



Glycerin-2-diethylphosphat durch photochemische Umsetzung von Dihydroxyaceton mit Diethylphosphorsäure

Jürgen Schole* und Christine Schole¹

Institut für Physiologische Chemie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Bünteweg 17, D-30559 Hannover, Germany

Abstract: Photochemically excited dihydroxy acetone reacts in 1,2-dimethoxy ethane with diethyl phosphoric acid to glycerol-2-diethyl phosphate. The formation of this synthesis product is detected by NMR-spectroscopy, mass spectrometry, phosphate analysis, and chemical synthesis.

EINFÜHRUNG

In einer vorausgegangenen Mitteilung konnte gezeigt werden, daß das Ketylradikal des Acetons mit Diethylphosphorsäure zu Isopropyl- bzw. Isopropenylphosphat reagiert.² Die Ergebnisse wurden als Umkehr der β -Spaltung interpretiert, deren Energetik durch den "inversen Marcus-Bereich" erklärt werden könnte (Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit abnehmender Exergonie).^{3,4} Durch diese Reaktion wird ein Weg aufgezeigt, anorganisches Phosphat über eine Radikalreaktion in organische Bindung zu bringen. Da in dem für die oxidative Phosphorylierung essentiellen Phospholipid 1,3-Bisphosphatidylglycerin (Cardiolipin) nach entsprechender Oxidation der Aceton-Teil enthalten ist, besteht die Möglichkeit, daß Cardiolipin in den phosphorylierenden Komplexen der Atmungskette in den Elektronentransport einbezogen ist und nach Ausbildung eines Ketylradikals anorganisches Phosphat in energiereicher Enolesterbindung übernimmt. Da ein derartiges Enolphosphat nach den Untersuchungen von Lichtenthaler extrem instabil sein dürfte,⁵ wäre es möglich, daß es bisher dem Nachweis entgangen ist.

Im oxidierten Cardiolipin ist speziell das Dihydroxyaceton **1** enthalten. Es wurde daher in der vorliegenden Studie zusätzlich überprüft, ob dieses Keton nach photochemischer Anregung in Gegenwart von Diethylphosphorsäure **2** zu Glycerin-2-diethylphosphat **3** reagiert.

Die analytischen Daten dieses - chromatographisch gereinigten - Syntheseproduktes stimmen mit denjenigen der photochemisch erhaltenen Verbindung überein. Die Ausbeuten sind bei der photochemischen Synthese - wie beim Aceton² - verständlicherweise sehr gering, denn es handelt sich nicht nur um eine bimolekulare Reaktion, sondern ein Reaktionspartner muß zusätzlich im reaktionsfähigen "Radikalstatus" vorliegen. Außerdem laufen zahlreiche Nebenreaktionen ab, die zunächst unberücksichtigt bleiben müssen. Es soll hier auch nur nachgewiesen werden, daß Diethylphosphorsäure mit dem Ketyl-Radikal von Dihydroxyaceton **1** unter Esterbildung reagiert. Das Ergebnis ließe sich - wie beim Aceton² - als Umkehr der β -Spaltung unter intermediärer Bildung eines Phosphoranilradikals interpretieren. Der Reaktionsmechanismus wird z. Zt. untersucht.

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeines

Dihydroxyaceton (**1**) wurde als Dimer von Sigma bezogen. Für alle anderen Chemikalien wurde die höchste Reinheitsstufe gewählt, die im Handel erhältlich ist (Merck; Aldrich). Alle Lösungsmittel wurden vor Gebrauch destilliert. Dünnschichtchromatographie: Celluloseplatten (Glas; 0.1 mm; Merck); HPTLC-Alufolien (Kieselgel 60 F 254; Merck). Säulenchromatographie: Kieselgel 70 - 230 mesh (Aldrich; hochreine Qualität; 10 g/100 mg Substanz). Fractogel-Ionenaustauscher (Merck TSH DEA-650 (S), Cl-Form (0.025 - 0.05 mm)). Bestrahlung: Hg-Hochdruck-Tauchstrahler (150 W; Quarzgefäß; Wasserkühlung; Heraeus, Hanau). Spektren: ¹H-NMR und ¹³C-NMR: Bruker AM 300 (300.13 bzw. 75.47 MHz; CDCl₃/TMS). ³¹P-NMR: Bruker AM-250 (101.26 MHz; CDCl₃; H₃PO₄ ext.). MS: Varian Mat 311 A (70 eV). Die Phosphatbestimmung erfolgte nach einer Standardmethode.⁷

Diethylphosphorsäure (**2**)

Die Synthese dieser Verbindung wurde schon beschrieben.²

Glycerin-2-diethylphosphat (**3**) (photochemisch)

Das Dimer von **1** (990 mg, 11 mmol (Monomer)) wurde zur Spaltung in 1 ml Wasser gelöst, 50 ml DME zugesetzt und der Hauptteil des Wassers mit MgSO₄ gebunden. Nach Abtrennung des MgSO₄ und Zugabe des Phosphorsäurederivats **2** (8.5 g, 55 mmol) in 140 ml DME wurde 5 min N₂ durchgeleitet und 24 h bestrahlt (Raumtemperatur; Magnetrührer). Anschließend wurde der Ansatz mit KOH (10 mol/l) neutralisiert, ausfallendes Diethylphosphat (DEP) abgetrennt (Wasserphase) und das Lösungsmittel im Vakuum eingeeengt (30°C). Die neben DEP auch das Produkt **3** enthaltende Wasserphase wurde 3mal mit je 40 ml THF extrahiert, die THF-Extrakte mit dem DME-Rückstand vereinigt und zur Trockne gebracht. Der Rückstand wurde in wenig Wasser (pH 8 - 9) gelöst und durch eine Fractogel-Ionenaustauschersäule gegeben (20 x 2.5 cm; Abtrennung von DEP). Die das Produkt **3** enthaltenden Fraktionen wurden im Vakuum zur Trockne gebracht (30°C) und der Rückstand vorsichtig (s. Anmerkung) an einer Kieselgelsäule chromatographiert (Cyclohexan/Essigester/2-PrOH 2:1:1.5 (V/V/V)). Dünnschichtchromatographie der reinen Produkt **3** enthaltenden Fraktionen auf Celluloseplatten lieferte einen Fleck bei R_f 0.83 (2-PrOH/NH₃/Wasser 8:1:1 (V/V/V))² und auf Kieselgelplatten einen Fleck bei R_f 0.42 (Cyclohexan/Essigester/2-PrOH 4:1.5:2.25 (V/V/V), Ansprühen mit KMnO₄). Bei Kombination von 5 - 6 Ansätzen wurden ca. 100 mg reines **3** als farbloses Öl erhalten. ¹H-NMR: δ = 4.18 - 4.03 (m, 4H, O-CH₂-CH₃); 3.97 - 3.88 (m, 1H, C-H); 3.72 - 3.58 (m, 4H, CH₂-OH); 1.36 - 1.32 (m, 6H, O-CH₂-CH₃). ¹³C-NMR: δ = 70.62 (d, ²J_{C-P} = 6.2 Hz, C-H); 68.30 (d, ³J_{C-P} = 5.9 Hz, CH₂OH); 64.21 (d, ²J_{C-P} = 6.0 Hz, O-CH₂-CH₃); 15.98 (d, ³J_{C-P} = 7.0 Hz, O-CH₂-CH₃).

^{31}P -NMR: $\delta = 0.152$. MS: m/z (%) = 229 (4, $\text{M} + \text{H}^+$), 197 (28), 180 (7), 169 (9), 168 (18), 155 (32), 141 (48), 127 (22), 113 (15), 99 (92), 81 (38), 65 (9), 43 (20). $\text{C}_7\text{H}_{17}\text{O}_6\text{P}$ (228.18). P-Analyse: Ber. 13.6; Gef. 13.1%.

Glycerin-2-diethylphosphat (3) (chemisch)

Glycerin-1,3-dibenzylether (4). - Der Dibenzylether des Glycerins wurde nach einer bekannten Methode durch Umsetzung von 1,3-Dichlor-2-propanol mit Na-Benzylalkoholat hergestellt.⁶ Das gelbe Öl wurde zusätzlich an einer Kieselgelsäule chromatographiert (Cyclohexan/Essigester 2:1 (V/V)). ^1H -NMR: $\delta = 7.43 - 7.22$ (m, 10 arom. H); 4.57 (s, 4H, PhCH_2); 4.09 - 3.98 (m, 1H, C-H); 3.62 - 3.47 (m, 4H, O- CH_2); 2.56 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, O-H). ^{13}C -NMR: $\delta = 137.98$ (s, arom. C); 128.35 und 127.66 (2s, arom. C-H); 73.37 (s, PhCH_2); 71.35 (s, O- CH_2); 69.53 (s, C-H).

Glycerin-1,3-dibenzylether-2-diethylphosphat (5). - Zu dem Dibenzylether 4 (700 mg, 2.6 mmol) in 2 ml Pyridin (trocken) wurde Diethylchlorphosphat (800 μl , 5.5 mmol; frisch dest.) in 40 min (20 $\mu\text{l}/\text{min}$; Raumtemperatur; Magnetrührer) zugetropft. Anschließend wurde noch weitere 20 min gerührt, unter Eiskühlung angesäuert (HCl (1 mol/l)) und 3mal mit je 30 ml Ether extrahiert. Die vereinigten Ether-Extrakte wurden mit ges. NaCl-Lösung + NaHCO_3 gewaschen, getrocknet (MgSO_4), eingeeengt und der Rückstand an einer Kieselgelsäule chromatographiert (Cyclohexan/Essigester/2-PrOH 2:1:0.2 (V/V/V)). 646 mg reines 5 (61.5%). ^1H -NMR: $\delta = 7.40 - 7.22$ (m, 10 arom. H); 4.74 - 4.64 (m, 1H, C-H); 4.58 und 4.53 (2d, $J = 12.6$ und 9.6 Hz, 4H, PhCH_2); 4.13 - 4.02 (m, 4H, O- CH_2 - CH_3); 3.70 (d, $J = 5.0$ Hz, 4H, O- CH_2); 1.26 (m, 6H, O- CH_2 - CH_3). ^{13}C -NMR: $\delta = 137.88$ (s, arom. C); 128.28 und 127.60 (2s, arom. C-H); 75.91 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 6.0$ Hz, C-H); 73.27 (s, PhCH_2); 69.62 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 4.5$ Hz, O- CH_2); 63.69 (d, $^2J_{\text{C-P}} = 5.7$ Hz, O- CH_2 - CH_3); 15.94 (d, $^3J_{\text{C-P}} = 7.4$ Hz, O- CH_2 - CH_3).

Glycerin-2-diethylphosphat (3). - Das Phosphorylierungsprodukt 5 (1 g, 4.4 mmol) wurde in 25 ml MeOH mit Pd/C (600 mg; 10% Pd) hydriert. Nach Verbrauch der theoretischen Menge H_2 wurde der Katalysator abgetrennt, zum Filtrat 10 ml Wasser zugesetzt und das Toluol mit Ether extrahiert. Die Wasserphase wurde bei pH 8 - 9 durch eine Fractogel-Ionenaustauschersäule filtriert (20 x 2.5 cm; s.o.). Die 3 enthaltenden Fraktionen wurden im Vakuum eingeeengt (30°C) und der Rückstand vorsichtig (s. Anmerkung) an einer Kieselgelsäule chromatographiert (Cyclohexan/Essigester/2-PrOH 2:1:1.5 (V/V/V)). 280 mg reines 3 (50.1%). Die analytischen Daten dieses Syntheseproduktes (R_f -Wert Cellulose-Platte; P-Gehalt; NMR-Spektren) entsprechen denjenigen, die mit dem photochemisch gewonnenen 3 erhalten worden waren.

Anmerkung: Bei der Chromatographie an Kieselgel wird 3 relativ leicht zersetzt. Auch eine Umlagerung zum Glycerin-1- bzw. -3-diethylphosphat ist möglich. Der Kontakt mit der Kieselgelsäule sollte daher so kurz wie möglich gehalten werden.

LITERATUR

1. Gegenwärtige Anschrift: Institut für Organische Chemie der Universität Göttingen, Tammannstr. 2, D-37077 Göttingen, Germany.
2. Schole, J.; Schole, Ch.; Eikemeyer, J.; Krebs, H. Chr. *Tetrahedron* **1993**, im Druck.
3. Marcus, R. A.; Sutin, N. *Biochim. Biophys. Acta* **1985**, *811*, 265-322.
4. Grampp, G. *Angew. Chem.* **1993**, *105*, 724-726; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 691-693.
5. Lichtenthaler, F. W. *Chem. Reviews* **1961**, *61*, 607-649.
6. Fairbourne, A.; Gibson, G. P.; Stephens, D. W. *J. Chem. Soc.* **1931**, 445-458.
7. Anderson, R. L.; Davis, S. *Clin. Chim. Acta* **1982**, *121*, 111-116.

(Received in Germany 29 November 1993; accepted 21 January 1994)