

SHORT COMMUNICATIONS

Institut für Pharmazeutische Chemie der Martin-Luther-Universität,
Halle, Germany

Synthese optisch reiner (*R*)- und (*S*)-1-Alkyl-2-acyl-glycerophosphocholine

J. JAKOB, G. BREZESINSKI, K. RAITH, R. WOLF, B. DOBNER UND
P. NUHN

Herrn Prof. Dr. G. Zessin, Halle (Saale), zum 65. Geburtstag
gewidmet

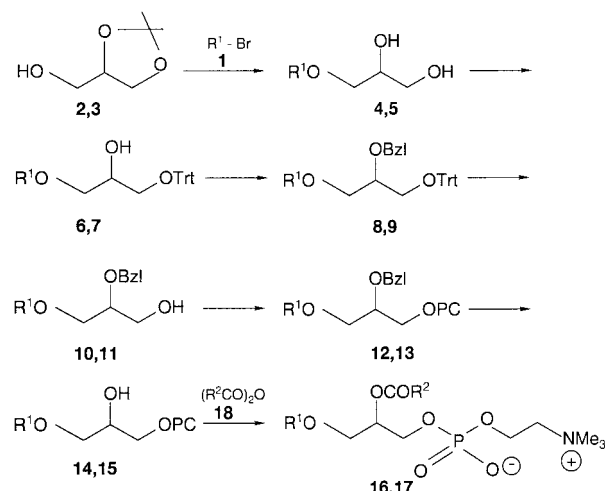
Die natürlichen Glycerophospholipide sind am C-2 des Glycerols chiral und gehören der *L*-Reihe an (nach der *sn*-Nomenklatur 1,2-Diacyl-*sn*-glycero-3-phosphate). Etherlipide, bei denen ein Acyl- durch einen Alkylrest ersetzt ist, sind insbesondere durch den Plättchen-aktivierenden Faktor (PAF: 1-*O*-Hexadecyl-2-acetyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin) und durch Lipide mit Antitumor-Wirkung (z. B. Edelfosin: 1-*O*-Octadecyl-2-*O*-methyl-glycero-3-phosphocholin) interessant geworden. In diesem Zusammenhang sind auch Totalsynthesen von Phospholipiden der *L*-Reihe beschrieben worden, die von *R*-Glycidol-Derivaten [1, 2], *R*-Isopropylidenglycerol [3, 4], *L*-Ascorbinsäure [5] und *D*-Mannitol [6] ausgehen.

Für uns sind 1-*O*-Alkyl-2-acyl-glycero-3-phosphocholine hinsichtlich ihrer Wechselwirkung mit Phospholipase A₂ (PLA₂) von Interesse. PLA₂ spaltet Acylreste in 2-Stellung von *L*-Phospholipiden hydrolytisch ab. PLA₂ kontrolliert dadurch als regulatorisches Enzym die Freisetzung von Arachidonsäure und damit den Start der Arachidonsäure-Kaskade. Die chiralen 1-*O*-Alkyl-2-acyl-glycero-3-phosphocholine sollen nähere Informationen zum Einfluß der Konfiguration am C-2 des Glycerols auf Adsorptions- und Hydrolyseprozeß liefern.

Wir gingen bei unseren Synthesen von dem kommerziell erhältlichen *R*-(-)-1,2-Isopropylidenglycerol (**2**) für die 1-*O*-Alkyl-2-acyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (*L*-Reihe, **16**) und *S*-(+)-1,2-Isopropylidenglycerol (**3**) für die 3-*O*-Alkyl-2-acyl-*sn*-glycero-1-phosphocholine (*D*-Reihe, **17**) aus (Schema).

Beim Alkylrest handelt es sich um Hexadecyl (**16a–c/17a–c**), 2-Methyl-hexadecyl (**16d**) zur gezielten Induzie-

Schema



R ¹	R ²	<i>L</i> -Reihe	<i>D</i> -Reihe
C ₁₆ H ₃₃	C ₁₇ H ₃₅	16a	17a
C ₁₆ H ₃₃	C ₁₄ H ₂₉ –CH–(CH ₂) ₂ – CH ₃	16b	17b
C ₁₆ H ₃₃	(C ₁₄ H ₂₉) ₂ CH–(CH ₂) ₂ – CH ₃	16c	17c
C ₁₄ H ₂₉ –CH–(CH ₂) ₂ – CH ₃	C ₁₇ H ₃₅	16d	
(C ₁₄ H ₂₉) ₂ CH–CH ₂	C ₁₇ H ₃₅	16e	

rung von Störstellen im Substrataggregat und 2-Tetradecyl-hexadecyl (**16e**). Durch die drei langkettigen Alkylreste von **16e** soll die Bildung dichter gepackter Substrataggregate ermöglicht werden. Die Einführung der Alkylreste (Bildung von **4/5**) erfolgte durch Alkylierung mit den entsprechenden Alkylbromiden [7] in Gegenwart von Kalium-*tert*.butylat als Base. 2-Methyl-hexadecylbromid und 2-Tetradecyl-hexadecylbromid wurden ausgehend von den entsprechenden verzweigten Fettsäuren [8] durch Reduktion und anschließende Bromierung des Alkohols synthetisiert.

Tabelle: Physikalische Daten der synthetisierten Verbindungen

Verbindg.	Summenf.	(MG)	Ausb. (%)	Physikalische Daten
4d	C ₂₀ H ₄₂ O ₃	(330,6)	65	Schmb.: 62,2–62,8 °C
4e	C ₃₃ H ₆₈ O ₃	(512,9)	62	Schmb.: 57,0–58,1 °C
5a	C ₁₉ H ₄₀ O ₃	(316,5)	74	Schmb.: 64,8–65 °C
6a	C ₃₈ H ₅₄ O ₃	(558,8)	78	Schmb.: 53,8–54,2 °C
6d	C ₃₉ H ₅₆ O ₃	(572,9)	74	Schmb.: 58,5–58,9 °C
6e	C ₅₂ H ₈₂ O ₃	(755,2)	71	Schmb.: 61,2–61,4 °C
7a	C ₃₈ H ₅₄ O ₃	(558,8)	80	Schmb.: 53,6–54,2 °C
10a	C ₂₆ H ₄₆ O ₃	(406,7)	61	Öl
10d	C ₂₇ H ₄₈ O ₃	(420,7)	61	Öl
10e	C ₄₀ H ₇₄ O ₃	(603,0)	57	Schmb.: 37–38,5 °C
11a	C ₂₆ H ₄₆ O ₃	(406,7)	66	Öl
16a	C ₄₂ H ₈₆ NO ₇ P	(748,1)	79	ESI-MS: M + H ⁺ : 749,5; M + Na ⁺ : 771,3; M + K ⁺ : 787,3
16b	C ₄₄ H ₈₈ NO ₇ P	(762,2)	65	ESI-MS: M + H ⁺ : 763,3; 2 M + Na ⁺ : 1525,2;
16c	C ₅₆ H ₁₁₄ NO ₇ P	(944,5)	59	ESI-MS: M + H ⁺ : 945,2; M + Na ⁺ : 967,2; M + K ⁺ : 983,0
16d	C ₄₃ H ₈₈ NO ₇ P	(762,1)	59	ESI-MS: M + H ⁺ : 763,0; M + Na ⁺ : 785,0
16e	C ₅₆ H ₁₁₄ NO ₇ P	(944,5)	50	ESI-MS: M + H ⁺ : 945,4; M + Na ⁺ : 967,4; M + K ⁺ : 983,3
17a	C ₄₂ H ₈₆ NO ₇ P	(748,1)	71	ESI-MS: M + H ⁺ : 749,0; M + Na ⁺ : 770,9; 2 M + H ⁺ : 1497,2
17b	C ₄₃ H ₈₈ NO ₇ P	(762,1)	68	ESI-MS: M + H ⁺ : 763,7; M + Na ⁺ : 785,7; M + K ⁺ : 801,3; 2 M + H ⁺ : 1524,3
17c	C ₅₆ H ₁₁₄ NO ₇ P	(944,5)	58	ESI-MS: M + H ⁺ : 945,5; M + Na ⁺ : 967,5

Es wurde eine direkte Acylierung der 2-Hydroxygruppe von **6/7** vermieden und dafür temporär eine Benzylschutzgruppe eingeführt (**8/9**), um eine Acylgruppenmigration [9] zu vermeiden. Die primäre Hydroxygruppe wurde dazu zwischenzeitlich trityliert. Dabei wurde entsprechend Literaturangaben [10] nur mit einem geringen Überschuß an Tritylchlorid gearbeitet, um eine Ditritylierung zu vermeiden. Die Tritylierung wurde mit Triethylamin in Tetrahydrofuran durchgeführt. Das hatte zwar gegenüber abs. Pyridin den Nachteil einer etwas geringeren Ausbeute, erleichterte aber die Aufarbeitung. Die Einführung der Phosphocholingruppe erfolgte nach der Methode von Eibl [11]. Zur Debenzylierung wurde Pd-katalysiert hydriert und sofort nach Debenzylierung zur Vermeidung einer Phosphatgruppenmigration [12] mit den entsprechenden Fettsäureanhydriden in Gegenwart von Dimethylaminopyridin als Katalysator acyliert.

Die geraden Zahlen stehen jeweils für die *L*-Reihe, die ungeraden Zahlen >3 für die *D*-Reihe. Für **4–15** gilt für R^1 die gleiche Zuordnung für **a–e** wie bei den aufgeführten 1-*O*-Alkyl-2-acyl-glycero-3-phosphocholinen **16** und **17**. Der verzweigte Alkylrest von *d* ist jeweils *racemisch*.

Experimenteller Teil

1. Allgemeine Angaben

Die chiralen Isopropylidenglycerole stammen von Aldrich (Heidenheim), Hexydecylbromid von Merck-Schuchardt, Hohenbrunn.

Die Elementaranalysen der synthetisierten Verbindungen lagen in den üblichen Grenzen. Die Massenspektren wurden mit einem Elektrospray-Massenspektrometer MAT SSQ 710C (Finnigan, USA) im „positive mode“, mit einer ESI-Spannung von 4,5 V aufgenommen. Die Kapillartemperatur betrug 200 °C, die Untersuchungslösungen hatten eine Konzentration von 10–50 g/ml in MeOH/H₂O 90/10.

Die Reinheit der Zwischen- und Endprodukte wurde durch HPLC (JASCO Chromatograph mit Detektor ELSD IIA an 250 × 4,6 mm Kromasil Si 100) bei 20 °C und CHCl₃/MeOH/H₂O 65/35/5 als mobiler Phase kontrolliert. Die ¹H-NMR-Spektren zeigten die erwarteten Signale.

2. Synthese der α -verzweigten Alkylbromide 1

Eine Lösung von 0,02 mol Fettsäure sowie 3 ml H₂SO₄ (konz.) wurden in 30 ml MeOH gelöst und 3 h unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlung wurde zweimal mit 20 ml Ether ausgeschüttelt, die organische Phase mit gesättigter NaCl-Lösung bis zur Neutralität gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Zu einer eisgekühlten Suspension von 0,65 g (0,017 mol) LiAlH₄ in Ether wurde unter Rühren vorsichtig eine Lösung von 0,017 mol Fettsäuremethylester in 20 ml Ether zugetropft, 4 h unter Rückfluß gerührt und danach unter Eiskühlung vorsichtig Wasser zugegeben, bis keine Gasentwicklung mehr zu beobachten war. Die Mischung wurde mit 5 ml HCl (3N) angesäuert. Nach Phasentrennung und Waschen mit gesättigter NaCl-Lösung wurde die Etherphase getrocknet und eingeeengt. Von dem gewonnenen Alkanol wurden 0,015 mol in 20 ml Pyridin gelöst. Zu dieser gerührten und eisgekühlten Lösung wurden 3 g (0,016 mol) *p*-Toluensulfonsäurechlorid gegeben. Nach 1 h Rühren wurde mit Ether extrahiert. Die Etherphase wurde mit gesättigter NH₄Cl-Lösung neutralisiert, getrocknet und eingeeengt. Das ölige Produkt wurde in 20 ml Aceton gelöst und mit 3 g (0,035 mol) LiBr 2 h unter Rückfluß erhitzt. Die Mischung wurde anschließend mit Eiswasser gerührt und das Alkylbromid mit Petroläther extrahiert. Das Produkt wurde durch Waschen, Trocknen und Einengen der organischen Phase als gelbliches Öl gewonnen.

2-Methyl-hexadecylbromid: C₁₇H₃₅Br (319,4), Ausbeute: 68%
2-Tetradecyl-hexadecylbromid: C₃₀H₆₁Br (501,7), Ausbeute: 52%.

3. Synthese der 1-*O*-Alkyl-glycerole 4 und 5

R-(–)-1,2-Isopropylidenglycerol (**2**) bzw. *S*-(+)-1,2-Isopropylidenglycerol (**3**) wurden analog [4] mit dem entsprechenden Alkylbromid **1** umgesetzt.

4. Synthese der 1-*O*-Alkyl-3-*O*-trityl-glycerole 6 und 7

0,006 mol **4a, d** oder **e** bzw. **5a** wurden in 10 ml Tetrahydrofuran gelöst und mit 0,65 g (0,0065 mol) getrocknetem Triethylamin versetzt. Unter Eiskühlung und Rühren wurde eine Lösung von 1,79 g (0,0065 mol) Tritylchlorid in 10 ml Tetrahydrofuran zugetropft. Bei Raumtemperatur wurde 12 h gerührt. Eine Erhöhung der Ausbeuten wurde durch die nochmalige Zugabe von 0,4 g Triethylamin und 0,9 g Tritylchlorid und Verlängerung der Reaktionszeit um 8 h erreicht. Danach wurde das Lösungsmittel ent-

fernt und der Rückstand in Ether aufgenommen. Die org. Phase wurde dreimal mit H₂O gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wurde *sc* isoliert (10 g Kieselgel/g Produkt). Eluiert wurde bis zur Entfernung des Triphenylmethanols mit Heptan, danach wurde zur Elution der Produkte schrittweise Ether in 5 Vol.-%-Schritten zugemischt.

5. Synthese der 1-*O*-Alkyl-2-*O*-benzyl-3-*O*-trityl-glycerole 8 und 9

0,0035 mol **6a, d** oder **3** bzw. **7a** wurden in 10 ml Tetrahydrofuran gelöst und unter Rühren vorsichtig mit 0,4 g (0,0035 mol) Kalium-*tert*-butylat versetzt. Danach wurde bei Raumtemperatur eine Lösung von 0,6 g (0,0035 mol) Benzylbromid in 10 ml Tetrahydrofuran zugetropft. Nach einstündigem Rühren und 3 h Erwärmen unter Rückfluß wurden nach dem Abkühlen 20 ml H₂O und zweimal 20 ml Ether zugegeben, die organische Phase abgetrennt, getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wurde ohne weitere Reinigung detrityliert.

6. Synthese der 1-*O*-Alkyl-2-*O*-benzyl-glycerole 10 und 11

Die Rohprodukte von **8** bzw. **9** wurden in 10 ml CH₂Cl₂ gelöst und unter Eiskühlung mit 2 ml einer 10% BF₃-Lösung in MeOH versetzt. Nach 2 h wurden 10 ml H₂O zugesetzt, die org. Phase abgetrennt, gewaschen, getrocknet und eingeeengt. Das Rohprodukt wurde analog 4. *sc* gereinigt. Es wurden schwach gelbliche Öle erhalten.

7. Synthese der 1-*O*-Alkyl-glycero-3-phosphocholine 14 und 15

10 bzw. **11** wurden analog [11] zunächst mit 2-Brom-ethylphosphorsäuredichlorid und anschließend mit Trimethylamin zu den 1-*O*-Alkyl-2-*O*-benzyl-glycero-3-phosphocholinen **12** bzw. **13** umgesetzt. Die Reinigung erfolgte *sc*. Pro 1 g Rohprodukt wurden 100 g Kieselgel in CHCl₃ suspendiert. Zur Elution wurde mit 100 ml CHCl₃/MeOH/NH₃ (25%) 100/10/1 begonnen und stufenweise (jeweils 100 ml) mit steigender Polarität verändert: 90/10/1 → 85/15/1,5 → 80/20/2,5 → 75/25/3 → 65/35/5. Zur Debenzylierung wurden 0,001 mol **12** bzw. **13** unter Erwärmen in 10 ml Ethanol gelöst, mit 50 mg Pd/C versetzt, die Mischung durch Erzeugung von Unterdruck entgast und unter Schütteln mit H₂ behandelt, wobei der Reaktionsverlauf *dc* verfolgt wurde. Nach Abschluß der Reaktion wurde filtriert und eingeeengt. Die Produkte, farblose Öle, wurden ohne weitere Reinigung acyliert.

8. Synthese der Fettsäureanhydride 18

0,004 mol Stearinsäure (**a**), 4-Methyl-stearinsäure (**d**) bzw. 4-Tetradecyl-stearinsäure (**e**) [13] wurden in CCl₄ gelöst und mit 0,42 g (0,002 mol) DCC versetzt. Nach 12 h bei Raumtemperatur wurde abfiltriert und die org. Phase eingeeengt.

9. Synthese der 1-*O*-Alkyl-2-acyl-glycerophosphocholine 16 und 17

Zu jeweils 0,48 g (0,001 mol) **14** bzw. **15** in 20 ml Toluol wurden unter Rühren 0,12 g (0,001 mol) 4-Dimethylaminopyridin und 0,001 mol **18a** bzw. 0,002 mol **18b** oder **18c**, gelöst in 5 ml Toluol, gegeben. Die Reaktionsmischung wurde unter Feuchtigkeitsausschluß bei 40 °C 72 h gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet und eingeeengt. Die Reinigung erfolgte *sc* analog 4.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für finanzielle Förderung im Rahmen des SFB 197.

Literatur

- Guivisdalsky, P. N.; Bitman, R.: *Tetrahedron Lett.* **29**, 4393 (1988)
- Guivisdalsky, P. N.; Bitman, R.: *J. Org. Chem.* **54**, 4637 (1989)
- Baumann, W. J.; Mangold, H. K.: *J. Org. Chem.* **29**, 3055 (1964)
- Paltauf, F.; Hermetter, A.: *Methods Enzymol.* **197**, 134 (1991)
- Hubschwerlen, C.: *Synthesis*, 962 (1986)
- Peters, U.; Bankova, W.; Welzel, P.: *Tetrahedron* **43**, 3803 (1987)
- Wheeler, T. N.; Blanchard, S. G.; Andrews, R. C.; Fang, F.; Gray-Nunez, Y.; Harris, C. O.; Lambert, M. H.; Mehrotra, M. M.; Parks, D. J.; Ray, J. A.; Smalley, T. L.: *J. Med. Chem.* **37**, 4118 (1994)
- Nuhn, P.; Dobner, B.; Elsner, B.: *Pharmazie* **44**, 758 (1989)
- Plückthun, A.; Dennis, E. A.: *Biochem.* **21**, 1743 (1982)
- Hermetter, A.; Stütz, H.; Franzmair, R.; Paltauf, F.: *Chem. Phys. Lipids* **50**, 57 (1989)
- Eibl, H. J.: *Deutsche Offenlegungsschrift*, 2345059 (1973)
- Inomata, K.; Nakayama, Y.; Kotake, H.: *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **53**, 565 (1980)
- Selinger, Z.; Lapidot, Y.: *J. Lipid Res.* **7**, 174 (1966)

Eingegangen am 20. Januar 1999
Angenommen am 20. Februar 1999

Prof. Dr. P. Nuhn
Institut für Pharmazeutische Chemie
Martin-Luther-Universität
Wolfgang-Langenbeck-Str. 4
D-06120 Halle/Saale
Nuhn@pharmazie.uni-halle.de