

Institut für Pharmazeutische Chemie¹ und Institut für Physikalische Chemie², Martin-Luther-Universität, Halle/Saale, Germany

Synthese und Polymorphie von cyclischen Ether-Lysophospholipiden

G. FÖRSTER², B. DOBNER¹, D. HOH¹, U. SCHMIDT¹, P. VOGT¹, W. RETTIG¹ und P. NUHN¹

Herrn Prof. Dr. Meyer, Friedrich-Schiller-Universität Jena, zum 65. Geburtstag zugeeignet

Homologe (5-Alkylmethyl-1,3-dioxan-5-yl)methyl-2-(trimethylammonio)ethylphosphate, von denen das Hexadecylderivat **4b** bereits als zytotoxisch wirksam bekannt war, wurden mittels Differential Scanning Kalorimetrie und Röntgenstreuung untersucht. Die wassergesättigten Verbindungen gehen in Abhängigkeit von ihrer Kettenlänge bei Temperaturniedrigung von einer nicht-lamellaren flüssigkristallinen Phase in eine lamellare Gel-Phase und bei den länger-kettigen Homologen weiter in eine lamellare GelB-Phase mit Verzahnung der Alkylketten über.

Synthesis and polymorphism of cyclic ether phospholipids

Homologues of (5-alkoxymethyl-1,3-dioxan-5-yl)methyl-2-(trimethylammonio)ethylphosphates were investigated using differential scanning calorimetry and X-ray diffraction. The water saturated compounds show at a decrease in temperature subsequent transitions from a nonlamellar liquid-crystalline phase to a lamellar gel phase and then at the long chain homologues to a lamellar gelB-phase with interdigitation of the alkyl chains.

1. Einleitung

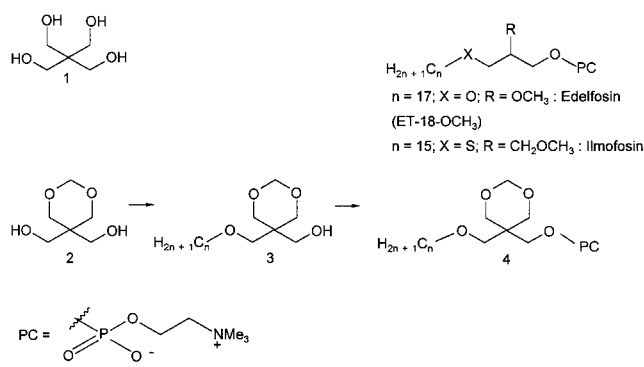
Hexadecylphosphocholin (Miltefosin[®]) und einige Phospholipide mit nur einem etherartig gebundenen langkettigen Alkylrest (C₁₆, C₁₈: Edelfosin[®], Ilmofosin[®]) sind schon seit einiger Zeit wegen ihrer zytotoxischen Wirkung auf Tumorzellen von großem Interesse [1], die über eine Aktivierung von Makrophagen zustande kommt. Zu dieser Gruppe von Ether-Lysophospholipiden gehört auch das (5-Hexadecyloxymethyl-1,3-dioxan-5-yl)methyl-2-(trimethylammonio)ethylphosphat (**4b**), das sich vom Pentaerythritol (2,2-Bis-(hydroxymethyl)propan-1,3-diol, **1**) ableitet. **4b** besitzt indirekt durch die Aktivierung zytotoxischer Makrophagen tumorhemmende Eigenschaften und hemmt auch direkt die Aktivität etherspaltender Enzyme in der Tumorzelle [2]. In einem Patent wird **4c** als antiinflammatorisch wirksam beschrieben [3]. Im Zusammenhang mit dieser bemerkenswerten biologischen Wirkung war das physikochemische Verhalten von **4b** im Vergleich mit entsprechenden homologen Verbindungen von Interesse.

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

2.1. Synthese der Verbindungen

Im Unterschied zu Glycerol verfügt **1** über vier primäre Hydroxygruppen, die unterschiedlich substituiert werden können und so die Möglichkeit bieten, den Kopfgruppen-

Schema



bereich der Phosphocholine zu modifizieren. Erste von **1** ausgehende Lipidsynthesen wurden kürzlich beschrieben [4]. Als Ausgangsstoff unserer Synthesen diente das kommerziell erhältliche 5,5-Bis(hydroxymethyl)-1,3-dioxan (**2**) mit zwei freien und zwei geschützten Hydroxygruppen. Zur Darstellung weiterer (5-Alkylloxymethyl-1,3-dioxan-5-yl)methyl-2-(trimethylammonio)ethyl phosphate **4** wurde **2** zunächst nach Williamson mit länger-kettigen Alkylbromiden (**a**: C₁₄H₂₉Br; **b**: C₁₆H₃₃Br; **c**: C₁₈H₃₇Br) monoalkyliert. Als Katalysator diente Tetrabutylammoniumiodid. Zur Optimierung der Reaktion wurden Deprotonierungsmittel und Reaktionsmedium variiert. Die besten Ergebnisse wurden mit Kalium-tert.-butylat in Toluol (**3a**: 32% Ausbeute nach 27 h) bzw. Tetrahydrofuran (**3c**: 31% in 27 h) gegenüber NaH in Toluol (ca. 6% nach 3 d) erzielt. Unter den letzteren Bedingungen fiel eine größere Menge Dialkylether an. **3** wurde anschließend mit 2-Bromethylphosphorsäuredichlorid nach [5] phosphoryliert und mit Trimethylamin in die Phosphocholine **4** umgewandelt.

2.2. Mikrokolorimetrische Untersuchungen

Zur Aufklärung des Phasenverhaltens wurden die Verbindungen mit Hilfe der Differential Scanning Kalorimetrie (DSC) untersucht. Die DSC-Kurven (Abb.1) beziehen sich auf Proben, bei denen freies Wasser vorliegt. Daher zeigen alle Aufheizkurven den dominierenden Schmelzpeak des freien Wassers (Eispeak). Die Verbindungen zeigen neben dem Eispeak Kettenlängen-abhängige Hauptumwandlungen (T_{on}) mit weitgehend übereinstimmenden Umwandlungsenthalpien (ΔH): **4a**: T_{on} = -16,1 °C, ΔH = 15,70 kJ/mol; **4b**: T_{on} = -1,9 °C, ΔH = 14,66 kJ/mol; **4c**: T_{on} = +15,5 °C, ΔH = 14,35 kJ/mol). Wie weiter unten bei den Röntgenbeugungs-Untersuchungen ausgeführt wird, findet hierbei die Umwandlung von einer Gel- in eine flüssig-kristalline Phase statt, was auch mit den Umwandlungsenthalpien in Übereinstimmung steht. **4b** und **4c** zeigen noch eine Tieftemperaturumwandlung zwischen zwei Gelphasen bei jeweils -14 °C, die bei der kurz-kettigen Verbindung **4a** nicht auftritt, da die Hauptumwandlung vorher einsetzt. Die Tieftemperaturumwandlungen

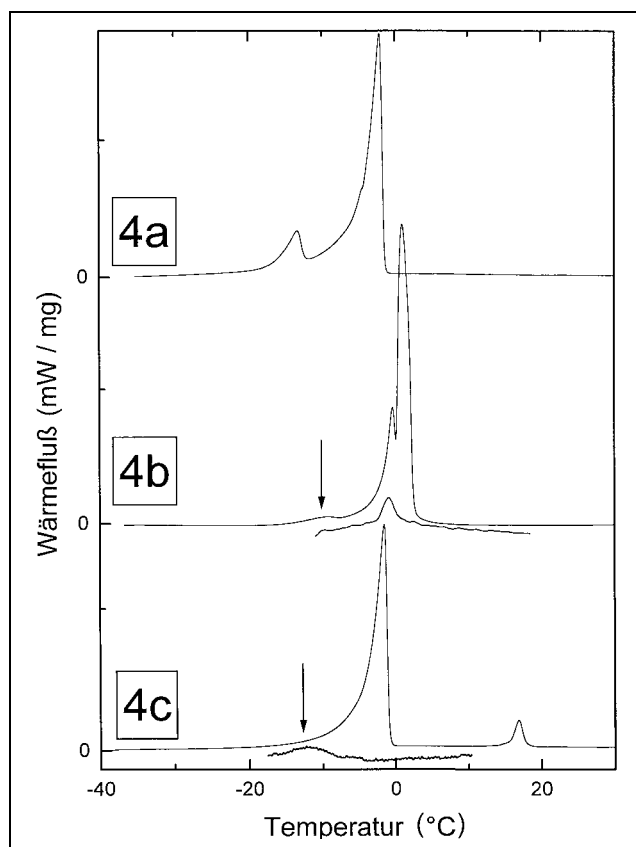


Abb. 1: DSC-Aufheizkurven der Alkoxyethyl-dioxan-methoxyphosphocholine **4a**–**c** mit 60 Gew.% Wasser (obere Linie). Untere Linie: Proben, bei denen das Wasser nur unterkühlt, aber nicht ausgefroren wurde. (Diese Kurve ist bei **4c** 3fach vergrößert.)

konnten dadurch nachgewiesen werden (Abb. 1), daß das Ausfrieren des Wassers durch Unterkühlung verhindert wurde.

2.3. Röntgenographische Untersuchungen

Die röntgenographischen Untersuchungen verfolgten das Ziel, die bei unterschiedlichen Temperaturen auftretenden Phasen der jeweiligen Homologen durch Streukurven zu charakterisieren und erste Aussagen zur Struktur zu gewinnen.

Im Homologen **4c** mit der größten Kettenlänge tritt temperaturnachwärts die Polymorphie GelB + Eis \leftrightarrow GelA + Eis \leftrightarrow GelA \leftrightarrow LC auf. Eine Unterscheidung zwischen Gelphasen und der flüssig-kristallinen Phase LC ergibt sich leicht aus der Streuung im Weitwinkelbereich (Abb. 2). Bei hohen Temperaturen deutet eine breite Bande auf die hohe Beweglichkeit fluider Ketten. In den Gelphasen verschiebt sich das Streumaximum zu kleineren Abständen (größere reziproke Netzebenenabstände s) und zeigt eine Aufspaltung in zwei Reflexe unterschiedlicher Halbwertsbreite. Die Schärfe und gegenseitige Lage dieser Kettenreflexe läßt eine zusätzliche Unterscheidung in zwei Phasen GelA und GelB zu.

Die Struktur in GelB bei tiefen Temperaturen läßt sich eindeutig beschreiben. Die Kleinwinkelreflexe zeigen ein Verhältnis von $s_1 : s_2 : s_3 = 1 : 2 : 3$ und weisen damit eine lamellare Struktur aus. Es ergibt sich ein Schichtabstand von 4,35 nm. Er liegt in der Größenordnung von Wiederholabständen, für die bei Lysolecithin derselben Kettenlänge [6] bzw. für modifizierte zweikettige Phosphatidylcholine [7, 8] eine vollständige Verzahnung in der Schicht nachgewiesen wurde. Eine solche antiparallele Lage der

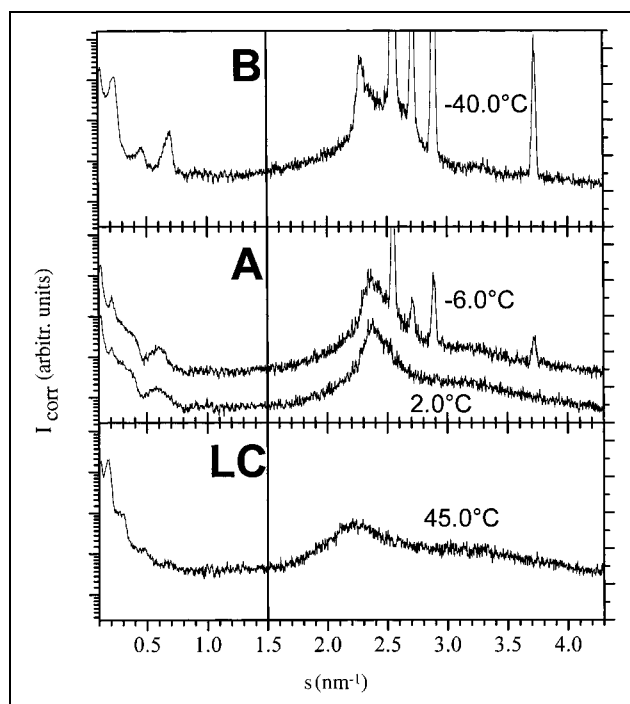


Abb. 2: Streudiagramme (ortsempfindlicher Detektor) von **4c** in den Phasen

- GelB mit gestreckten Ketten und Eis ($-40,0\text{ }^\circ\text{C}$),
- GelA mit gestreckten Ketten und überschüssigem Wasser ($2,0\text{ }^\circ\text{C}$) bzw. Eis ($-6,0\text{ }^\circ\text{C}$),
- LC mit fluiden Ketten ($45,0\text{ }^\circ\text{C}$)

Moleküle in einer Schicht stellt auch in der Phase GelB für die einkettigen Alkoxyethyl-dioxan-methoxyphosphocholine ein gutes Modell dar. Für die große Cholin-Kopfgruppe von **4c** ergibt sich daraus, daß sie den Platz über zwei Kohlenwasserstoffketten einnehmen kann.

Zu höheren Temperaturen wird die Tendenz wirksam, in der flüssigkristallinen Phase die Verzahnung aufzuheben [8]. Der Unterschied in der Molekülform zu den modifizierten zweikettigen Phospholipiden läßt für **4c** eine Streß-Situation absehen: die Dioxan-derivate mit der voluminösen Kopfgruppe können sich als einkettige Verbindungen nicht mehr in einer planaren Schichtstruktur packen. In Abb. 3 kann aus der Temperaturabhängigkeit der Röntgenbeugung im Kleinwinkelbereich abgelesen werden, daß diese Frustration bereits in der Phase GelA auftritt: es lassen sich temperaturnachwärts in der Phase breite Streumaxima erkennen, wie sie durch Überlagerung von lamellaren Reflexen mit zusätzlichen Reflexen entstehen können. Sie unterscheiden sich in ihrer Lage nur wenig von denen des GelB, lassen sich jedoch nicht auftrennen.

Erst nach dem Schmelzen der Ketten treten in der Phase LC wieder deutlich Überstrukturreflexe in Erscheinung. Die Maxima der Reflexe stehen in einem Verhältnis von $s_1 : s_2 : s_3 : s_4 = 1 : 1,7 : 2,7 : 3,8$ ($45,0\text{ }^\circ\text{C}$) und sind zusammen nicht mit einer lamellaren Struktur oder der üblichen hexagonalen Überstruktur zu erklären. Ein erster Ansatz zur Interpretation würde darauf hinauslaufen, aus allen vorhandenen Streumaxima die Struktur einer homogenen Phase abzuleiten, die im vorliegenden Fall nichtlamellar wäre [9]. Eine andere Interpretation könnte eine Entmischung in zwei Phasen voraussetzen, und es müßten zwei Strukturmodelle abgeleitet werden. Auffällig ist, daß eine Gruppe von Reflexen ein Verhältnis von $s_2 : s_3 : s_4 = 2 : 3 : 4$ zeigt, jedoch die erste Ordnung durch ein intensiveres Streumaximum bei 5,59 nm überdeckt

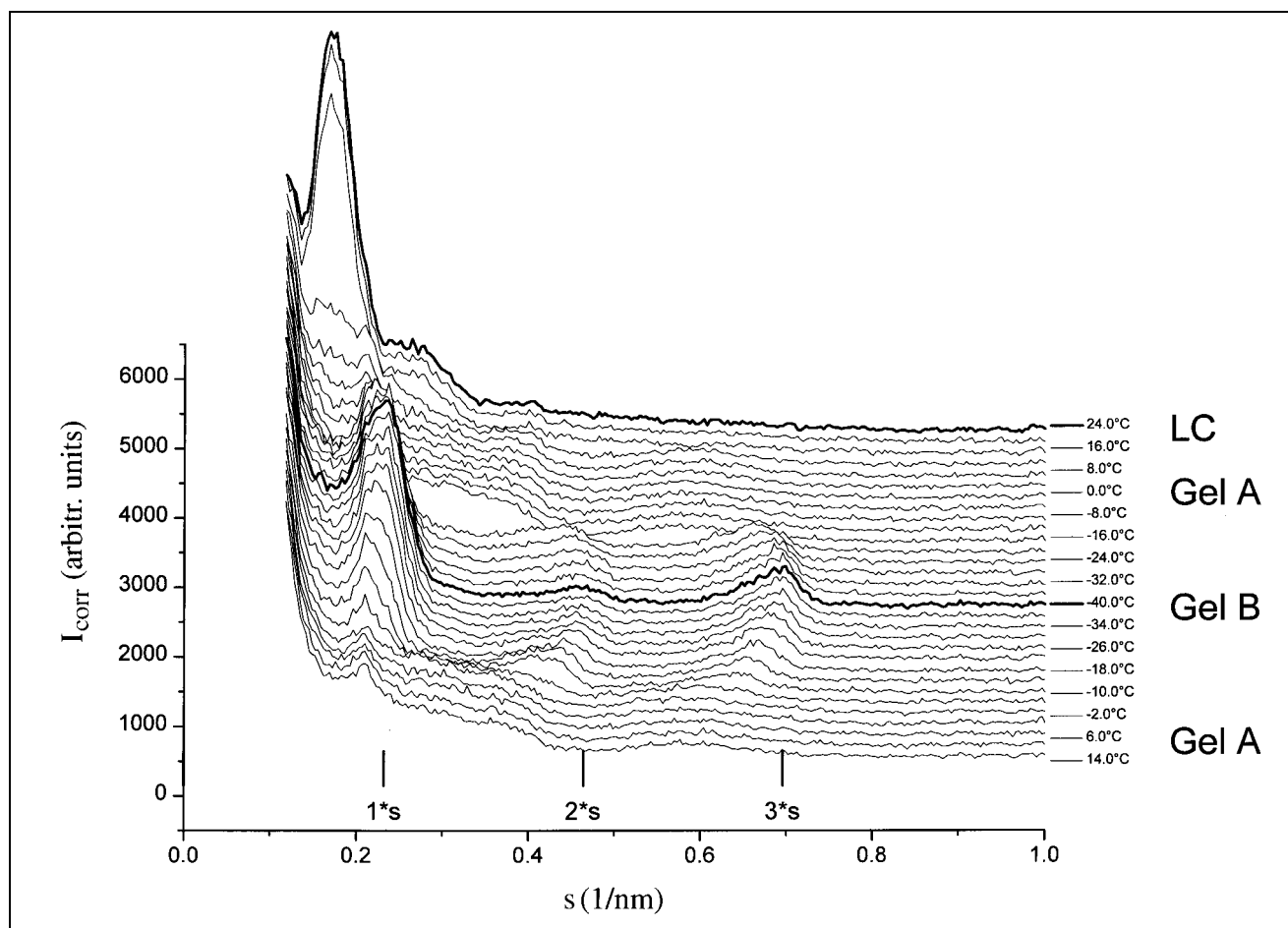


Abb. 3: Röntgenbeugung im Kleinwinkelbereich (ortsempfindlicher Detektor) von **4c** in den Phasen LC, GelA und GelB. Für die Tieftemperaturphase sind die drei Ordnungen der lamellaren Struktur markiert, die sich mit dem allmählichen Schmelzen des Eises zu kleineren reziproken Gitterabständen s verschieben. Der Übergang in die Gelphase A bringt einen Verlust der lamellaren Ordnungen mit sich, ohne daß sich neue, eindeutig auswertbare Reflexe ausbilden

wird, das nicht in diese lamellare Serie ($d = 6,25$ nm) paßt. Da es sich bei der vorliegenden Verbindungsklasse um neue Lipide handelt, die chemisch eher den Lysolipiden verwandt sind als den zweikettigen Lipiden, ist eine erhöhte Löslichkeit der Lipide im überschüssigen Wasser nicht auszuschließen, die auch zu ungewöhnlichen Aggregationen führen kann. Daher wird z. Z. versucht, in weitergehenden Untersuchungen durch die Kalorimetrie und die Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie Aussagen zur Mischbarkeit im binären System mit Wasser und dem Auftreten von morphologischen Besonderheiten zu machen.

Im Homologen **4b** mit der mittleren Kettenlänge tritt temperaturnachwärts die Polymorphie GelB + Eis \leftrightarrow GelA + Eis \leftrightarrow GelA \leftrightarrow LC auf. Charakteristische Streudiagramme der Phasen sind in Abb. 4 dargestellt.

Im ersten Vergleich ergibt sich das gleiche Bild wie bei **4c**, was bemerkenswert ist, da die Streukurven der Abb. 4 in wesentlich längerer Belichtungszeit mit einem Zählrohrgeometrie aufgenommen wurden und damit Gleichgewichtsstrukturen widerspiegeln. Darüber hinaus ist der Wassergehalt geringer (40%), ohne daß damit der Charakter der Streudiagramme verändert wird. In der Phase GelB existiert eine lamellare Struktur mit einem Schichtabstand von 4,08 nm. Sie geht in die Phase GelA über, in der wiederum eine Aufspaltung der Kleinwinkelreflexe zu beobachten ist, die eine Auswertung erschwert. Bemerkenswert ist, daß kein Unterschied in den Streukurven auftritt, wenn sich in der Phase GelA das Eis vollständig in überschüssiges Wasser umgewandelt hat. In der Phase LC weisen die

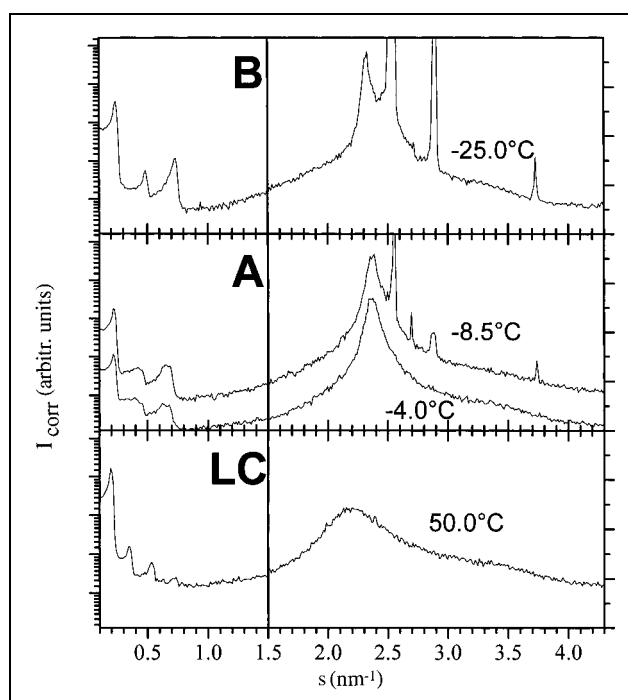


Abb. 4: Streudiagramme (Zählrohrgeometrie) von **4b** in den Phasen
 – GelB mit gestreckten Ketten und Eis ($-25,0$ °C),
 – GelA mit gestreckten Ketten und überschüssigem Wasser ($-4,0$ °C) bzw. Eis ($-8,5$ °C),
 – LC mit fluiden Ketten ($50,0$ °C)

Reflexlagen im Kleinwinkelbereich wieder auf eine nichtlamellare Periodizität hin.

Im Homologen **4a** mit der kürzesten Kettenlänge tritt temperaturnachwärts die Polymorphie Gel + Eis \leftrightarrow LC + Eis \leftrightarrow LC auf. Charakteristische Streudiagramme der Phasen sind in Abb. 5 dargestellt.

Bei tiefsten Temperaturen ist nur noch eine Gelphase im untersuchten Temperaturintervall nachweisbar. Im Kleinwinkelbereich verhalten sich dagegen die reziproken Netzebenenabstände $s_1:s_2:s_3$ wie 1:2:3, was auf eine Schichtstruktur mit einem Wiederholabstand von 4,00 nm hinweist. Die Weitwinkelstreuung mit einem breiten Reflex kann so gedeutet werden, daß die kurze Kette im Vergleich zu der gleichbleibend großen Kopfgruppe keine Möglichkeit mehr besitzt, in großen Bereichen durch eine Kettenneigung eine dichte Packung zu erzeugen. Damit unterscheidet sie sich zur Phase GelB der länger-kettigen Homologen.

Das Kettenschmelzen und damit der Übergang in die Phase LC findet etwa bei -15°C statt. Bis zum Schmelzen des Eises treten konstante Reflexlagen auf, die eine

nichtlamellare Periodizität zeigen und in Abb. 5 charakterisiert sind. Mit dem Schmelzen des Eises verschieben sich alle beobachteten Reflexe in eine neue, definierte Position, die ebenfalls als nichtlamellare Periodizität angesehen werden kann.

Zusammenfassend ergibt sich für die homologen einkettigen (5-Alkoxy-methyl-1,3-dioxan-5-yl)methyl-2(trimethylammonio)ethylphosphate eine einfache Polymorphie mit zwei Gelphasen GelA und GelB bei den höheren Homologen und einer flüssigkristallinen Phase LC. Mit sinkender Kettenlänge fallen die Umwandlungstemperaturen, so daß bei dem kürzesten Homologen nur noch die Hauptumwandlung Gel-LC nachgewiesen werden konnte. Die Struktur der Phase GelB ist lamellar und besteht aus Schichten, in denen die Ketten vollständig verzahnt sind. Damit zeigt sie eine für die Lysolipide typische Packung. Die Strukturen der Phase GelA und LC sind ungewöhnlich und konnten aus den vorliegenden Streukurven nicht eindeutig beschrieben werden. Vor einer intensiveren Analyse muß die Frage geklärt werden, ob in den Dispersionen mit Wasser eine homogene Phase vorliegt oder eine Entmischung in zwei unterschiedliche Aggregattypen auftritt.

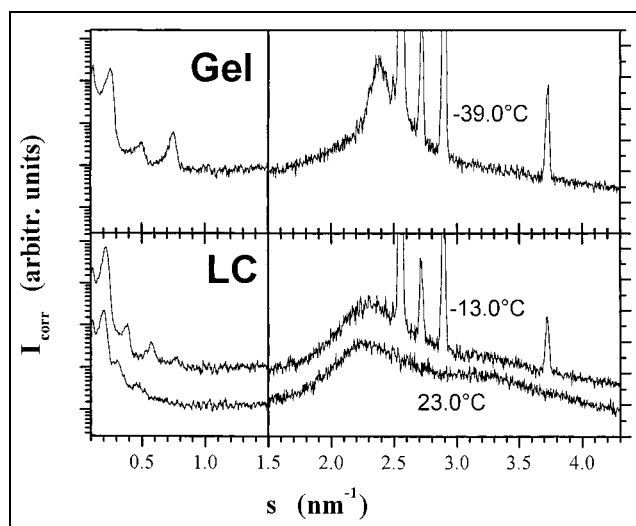


Abb. 5: Streudiagramme (ortsempfindlicher Detektor) von **4a** in den Phasen

- LC mit fluiden Ketten und überschüssigem Wasser ($23,0^\circ\text{C}$) bzw. Eis ($-13,0^\circ\text{C}$),
- Gel mit gestreckten Ketten und Eis ($-39,0^\circ\text{C}$)

3. Experimenteller Teil

3.1. Synthesen

Die Elementaranalysen (C, H, N) wurden mit einem LECO Instruments CHNS-Analysator (Michigan, USA) durchgeführt. Die Ergebnisse lagen in den üblichen Grenzen.

Die Massenspektren wurden an einem MAT 710 C aufgenommen. Die Elektronenspray-Ionisation erfolgte bei einer Beschleunigung von 4,5 KV, sowohl positiv als auch negativ. Die Proben wurden in einer Mischung von $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}/\text{CHCl}_3$ 80:10:10 oder 70:20:10 gelöst. Die physikalischen Daten der Verbindungen sind in der Tabelle zusammengestellt.

3.1.1. Synthese der 5-Alkoxy-methyl-5-hydroxy-methyl-1,3-dioxane **3**

In einem 250 ml Zweihalskolben werden zu 60 ml abs. Toluol 0,02 mol 5,5-Bis(hydroxy-methyl)-1,3-dioxan (Aldrich) zusammen mit 0,02 mol Kalium-tert-butylat gegeben. Das Gemisch wird unter Rühren im Ölbad erhitzt, bis alle Bestandteile gelöst sind. Anschließend werden 0,02 mol des entsprechenden Alkylbromids, gelöst in wenig abs. Toluol, zugegeben und eine Spatelspitze Tetrabutylammoniumiodid hinzugegeben. Der Ansatz wird 27 h unter Rückfluß und Feuchtigkeitsausschluß gerührt und gekocht. Danach wird nach dem Abkühlen mit gesättigter NaCl-Lösung versetzt und mit Ether extrahiert. Die organische Phase wird getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel durch Destillation entfernt. Das Rohprodukt wird sc mit Heptan, dem diskontinuierlich Ether zugemischt wird, an Kieselgel 60 (Merck, Korngröße 0,063–0,200 mm) gereinigt. Es fällt ein weißes, kristallines Produkt an.

Tabelle: Physikalische Daten der Verbindungen **3** und **4**

Verbindg.	Ausbeute (%)	Schmp. ($^\circ\text{C}$)	Summenformel (MG)	physik. Daten
3a	31	31	$\text{C}_{20}\text{H}_{40}\text{O}_4$ (344,5)	ESI-MS: m/z: 367 (M + Na)
3b	40	35	$\text{C}_{22}\text{H}_{44}\text{O}_4$ (372,6)	ESI-MS: m/z: 395,5 (M + Na)
3c	31	44	$\text{C}_{24}\text{H}_{48}\text{O}_4$ (400,6)	ESI-MS: m/z: 423 (M + Na)
4a	19,6		$\text{C}_{25}\text{H}_{52}\text{NO}_7\text{P}$ (509,6)	ESI-MS: m/z: 532,5 (M + Na). $^1\text{H-NMR}$ [CDCl_3 , ppm]: $\delta = 0,75$ (t, 3 H, $-\text{CH}_3$), 1,15 (m, 22 H, $-(\text{CH}_2)_{11}-$), 1,4 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,25 (s, 19 H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3,30 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,5 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,55–3,8 (m, 6 H, $-\text{CH}_2-\text{O}$, $-\text{CH}_2-\text{N}^+$), 3,95 (d, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{OP}$), 4,2 (m, 2 H, $\text{PO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+$), 4,65 (q, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$)
4b	45		$\text{C}_{27}\text{NO}_7\text{P}$ (537,7)	ESI-MS: m/z: 561 (M + Na). $^1\text{H-NMR}$ [CDCl_3 , ppm]: $\delta = 0,85$ (t, 3 H, CH_3), 1,22 (m, 26 H, $-(\text{CH}_2)_{13}-$), 1,45 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,30 (m, 4 H, $-\text{CH}_2-\text{O}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,35 (s, 9 H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3,7–3,85 (m, 6 H, $-\text{CH}_2-\text{N}^+$, $-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,9 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{OP}$), 4,35 (m, 2 H, $\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+$), 4,75 (q, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$)
4c	59,2		$\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{NO}_7\text{P}$ (565,7)	ESI-MS: m/z: 588,8 (M + Na). $^1\text{H-NMR}$ [CDCl_3 , ppm]: $\delta = 0,8$ (t, 3 H, CH_3), 1,2 (m, 30 H, $-(\text{CH}_2)_{15}-$), 1,45 (m, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,25 (s, 9 H, $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$), 3,3 (m, 4 H, $-\text{CH}_2-\text{O}-$, $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), 3,7–3,8 (m, 6 H, $-\text{CH}_2-\text{O}-$, CH_2-N^+), 3,95 (d, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{OP}$), 4,5 (m, 2 H, $-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+$), 4,75 (q, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$)

3.1.2. Synthese der (5-Alkoxyethyl-1,3-dioxan-5-yl)methyl-2-(trimethylammonio)ethylphosphate **4**

In einem 100 ml Kolben werden 5 ml abs. CHCl_3 mit 0,003 mol 2-Bromethylphosphorsäuredichlorid [5] versetzt. Unter Eiskühlung werden dazu 0,005 mol Triethylamin (TEA), gelöst in 2 ml abs. CHCl_3 , getropft und 5 min gerührt. Anschließend werden 0,0015 mol **3** hinzugefügt. Der Ansatz wird unter Feuchtigkeitsausschluß bei 20 °C 24 h gerührt. Danach werden die gleiche Volumenmenge Eis sowie 0,003 mol TEA zugegeben. Die organische Phase wird eingeeengt und mit 5 ml Tetrahydrofuran und 1 ml dest. H_2O aufgenommen. Zur Neutralisation werden weitere 0,41 ml TEA zugesetzt und 1 h bei 20 °C gerührt und das Lösungsmittel entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird in einem 100 ml Kolben mit 20 ml abs. CHCl_3 und 20 ml CH_3CN gelöst, gekühlt und mit 20 ml einer 30proz. ethanolschen Trimethylamin-Lösung versetzt. Nach 24 h bei Raumtemperatur wird der Ansatz 4 h bei 50 °C unter Rühren erwärmt, danach das Lösungsmittel entfernt, der Rückstand *sc* (Kieselgel 60 Merck, Korngröße 0,068–0,200 mm, Elution $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3$ 100:10:1 unter diskontinuierlicher Erhöhung der Polarität) gereinigt und das anfallende Produkt aus Aceton umkristallisiert.

3.2. DSC-Untersuchungen

Die DSC-Messungen wurden mit Hilfe eines DSC-7 der Fa. Perkin-Elmer (Norfolk, USA) durchgeführt. Details der Messungen und die Probenpräparate wurden bereits ausführlich beschrieben [10].

3.3. Röntgenographische Untersuchungen

Die Substanzen **4a**, **b** und **c** wurden über P_2O_5 getrocknet und mit bidestilliertem Wasser zu einer 40%igen (**4b**) bzw. 50%igen (**4c**, **4a**) Dispersion eingewogen. Nach intensiver Durchmischung und Quellung konnte das Gel in eine Röntgenkapillare eingeschmolzen werden. Die röntgenographischen Untersuchungen an **4c** und **4c** wurden als schnelle Messungen an einem Meßplatz mit ortsempfindlichem Detektor (STOE & CIE Darmstadt) durchgeführt, während **4b** in einer langsamen Meßserie am Zählrohrgoniometer charakterisiert wurde (Seifert FPM Freiberg). In beiden Fällen wurden monochromatische $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung verwendet, die ein Röntgenerators ID 3000 (Seifert, 35 kV, 60 mA) erzeugt hat. Die Streukurven im Intervall von $2\theta = 0,4^\circ$ bis $40,4^\circ$ ($s = 0,04 \text{ nm}^{-1}$ bis $4,42 \text{ nm}^{-1}$), die mit dem Programm Origin (Microcal, USA) berechnet und graphisch aufbereitet wurden, sind innerhalb einer Meßreihe korrigiert und damit untereinander vergleichbar. Es liegen Datensätze im Temperaturintervall von $-40,0^\circ\text{C}$ bis $50,0^\circ\text{C}$ vor.

Die Streueffekte im Kleinwinkelbereich erlauben Rückschlüsse auf die Überstruktur in der Probe. Liegen z. B. die reziproken Netzebenenabstände s der Reflexe im Verhältnis 1:2:3 vor, kann auf eine lamellare Struktur geschlossen werden und aus der ersten Ordnung nach der Bragg'schen Gleichung ein Schichtabstand berechnet werden. Die Streueffekte im Weitwinkelbereich sind auf die laterale Packung der Moleküle zurückzuführen und erlauben wie bei einem Fingerabdruck eine Unterscheidung zwischen unterschiedlichen Gelphasen mit gestreckten Ketten bzw. zur flüssigkristallinen Phase, in der fluide Ketten vorliegen. Bei tiefen Temperaturen friert das überschüssige Wasser aus, und es treten im Streudiagramm scharfe Kristallreflexe des Eises auf.

Danksagung: Die Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen des SFB 197 gefördert.

Literatur

- Berdel, W. E.; Andreessen, R.; Munder, P. G.: in: Kuo, J. F. (Hrsg.): Phospholipids and Cellular Regulations. Vol. II, CRC Press, Boca Raton 1985
- Houlihan, W. J.; Lee, M. L.; Munder, P. G.; Winslow, C. M.; Cheon, S. H.; D'Aries, F. J.; DeLilo, A. K.; Jaeggi, C. S.; Mason, R. B.; Parrino, V. A.: J. Lipid Mediators **2**, 295 (1990)
- Golec, J. M. C.; Hedgecock, C. J. R.; Kennewell, P. D.: Brit. UK Pat. Appl. GB 2186877 A1 870826; ref. C. A. **108**, 167211
- Hanessian, S.; Prabhanjan, H.; Qui, D.; Nambiar, S.: Can. J. Chem. **74**, 1731 (1996)
- Hirt, R.; Berchthold, R.: Pharm. Acta Helv. **33**, 349 (1958)
- Arvidson, G.; Brentel, J.; Khan, A.; Lindblom, G.; Fontell, K.: Eur. J. Biochem. **152**, 753 (1985)
- Serrallach, E. N.; Dijkman, R.; de Haas, G. H.; Shipley, G. G.: J. Mol. Biol. **170**, 155 (1983)
- Laggner, P.; Lohner, K.; Dergovics, G.; Müller, K.; Schuster, A.: Chem. Phys. Lipids **44**, 31 (1987)
- Seddon, J. M.: Biochim. Biophys. Acta **1031**, 1 (1990)
- Rattay, B.; Rettig, W.: Pharmazie **52**, 676 (1997)

Eingegangen am 22. April 1998
Angenommen am 20. Mai 1998

Prof. Dr. Peter Nuhn
Institut für Pharmazeutische Chemie
Wolfgang-Langenbeck-Str. 4
D-06120 Halle/Saale
nuhn@pharmazie.uni-halle.de

Institut für Pharmazeutische Chemie¹ und NMR-Laboratorium der Chemischen Institute² der Technischen Universität Braunschweig, Germany

Diastereomere 5-Acyl-6-methyl-2,4-bis(3- und 4-nitrophenyl)-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidine – Nebenprodukte der Dihydropyridin-Synthese nach Hantzsch³

K. GÖRLITZER¹, CH. HEINRICI¹ und L. ERNST²

Durch Variation der Hantzsch-Dihydropyridin-Synthese sind die racemischen *cis*-1,2,3,4-Tetrahydropyrimidine (THPM) **2d–i** zugänglich, während die diastereomeren *trans*-THPM **3h, i** nur als Nebenprodukte bei der Umsetzung der 4-Nitrobenzylidenacetessigester **4c, d** mit 4-Nitrobenzaldehyd isoliert werden können. Dehydrierung der THPM mit aktiviertem Braunstein liefert die Pyrimidine **7** und in einigen Fällen auch die Dihydropyrimidine (DHPM) **6**. Die THPM **2** und **3** reagieren mit salpetriger Säure zu den 3-*N*-Nitrosaminen **8** und **9**. Die NMR-Spektren beweisen, daß **8** und **9** als Rotamere mit überwiegendem (*E*)-Anteil vorliegen.

Diastereomeric 5-acyl-6-methyl-2,4-bis(3- and 4-nitrophenyl)-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines – by-products of the Hantzsch dihydropyridine synthesis

The racemic *cis*-1,2,3,4-tetrahydropyrimidines (THPM) **2d–i** are obtained by variation of the Hantzsch dihydropyridine synthesis, while the diastereomeric *trans*-THPM **3h, i** could be isolated only as by-products from the reaction of 4-nitrobenzylidene acetoacetic acid esters **4c, d** with 4-nitrobenzaldehyde. Dehydrogenation of the THPM with activated