков-органиков. Синтетические исследования в области фосфолипидов вызываются также насущными потребностями биохимии и биологии. Например, Коллинз⁴³ считает, что синтез триэфиров фосфорной кислоты, предложенного им строения, имеет большое значение для подтверждения их присутствия в природе и изучения их свойств. Дело в том, что выделение подобных лабильных веществ из природных источников требует колоссальных затрат труда и, в конце концов, не дает количеств, достаточных для систематического изучения их свойств и биологической активности. Аналогичного мнения придерживается и Баллоу^{37, 38}.

Всестороннее изучение химии МИ проводится в лаборатории Энжелы. Эти работы имеют большое значение для синтеза инозитфосфатидов и на них следует остановиться. Как известно, в молекуле МИ (I) имеется шесть гидроксильных групп, пять из которых экваториальные, а один — во втором положении — аксиальный. Молекулы МИ имеют форму кресла, что подтвердил рентгеноструктурный анализ⁷³. Такая структура МИ создает существенные трудности в синтезе инозитфосфатидов, в которых МИ соединен с фосфатом в первом положении. Были изучены различные защитные группы для гидроксильных групп МИ, но до последнего времени ни одна из них не позволяла получить защищенный МИ со свободной гидроксильной группой в первом положении — ключевое промежуточное соединение в синтезе инозитфосфатидов.

Для защиты гидроксильных групп в МИ в ранних работах применяли изопропилиденовую защиту. С ее помощью были синтезированы метиловые эфиры МИ с плохим выходом⁷⁴.

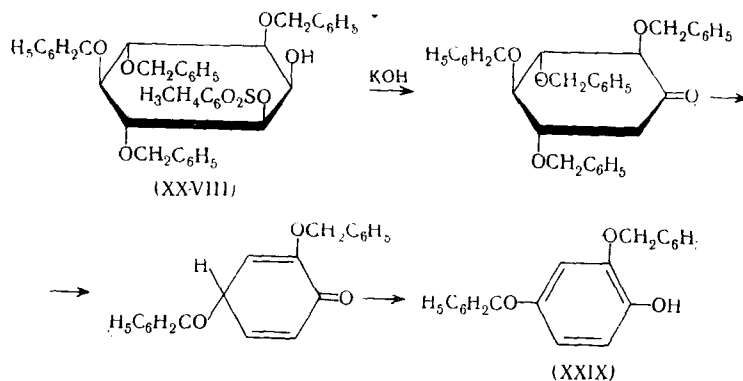
В дальнейшем стали применять циклогексидиленовые производные МИ, получающиеся с хорошим выходом реакцией с циклогексаном. Энжел^{75, 76} получил моно-, ди- и трициклогексидиленовые производные МИ (XXV, XXVI и XXVII):



Впоследствии Магер и Ионеску⁷⁷ подтвердили наблюдение Энжела, что в первую очередь идет образование ацеталей и кеталей по *цис*-ОН-группам (*ae*), а затем уже по *транс*-ОН-группам (*ee*). Исходя из циклогексидиеновых производных МИ, Энжел и Тэйт⁷⁸ синтезировали 4- и 5-монофосфаты и 1,4-, 1,6- и 4,5-дифосфаты МИ.

Дальнейшие усилия были направлены на селективную защиту 2-ОН-группы в 1, 4, 5, 6-тетразамещенных МИ, легко получаемых из 1,2-циклогексидиенмиоинозита (XXV). Было показано, что ряд заместителей предпочтительно занимают 3-экваториальное положение, в то время как другие не проявляют подобной селективности. Так, ацетилирование⁷⁹, тозилрование⁸⁰, бензилирование и метилирование⁸¹ 1, 4, 5, 6-тетразамещенных МИ селективно проходит по положению 3, а тетрагидропиранильная защита не селективна⁸². Сделано предположение⁸¹, что реакции, протекающие через переходное состояние (этерификация, замещение по S_N2 механизму) идут предпочтительно по положению 3 из-за больших стерических затруднений в положении 2. Быстрые реакции (замещение по S_N1 механизму) менее чувствительны к стерическим затруднениям и поэтому протекают неселективно.

Однако ни одна из приведенных защит не оказалась пригодной для получения 1, 2, 4, 5, 6-пентазамещенных МИ. Ацетильная группа в положении 3 лабильна и легко мигрирует в положение 2^{79, 80}. Применение тозильной защиты привело к неожиданной ароматизации кольца МИ⁸¹. Попытка бензилирования 3-О-тозил-1, 4, 5, 6-тетра-О-бензилмиоинозита (XXVIII) хлористым бензолом в присутствии щелочи вызвала элиминирование тозильной группы и, после двойного β -элиминирования бензильных групп, ароматизацию циклогексанового кольца. Конечным продуктом был 2,4-дибензиловый эфир оксигидрохинона (XXIX):



В 1966 г. был получен *DL*-1, 2, 4, 5, 6-пента-О-бензилмиоинозит⁸³, который может служить удобным промежуточным соединением для синтеза рацемических инозитфосфатидов. Гиг использовал в этом синтезе

аллильную защиту, ранее применявшуюся в химии углеводов⁸⁴. Аллильную защиту вводили селективно в 3 положение 1, 4, 5, 6-тетра-О-бензилмиоинозита, затем продукт бензилировали в положение 2 и после изомеризации аллильной группы в пропенильную снимали последнюю кислотным гидролизом. И, наконец, недавно Энжел⁸⁵ показал, что при ацетоллизе 1, 4, 5, 6-тетрабензилмиоинозита может быть получен 1-бензил-2, 3, 4, 5, 6-пентаацетилмиоинозит ввиду стерической трудности ацетолиза бензильной группы в положении 1. При гидрогенолизе последнего вещества выделили 1, 2, 4, 5, 6-пентаацетилмиоинозит. Все эти работы показывают, насколько сложна и интересна проблема селективной защиты гидроксильных групп в миоинозите.

Первый синтез продукта гидролиза инозитфосфатидов — 2-монофосфата МИ был осуществлен в 1949 г. Иселином⁸⁶ восстановлением пентаацетата сцилломезоинозоxy с последующим фосфорилированием дифенилхлорфосфатом и снятием защитных групп. Как уже отмечалось в разделе II, в то время считали, что в инозитфосфатидах фосфат соединен с С₂ молекулы МИ. Лишь через 10 лет Дэвис и Малкин⁸⁷ и одновременно Эллис и Хаутори⁸⁸ синтезировали 1-глицерил-2-миоинозитфосфат (XXX) различными методами: первые — реакцией 1, 3, 4, 5, 6-пента-О-ацетилмиоинозита (XXXI) с дихлорфенилфосфатом и 1,2-изопропилиденглицерином (схема А), а вторые — конденсацией 2-фосфата (XXXI), (XXXII) с 1,2-изопропилиденглицерином в присутствии дициклогексилкарбодиимида (схема Б).

СХЕМА А

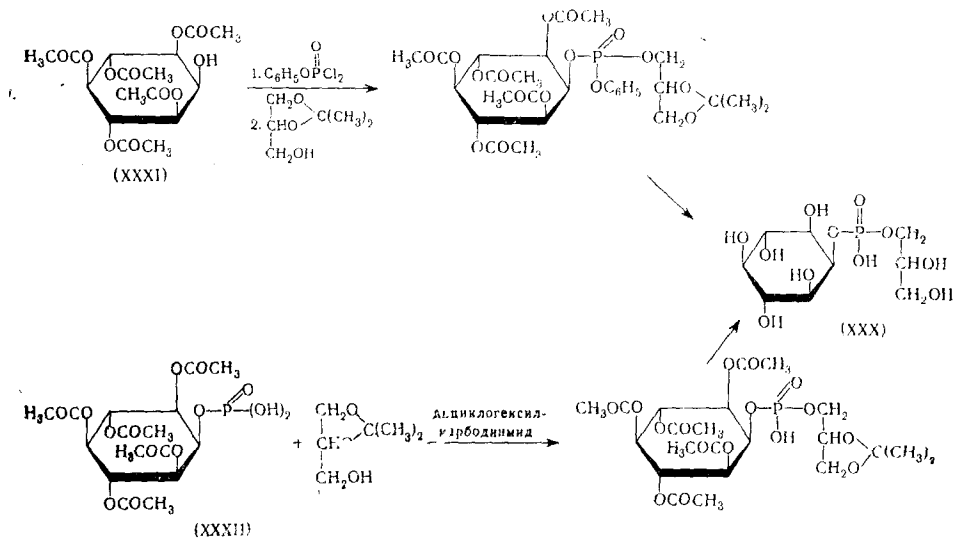
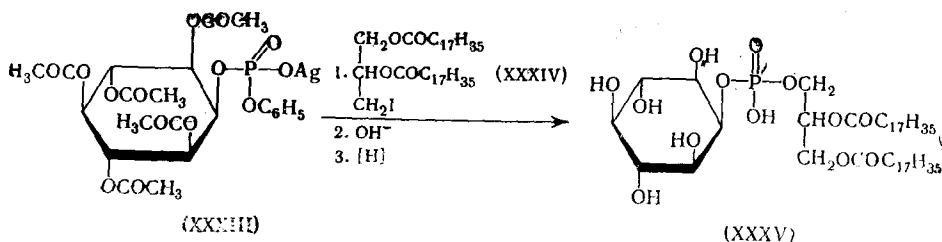
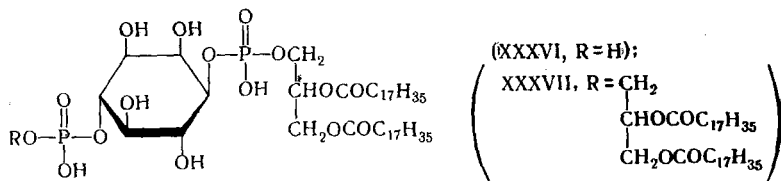


СХЕМА Б

Дэвис и Малкин⁸⁹ конденсацией серебряной соли защищенного 2-фосфата миоинозита (XXXIII) с иодгидрином 1,2-дистеароилглицерина (XXXIV) получили также инозитфосфатид (XXXV), но, как выяснилось впоследствии, не природного строения.

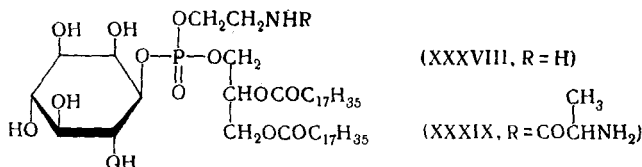


В последние годы в лаборатории Преображенского синтезирован ряд сложных инозитфосфатидов природного строения. Так, Преображенский, Швеи и др.⁹⁰ получили 1,4-дифосфоинозитиды (XXXVI и XXXVII) конденсацией 1, 2: 4, 5-дидиклогексилиденмиоинозита (XXVI) с хлорокисью фосфора и 1,2-дистеароилглицерином.



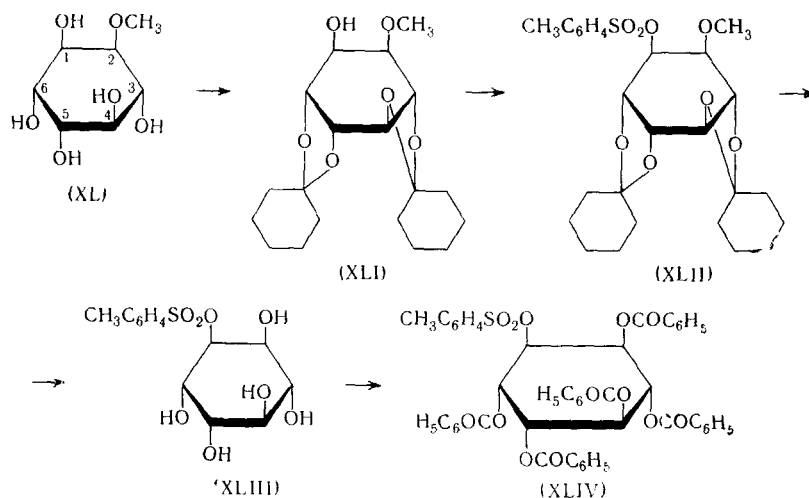
Эти соединения могут быть фрагментами более сложных липидных комплексов.

Теми же авторами⁹¹ впервые были получены инозитфосфатиды, имеющие структуру триэфиров фосфорной кислоты (XXXVIII), и моделирующие возможную связь липидной и аминокислотной частей в липо-аминосоединениях (XXXIX).

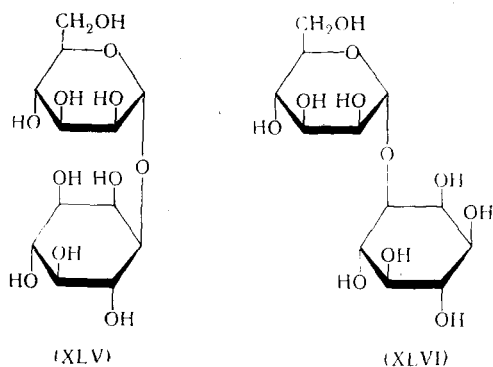


К сожалению, все описанные инозитфосфатиды выделены в оптически неактивный, рацемической форме. В природных фосфоинозитидах молекула МИ асимметрически замещена в 1 экваториальном положении и вследствие этого обладает оптической активностью. Это доказано как для инозитфосфатидов простого строения²⁶⁻³⁰, так и для сложных комплексов. В работе⁹², например, установлено, что трифосфоинозитид мозга имеет строение 2,3-ди-О-ацилглицерил-1-[(1'S)-миоинозит-1', 4', 5'-трифосфата].

В настоящее время проблема синтеза оптически активных инозитфосфатидов практически не решена. Правда, Баллоу²⁹ сообщил в 1959 г. о синтезе оптически активного 1-фосфата МИ, который может служить промежуточным продуктом для синтеза оптически активных инозитфосфатидов. Исходным сырьем в этом синтезе является галактин (II), который полностью бензилировали по Куну; метанолиз 1%-ным раствором соляной кислоты приводил к расщеплению α-гликозидной связи в нонабензилгалактине, полученный 1, 2, 4, 5, 6-пента-О-бензилмиоинозит фосфорилировали дифенилхлорфосфатом в свободное 3 положение и после снятия защитных групп получили оптически активный 1-фосфат МИ⁹³. Недавно Геро⁹⁴ предложил другой путь к оптически активному 1-фосфату МИ, исходя из квебрахита — 2-О-метил-(—)-инозита (XL). Из квебрахита (XL) был получен⁷³ 3, 4: 5, 6-ди-О-дидиклогексилиденквебрахит (XLI), превращенный далее в 3, 4: 5, 6-ди-О-дидиклогексилиден-2-О-метил-1-О-тозил-(—)-инозит (XLII). Последний после отщепления метильной группы треххлористым бором в дихлорметане при —80° дал неустойчивый 1-О-тозил-(—)-инозит (XLIII). После бензоилирования его из конечного продукта — 2, 3, 4, 5, 6-пента-О-бензоил-1-О-тозил-(—)-инозита (XLIV) можно получить оптически активный 1-фосфат МИ после удаления тозилной группы с обращением гидроксила в положении 1 и фосфорилирования:



Однако в работах^{93, 94} исходным сырьем служат оптически активные природные соединения — галактин и квебрахит. Чисто химических методов получения оптически активных 1-О-замещенных МИ к настоящему времени не разработано ввиду большой трудности разделения получаемых рацемических смесей на оптические антиподы. Единственным примером такого разделения является работа Энжела и Шелтона⁹⁵ по синтезу 1-О- α -D-маннопиранозилмиоинозитов (XLV и XLVI) и α -D-маннопиранозил-(1 \rightarrow 6)-О- α -D-маннопиранозил-(1 \rightarrow 1)-миоинозита (XV). Маннозилмиоинозит получили реакцией Кенигса — Кнорра из 1, 4, 5, 6-тетра-О-ацетилмиоинозита и три-О-ацетил- α -D-маннопиранозилбромида с незначительным выходом (4,5%), объясняемым большими стерическими затруднениями. Маннозилмиоинозит легко разделили на два диастереомера — 1S (XLV) и 1R (XLVI):



Эти диастереомеры могли бы служить исходным сырьем для получения оптически активных 1-О-замещенных МИ, однако малый выход не дает оснований рассматривать эту работу как практический путь к оптически активным фосфоинозитидам. Эти же авторы⁹⁵ синтезировали галактин реакцией Кенигса — Кнорра с выходом 2,1%. Разделение диастереомеров в этом случае достигалось затравкой кристаллами природного галактинна.

За последние годы достигнуты большие успехи в изучении химии и биохимии инозитфосфатидов. Выяснена структура ряда «инозитидных комплексов», разработаны методы их выделения из растительных и жи-

вотных тканей. Несомненно инозитфосфатидам принадлежит важная роль в интимнейших процессах в клетке. Но до сих пор структура многих сложных фосфоинозитидов, их комплексов с аминокислотами и белками и биологическая роль подобных соединений служат предметом гипотетических предположений. В химии инозитфосфатидов хотя и имеются значительные достижения в синтезе сложных липидных комплексов, моделирующих возможные природные структуры, все еще не решена проблема получения оптически активных фосфоинозитидов, которые представляют наибольший интерес для биологии. По-видимому, синтез этих соединений будет осуществлен в ближайшем будущем.

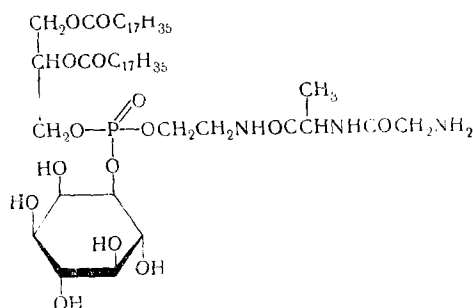
* * *

За время подготовки рукописи к печати опубликовано много работ по вопросам строения, биохимии и синтеза инозитфосфатидов. Скамарк, Тэйт и др.⁹⁶ впервые показали, что 1-О-(D-глицерилфосфорил)-(1S)-миоинозит присутствует в биологических тканях как нормальная составляющая, а не продукт деградации сложных фосфоинозитидов. Они выделили указанное соединение из предстательной железы и придатка яичника крысы и из семени быка и барана. Ди- и трифосфоинозитиды были выделены из хлебных дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*)⁹⁷.

Обнаружение маннофосфоинозитидов в различных видах бактерий свидетельствует о близких филогенетических и таксономических отношениях этих видов. Маннофосфоинозитиды выделены из *Propionibacterium shermanii*⁹⁸, *Streptomyces sioyaensis*⁹⁹, *Corynebacterium xerosis*¹⁰⁰ и др.^{101, 102}. Баллоу и Бреннан¹⁰³ продолжили изучение биосинтеза маннофосфоинозитидов *Mycobacterium phlei*. В этой же работе обсуждается энзиматическое ацилирование диманнофосфоинозитидов. В ряде работ подтверждается высокая метаболическая активность фосфоинозитидов. Включение метки в фосфатидилинозит в *Nocardia polychromogenes* было в 8 раз быстрее, чем в кардиолипин¹⁰⁴. Накатани и др.¹⁰⁵ исследовали включение неорганического фосфата *in vitro*. Фосфатидилинозит быстрее включает ³²P, чем лецитин (например, в коронарной артерии быка в 4,9—5,3 раза). Было показано¹⁰⁶, что ацетилхолин стимулирует расщепление фосфодиэфирной связи фосфоинозитидов мозга морской свинки. Продолжается изучение энзимов, специфичных для фосфоинозитидов. Так, Ли и Хьюгинс сообщили о структуре¹⁰⁷, очистке и свойствах¹⁰⁸ трифосфоинозитидфосфомоноэстеразы из почек крысы. Роль фосфоинозитидов и сложных инозитидных комплексов в организации мембран нервной системы рассматриваются в эволюционном аспекте в книге Крепса¹⁰⁹.

Ведущее место в синтетических исследованиях в области инозитфосфатидов принадлежит школе Н. А. Преображенского. В 1968 г. Преображенский, Жданович, Лютик и др.¹¹⁰ синтезировали О-[α-(α', β-дистеароил)глицерилфосфорил - (1-миоинозит)] - N'-(глицилаланил)этанол-амин (XLVII) — простейший фосфатидопептид, моделирующий возможные структуры фосфатидопептидных фракций из тканей мозга, печени и др.

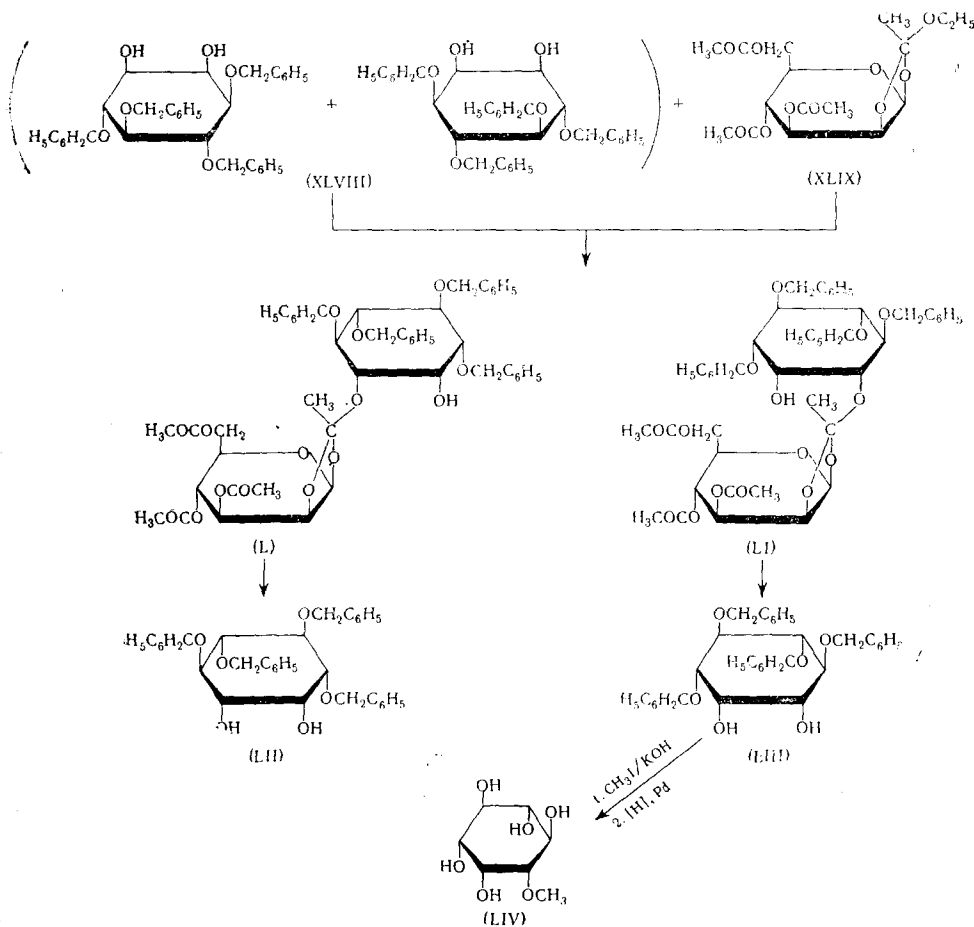
Эти же авторы¹¹¹ сообщили о синтезе монофосфоинозитида с фосфатидильным остатком в положении 1, исходя из 1, 2, 4, 5, 6-пента-О-ацетилмиоинозита⁸⁵. В работе¹¹² Преображенский, Тарусова, Козлова и др. исследовали бензоилирование 1,2:4,5-дициклогексиденмиоинозита (XXVI) и показали преимущественное бензоилирование положения 3 МИ.



(XLVII)

В продолжение своей предыдущей работы⁹⁴ с целью получения оптически активных фосфоинозитидов Геро¹¹³ синтезировал 1, 2, 4, 5, 6-пента-О-бензоил-(1S)-миоинозит, исходя из квебрахита. К сожалению, полученный им антипод не приведет к фосфоинозитидам природного строения, в которых, как известно²⁶⁻³⁰, фосфатидильный остаток связан с (1S)-положением МИ.

Недавно Преображенский и авторы настоящего обзора¹¹⁴ разработали метод разделения рацемических асимметрично замещенных миоинозитов через диастереомерные ортоэфиры с углеводами, позволяющий выделять оба антипода в оптически чистом виде. 1, 4, 5, 6-тетра-О-бензилмиоинозит (XLVIII) был введен в реакцию перэтерификации с



3, 4, 6-три-О-ацетил-1,2-О-этилортоацетил- β -D-маннопиранозой (XLIX), полученные диастереомерные ортоэфиры (L) и (LI) разделены при помощи кристаллизации и хроматографии и 1, 4, 5, 6-тетра-О-бензил-(1S)-миоинозит (LII) и его (1R)-антипод (LIII) были выделены из разделенных ортоэфиров (L) и (LI) мягким кислотным гидролизом. На основе (1R)-антипода осуществлен первый полный синтез (—)-борнезита (LIV).

Возможность разделения различных асимметрично замещенных миоинозитов на антиподы открывает путь к синтезу оптически активных фосфоинозитидов природного строения.

ЛИТЕРАТУРА

1. R. J. Anderson, J. Am. Chem. Soc., **52**, 1607 (1930).
2. E. Klenk, R. Sakai, Ztschr. physiol. Chem., **258**, 33 (1939).
3. В. С. Чигирев, Э. Н. Безингер, Н. М. Сисакян, ДАН, **169**, 235 (1966).
4. D. Galanos, V. Kapoulas, Biochim. biophys. acta, **98**, 293 (1965).
5. J. Folch, J. Biol. Chem., **146**, 35 (1942).
6. J. Folch, F. N. LeBaron, Canad. J. Biochem. Physiol., **34**, 305 (1956).
7. J. N. Hawthorne, J. Lipid Res., **1**, 255 (1960).
8. S. J. Angyal, L. Anderson, Advances in carbohydrate chemistry, N. Y., vol. **14**, 1959, стр. 135.
9. T. L. Hullar, F. Smith, Arch. Biochem. Biophys., **115**, 505 (1966).
10. B. S. Ahlawalia, E. F. Graham, J. Reprod. Fert., **12**, 359 (1966).
11. H. G. Walker, мл., Intern. Sugar J., **67**, 237 (1965).
12. E. Kabat, D. L. MacDonald, C. E. Ballou, O. L. Hermann, J. Am. Chem. Soc., **75**, 4507 (1953).
13. S. J. Angyal, P. T. Gilham, J. Chem. Soc., **1957**, 3691.
14. L. Anderson, G. G. Post, Abstr. 134-th Meeting of the Amer. Chem. Soc., Chicago, 1958, 13D.
15. F. Petek, E. Villarroja, J. E. Courtois, C. r., **263**, 195 (1966).
16. D. J. Hanahan, J. N. Olley, J. Biol. Chem., **231**, 813 (1958).
17. C. Long, K. Owens, Biochem. J., **99**, 617 (1966).
18. R. J. Anderson, J. Biol. Chem., **171**, 761 (1947).
19. J. N. Hawthorne, Там же, **206**, 27 (1954).
20. T. Malkin, A. G. Poole, J. Chem. Soc., **1953**, 3470.
21. E. Vilkas, Bull. Soc. Chim., **42**, 1005 (1960).
22. D. Galanos, V. Kapoulas, Biochim. biophys. acta, **98**, 278 (1965).
23. D. Galanos, V. Kapoulas, Там же, **98**, 313 (1965).
24. T. Gendre, E. Lederer, Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A, II, № 60, 313 (1955).
25. H. Jancke, K. Schaffnit, Pharmazie, **22**, 93 (1967).
26. L. I. Pizer, C. E. Ballou, J. Am. Chem. Soc., **81**, 915 (1959).
27. H. Brockerhoff, D. I. Hanahan, Там же, **81**, 2591 (1959).
28. D. M. Brown, G. E. Hall, R. Letters, J. Chem. Soc., **1959**, 3547.
29. C. E. Ballou, L. I. Pizer, J. Am. Chem. Soc., **81**, 4745 (1959).
30. J. N. Hawthorne, P. Kemp, R. B. Ellis, Nature, **185**, 37 (1960).
31. R. Dawson, J. Dittmer, Biochem. J., **81**, 540 (1961).
32. C. Grado, C. E. Ballou, J. Biol. Chem., **236**, 54 (1961).
33. H. Brockerhoff, C. E. Ballou, Там же, **236**, 1907 (1961).
34. R. J. Anderson, E. G. Roberts, J. Am. Chem. Soc., **52**, 5023 (1930).
35. E. Vilkas, E. Lederer, Bull. Soc. Chim. Biol., **42**, 1013 (1960).
36. S. J. Angyal, B. Shelton, Proc. Chem. Soc., **1963**, 57.
37. Y. C. Lee, C. E. Ballou, J. Biol. Chem., **239**, 1316 (1964).
38. C. E. Ballou, Y. C. Lee, Biochemistry, **3**, 682 (1964).
39. H. Brockerhoff, C. E. Ballou, J. Biol. Chem., **237**, 49 (1962).
40. Y. C. Lee, C. E. Ballou, Там же, **4**, 1395 (1965).
41. M. C. Pangborn, J. A. McKinney, J. Lipid Res., **7**, 627 (1966).
42. P. Brennan, C. E. Ballou, J. Biol. Chem., **242**, 3046 (1967).
43. F. D. Collins, Nature, **188**, 297 (1960).
44. D. B. Sinha, W. L. Gaby, J. Biol. Chem., **239**, 3668 (1964).
45. H. E. Carter, W. D. Celmer, D. S. Galanos, R. H. Gigg, W. E. M. Lands, J. H. Law, K. L. Mueller, T. Nakayama, H. H. Tomizawa, E. Weber, J. Am. Oil Chem. Soc., **35**, 335 (1958).
46. H. E. Carter, S. Brooks, R. H. Gigg, D. R. Strobach, T. Suami, J. Biol. Chem., **239**, 743 (1964).
47. H. Wagner, W. Lofosik, Biochem. Ztschr., **364**, 343 (1966).
48. J. N. Hawthorne, Vitamins and Hormones, N. Y., vol. **22**, 1964, стр. 57.

49. G. Feldman, L. Feldman, G. Rouzer, *Lipids*, **1**, 161 (1966).
50. P. Matile, *Science*, **151**, 86 (1966).
51. R. M. C. Dawson, *Biochem. J.*, **98**, 350 (1966).
52. R. S. Atherton, P. Kemp, J. N. Hawthorne, *Biochim. biophys. acta*, **125**, 409 (1966).
53. P. D. English, M. Dietz, P. Albertsheim, *Science*, **151**, 198 (1966).
54. А. Ленинджер, Митохондрия, «Мир», М., 1966, стр. 250.
55. P. M. Vignais, P. V. Vignais, A. L. Leninger, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **11**, 313 (1963).
56. Z. N. Gaut, C. Steffec, C. G. Huggins, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **122**, 1048 (1966).
57. I. Spitzer, W. L. Gaby, *Biochim. biophys. acta*, **98**, 210 (1965).
58. H. Brockerhoff, C. E. Ballou, *J. Biol. Chem.*, **237**, 1764 (1962).
59. T. Galliard, R. H. Michell, J. N. Hawthorne, *Biochem. biophys. acta*, **106**, 551 (1965).
60. M. Kai, J. N. Hawthorne, *Biochem. J.*, **98**, 627 (1966).
61. R. H. Michell, J. N. Hawthorne, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **21**, 333 (1965).
62. M. Kai, J. N. Hawthorne, *Biochem. J.*, **98**, 238 (1966).
63. L. Freyss, R. Beith, P. Mandel, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **47**, 1441 (1965).
64. H. J. Nicolas, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **42**, 1008 (1965).
65. M. J. P. Kahn, M. Hans, R. H. Borgain, *Thromb. Dieth. Hemorrhaf*, **14**, 445 (1965).
66. D. R. Singhvi, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **120**, 102 (1965).
67. E. Lederer, *Adv. in carbohydrate chemistry*, N. Y., vol. 16, 1961, стр. 207.
68. H. Kindl, R. Scholda, Hoffman-Ostenhof, *Angew. Chem. Intern. Ed. Engl.*, **5**, 165 (1966).
69. T. Berman, B. Magasanic, *J. Biol. Chem.*, **241**, 800 (1966).
70. W. Chen, F. C. Charalampous, Там же, **241**, 2194 (1966).
71. L. M. Lewin, Georgetown, *Med. Bull.*, **20**, 131 (1967).
72. T. Posterhak, *Chimia*, **20**, 106 (1966).
73. I. N. Rabinowitz, J. Kraut, *Acta Cryst.*, **17**, 159 (1964).
74. S. J. Angyal, P. T. Gilham, *J. Chem. Soc.*, **1957**, 1417.
75. S. J. Angyal, M. E. Tate, S. D. Gero, Там же, **1961**, 4116.
76. S. J. Angyal, G. Irving, D. Rutherford, M. E. Tate, Там же, **1965**, 6662.
77. S. Mager, M. Ionescu, *Rev. Roumaine Chim.*, **10**, 649 (1965).
78. S. J. Angyal, M. E. Tate, *J. Chem. Soc.*, **1961**, 4122.
79. S. J. Angyal, G. J. Merlose, Там же, **1965**, 6494.
80. S. J. Angyal, P. T. Gilham, G. J. Merlose, Там же, **1965**, 5252.
81. S. J. Angyal, M. E. Tate, Там же, **1965**, 6949.
82. S. J. Angyal, S. D. Gero, Там же, **1965**, 5255.
83. R. Gigg, C. D. Warren, *Tetrahedron Letters*, **1966**, 2415.
84. I. Gigg, R. Gigg, *J. Chem. Soc. (C)*, **1966**, 82.
85. S. J. Angyal, M. H. Randall, M. E. Tate, Там же, **1967**, 919.
86. B. M. Iselin, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 3822 (1949).
87. J. H. Davies, T. Malkin, *Nature*, **184**, 789 (1959).
88. R. B. Ellis, J. N. Hawthorne, Там же, **184**, 790 (1959).
89. J. H. Davies, T. Malkin, *Chem. Ind.*, **1959**, 1155.
90. А. В. Лукьянов, А. И. Лютик, В. И. Швеи, Н. А. Преображенский, *Химия природных соединений*, **8**, 230 (1966).
91. А. В. Лукьянов, А. И. Лютик, В. И. Швеи, Н. А. Преображенский, *ДАН*, **165**, 121 (1965).
92. D. M. Brown, J. C. Stewart, *Biochim. biophys. acta*, **125**, 413 (1966).
93. C. E. Ballou, L. I. Pizer, *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3333 (1960).
94. S. D. Gero, *Tetrahedron Letters*, **1966**, 591.
95. S. J. Angyal, B. Shelton, *J. Chem. Soc. (C)*, **1966**, 433.
96. R. F. Scamark, M. E. Tate, T. C. Smeaton, *J. Biol. Chem.*, **243**, 2424 (1968).
97. R. L. Lester, M. R. Steiner, Там же, **243**, 4889 (1968).
98. P. J. Brennan, C. E. Ballou, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **30**, 69 (1968).
99. A. Kimura, J. Kawanami, H. Otsuka, *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 1434 (1967).
100. P. J. Brennan, *Biochem. J.*, **109**, 158 (1968).
101. N. Shaw, F. Dinglinger, Там же, **109**, 700 (1968).
102. G. K. Khuller, D. Subrahmanyam, *Experientia*, **24**, 851 (1968).
103. P. J. Brennan, C. E. Ballou, *J. Biol. Chem.*, **243**, 2975 (1968).
104. I. Yano, Y. Furukawa, M. Kusunose, *J. Biochem. (Tokyo)*, **63**, 133 (1968).
105. M. Nakatani, T. Sasaki, T. Miyazaki, M. Nakamura, *J. Atheroscler. Res.*, **7**, 747 (1967).
106. J. Durell, M. A. Sodd, R. O. Friedel, *Life Sci (Oxford)*, **7**, 363 (1968).
107. T. C. Lee, C. G. Huggins, *Arch. biochem. biophys.*, **126**, 206 (1968).

108. T. C. Lee, C. G. Huggins, Там же, **126**, 214 (1968).
109. Е. М. Крепс, Фосфолипиды клеточных мембран нервной системы в развитии животного мира, «Наука», Л., 1967.
110. А. И. Лютик, А. В. Лукьянов, Е. С. Жданович, Н. А. Преображенский, ЖОХ, **38**, 2251 (1968).
111. А. И. Лютик, В. Н. Крылов, Е. С. Жданович, Н. А. Преображенский, Тезисы докладов советско-индийского симпозиума по химии природных соединений, М., 1968, стр. 42.
112. Н. Б. Тарусова, В. С. Грошева, С. П. Козлова, Р. Б. Теплинская, Н. А. Преображенский, ЖОрХ, **4**, 967 (1968).
113. D. Mercier, S. D. Géo, Tetrahedron Letters, **1968**, 3459.
114. Б. А. Клящицкий, Г. Д. Страхова, В. И. Швец, С. Д. Соколов, Н. А. Преображенский, ДАН, **185**, 106 (1969).

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