

Sphingolipide, 1. Mitt.:

Synthese ceramidähnlicher Verbindungen

Von

M. Klepp, H. Libert und L. Schmid

Lehrkanzel für Lebensmittel-Chemie der Universität Wien

Mit 4 Abbildungen

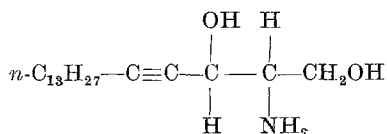
(Eingegangen am 16. Dezember 1966)

Im Zuge der Synthese von *DL-threo*-1-Hydroxy-2-N-myristoyl-3-O-acetyl-4-*trans*-octadecen werden folgende Verbindungen erstmalig dargestellt: *DL-threo*-1,3-Dihydroxy-2-N-myristoyl-4-*trans*-octadecen, *DL-threo*-1-O-Trityl-2-N-myristoyl-3-hydroxy-4-*trans*-octadecen und *DL-threo*-1-O-Trityl-2-N-myristoyl-3-O-acetyl-4-*trans*-octadecen. Die Konstitution wurde durch die IR-Spektren bestätigt. Die Synthesen von *DL-threo*-1,3-Dihydroxy-2-amino-4-octadecin und *DL-threo*-1,3-Dihydroxy-2-amino-4-*trans*-octadecen wurden verbessert. Die Massenspektren der letzteren werden beschrieben.

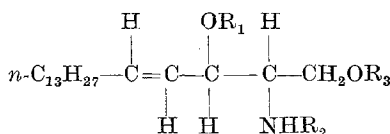
Die biochemische Bedeutung der Sphingolipide machte sie zu einem bevorzugten Untersuchungsgebiet. Bei vielen Verbindungen dieses Typs ist es bereits gelungen, Einblick in ihre Konstitution zu gewinnen. Es ist jedoch erstrebenswert, diese Stoffklasse teils zur Bestätigung bekannter Konstitutionen, teils im Hinblick auf die schwierige Beschaffung von Reinsubstanzen auch synthetisch weiter zu erschließen.

Als wichtige Zwischenprodukte bei solchen Synthesen erweisen sich Ceramide, deren Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 3 des Sphingosinrestes durch Veresterung blockiert ist. Zur Zeit sind nur Verbindungen bekannt, die sich von der *erythro-trans*-Form des Sphingosins ableiten, hingegen nicht die *threo-trans*-Isomeren. Nun benötigten wir gerade das *DL-threo*-1-Hydroxy-2-N-myristoyl-3-O-acetyl-4-*trans*-octadecen (6) als Zwischenprodukt für eine weitere Synthese.

Für die sechsstufige Synthese gingen wir vom DL-*threo*-1,3-Dihydroxy-2-amino-4-octadecin (**1**) aus; diese an sich bekannte¹ Verbindung erhielten wir aus dem entsprechenden 2-Nitroderivat in stark verbesserter Ausbeute (82%, Lit.¹ 44,5% d. Th.), indem wir die Reduktion statt mit Aluminium-amalgam mit Zink + Salzsäure durchführten.



1



2: $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{H}$

3: $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{CO---}n\text{-C}_{13}\text{H}_{27}$

4: $\text{R}_1 = \text{H}$, $\text{R}_2 = \text{CO---}n\text{-C}_{13}\text{H}_{27}$, $\text{R}_3 = \text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$

5: $\text{R}_1 = \text{COCH}_3$, $\text{R}_2 = \text{CO---}n\text{-C}_{13}\text{H}_{27}$, $\text{R}_3 = \text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$

6: $\text{R}_1 = \text{COCH}_3$, $\text{R}_2 = \text{CO---}n\text{-C}_{13}\text{H}_{27}$, $\text{R}_3 = \text{H}$

Was Verbindung **2** betrifft, so wird sie durch Hydrieren von **1** dargestellt¹. Wie im Versuchsteil näher ausgeführt wird, wurde, mit Rücksicht auf die Schwerlöslichkeit von **2** in Äther, die in¹ genannte Aufarbeitung modifiziert.

Die zur weiteren Charakterisierung von **1** und **2** aufgenommenen Massenspektren (Abb. 1) bestätigen, daß die Verbindungen **1** bzw. **2** vorliegen. Dies folgt eindeutig aus den Massenzahlen für das Molekulargewicht (297 bzw. 299) sowie eindrucksvoll für die Molekülbruchstücke 248 bzw. 250 (Abspaltung von H_2O und $\text{---CH}_2\text{OH}$), 266 bzw. 268 (Abspaltung von $\text{---CH}_2\text{OH}$), 279 bzw. 281 (Abspaltung von H_2O) und 60 (entsprechend einer Äthanolaminogruppe).

Die Darstellung der bisher unbekannten Verbindung **3** erfolgte durch Umsetzung mit Myristinsäurechlorid in Analogie zu². Dem IR-Spektrum (Abb. 2) war aus dem Auftreten der Säureamidbande (1625 cm^{-1}) sowie aus dem Fehlen einer Esterbande (1730 cm^{-1}) klar zu entnehmen, daß nur die Aminogruppe acyliert, die Hydroxylgruppen aber nicht verestert wurden. Daraus folgt, daß die gewünschte Verbindung vorliegt.

Im weiteren Reaktionsweg führte die Tritylierung der primären Hydroxylgruppe von **3** zu **4**. Das IR-Spektrum von **4** (Abb. 3) entsprach mit den neu auftretenden Banden bei 1488 , 755 und 694 cm^{-1} der zu erwartenden Tritylverbindung (vgl. Triphenylcarbinol: 1492 , 758 und

¹ C. A. Grob und F. Gadiant, Helv. Chim. Acta **40**, 1151 (1957).

² B. Weiss und P. Raizman, J. Amer. Chem. Soc. **80**, 4657 (1958).

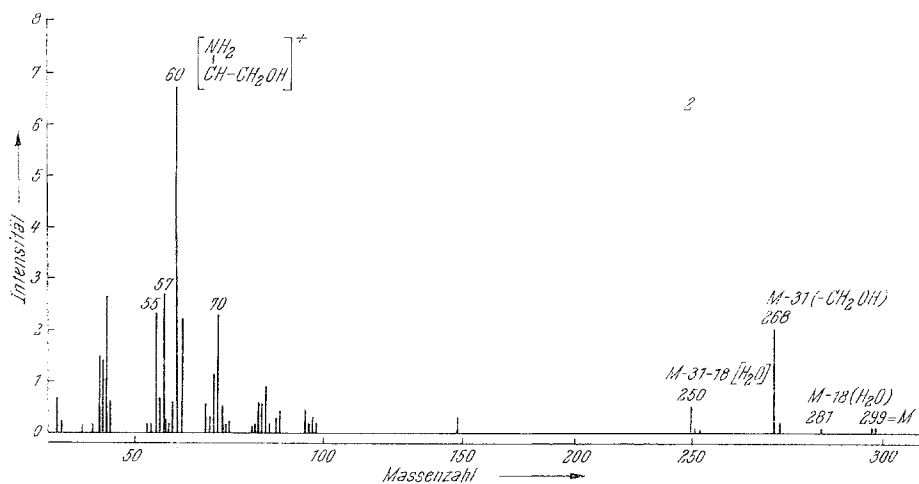


Abb. 1. Massenspektrum der Verbindung 2

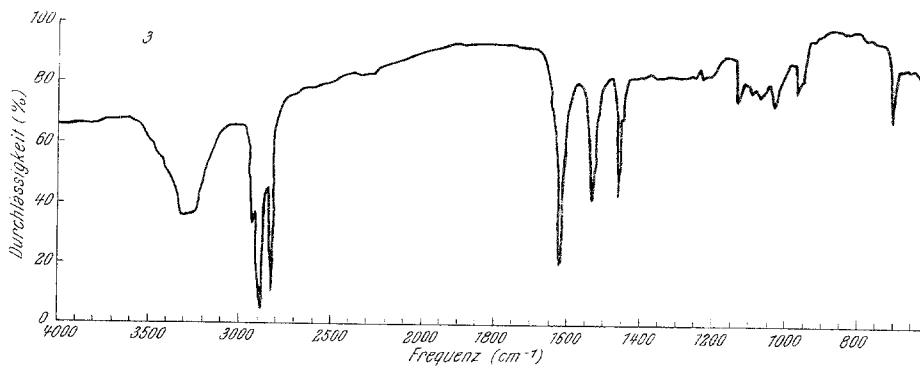


Abb. 2. IR-Spektrum der Verbindung 3

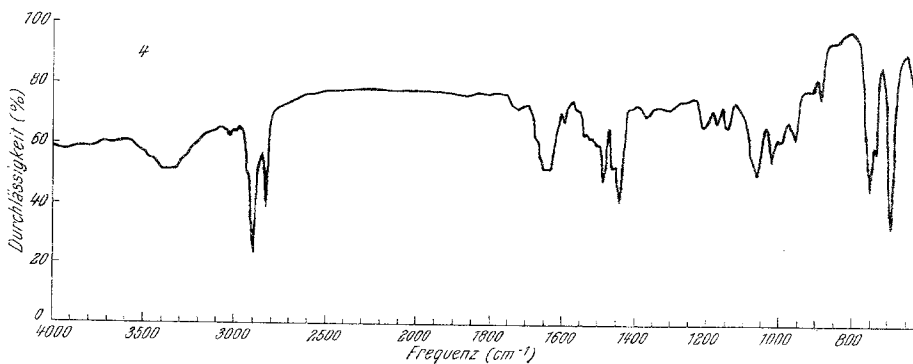


Abb. 3. IR-Spektrum der Verbindung 4

698 cm^{-1}). Acetylierung von **4** mit Acetylchlorid ergab **5**. Diese Verbindung wurde ohne weitere Reinigung durch Abspaltung der Tritylgruppe zu **6** umgesetzt. Zur Enttritylierung verwendete man bisher Chlorwasserstoff, Bromwasserstoff, Schwefelsäure³ oder 80—90proz. Essigsäure⁴; wir arbeiteten mit 90proz. Essigsäure. Das IR-Spektrum (Abb. 4) zeigte für **6** sowohl die für eine Acetylgruppe (1715, 1232 cm^{-1}) als auch die für ein Säureamid (1625 cm^{-1}) charakteristischen Banden. Außerdem war der Aufnahme zu entnehmen, daß eine Hydroxylgruppe (3450 cm^{-1}) unverestert vorhanden war. Diese Befunde beweisen die angenommene Struktur **6**.

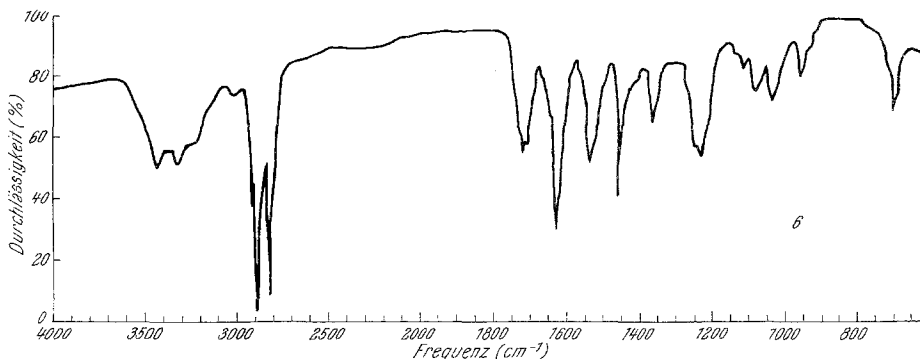


Abb. 4. IR-Spektrum der Verbindung **6**

Experimenteller Teil

DL-threo-1,3-Dihydroxy-2-amino-4-octadecin (**1**)

4 g DL-threo-1,3-Dihydroxy-2-nitro-4-octadecin werden in 30 ml Äthanol gelöst und unter Eiskühlung und unter Rühren zu einer Mischung von 10 ml konz. HCl und 10 ml Äthanol zugetropft. Während des Zutropfens gibt man 8 g Zinkstaub in kleinen Portionen zu und im Verlaufe der Reaktion noch tropfenweise 20 ml HCl. Dann wird 2 Stdn. bei Zimmertemp. gerührt und über Nacht stehengelassen. Man filtriert den Zinkstaub ab, macht das Filtrat soweit alkalisch, daß das Zinkhydroxid sich wieder löst und schüttelt das Filtrat mit Äther aus. Der Ätherextrakt wird mit Wasser neutral gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet, eingeengt und gekühlt. Ausb. 3 g (= 82% d. Th.); aus Äther— CHCl_3 weiße Kristalle. Schmp. 83—84° (Lit.: 83—84°)¹.

³ B. Helferich und H. Koester, Ber. dt. chem. Ges. **57**, 587 (1924); P. E. Verkade, J. Van der Lee und W. Meersburg, Rec. Trav. Chim. **54**, 716 (1935); B. Helferich und W. Klein, Ann. Chem. **450**, 219 (1926); P. E. Verkade, W. D. Cohen und A. L. Vroege, Rec. Trav. Chim. **59**, 1123 (1940); *ibid.* **61**, 373 (1942).

⁴ R. Kuhn, H. Rudy und F. Weygand, Ber. dt. chem. Ges. **69**, 1546 (1936); D. Shapiro, E. S. Rachaman und T. Sheradsky, J. Amer. Chem. Soc. **86**, 4472 (1964).

DL-threo-1,3-Dihydroxy-2-amino-4-trans-octadecen (2)

3,1 g LiAlH_4 werden in 40 ml trockenem Tetrahydrofuran (*THF*) aufgeschlämmt und unter Rühren während etwa 30 Min. eine Lösung von 3 g von **1** in 50 ml *THF* zugetropft. Nach 12stdg. Kochen am Rückfluß fügt man tropfenweise 60 ml Wasser zu. Das Reaktionsgemisch wird zum Sieden erhitzt, filtriert, und die Lösung solange im Vak. eingeeengt, bis das Reaktionsprodukt ausfällt. Man filtriert nach dem Erkalten und trocknet den Niederschlag im Exsikkator. Aus Äthanol—Äther 2,5 g (84% d. Th.) weiße Kristalle. Schmp. 97—98° (Lit. ¹: „wachartige Substanz“).

DL-threo-1,3-Dihydroxy-2-N-myristoyl-4-trans-octadecen (3)

1,4 g **2** werden unter leichter Erwärmung in 60 ml Dimethylformamid (*DMF*) und 0,6 ml trockenem Pyridin gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 1 g Myristinsäurechlorid, gelöst in 6 ml *DMF*, läßt 2 Stdn. bei Zimmertemp. stehen, stellt über Nacht in den Kühlschrank und filtriert das Reaktionsprodukt ab. Aus Äthanol 1,3 g (= 62% d. Th.) weiße Kristalle. Schmp. 105 bis 106°.

$\text{C}_{32}\text{H}_{63}\text{NO}_3$. Ber. C 75,51, H 12,47, N 2,75.
Gef. C 75,47, H 12,40, N 2,80.

DL-threo-1-O-Trityl-2-N-myristoyl-3-hydroxy-4-trans-octadecen (4)

Zur Lösung von 2 g von **3** in 70 ml trockenem *THF* und 0,4 g trockenem Pyridin gibt man 1,21 g Tritylchlorid, gelöst in 8 ml trock. *THF* und beläßt 56 Stdn. bei Zimmertemp. Die Lösung wird mit 0,1 *n*-HCl, mit 2proz. Na_2CO_3 -Lösung und mit Wasser gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird im Vak. entfernt und der Rückstand in warmem Petroläther (*P.Ä*) aufgenommen. Die Lösung wird mehrmals eingeeengt, gekühlt und filtriert (Triphenylcarbinol). Nach Eindampfen des Filtrats erhält man 1,5 g (= 50% d. Th.) Öl, das bei Zimmertemp. erstarrt (4).

DL-threo-1-O-Trityl-2-N-myristoyl-3-O-acetyl-4-trans-octadecen (5)

1,5 g **4** werden in 10 ml trockenem Pyridin gelöst. Unter Eis-Kochsalz-Kühlung und Ausschluß von Feuchtigkeit tropft man bei gutem Rühren innerhalb von 10 Min. 2 g Acetylchlorid zu, läßt 1 Stde. bei Zimmertemp. stehen und zersetzt dann das überschüssige Acetylchlorid mit Eis. Man extrahiert die Mischung mit Äther, wäscht Ätherlösung mit 0,1 *n*-HCl, dann mit 2proz. Na_2CO_3 -Lösung und mit Wasser und trocknet den Äther über Natriumsulfat. Nach Abdampfen des Äthers bleiben 1,3 g Öl zurück.

DL-threo-1-Hydroxy-2-N-myristoyl-3-O-acetyl-4-trans-octadecen (6)

1,3 g **5** werden mit 30 ml 90proz. Essigsäure am Wasserbad in etwa 20 Min. zur Lösung gebracht. Dann gießt man auf Eis und extrahiert das Reaktionsgemisch mit Äther. Die Ätherlösung wird mit 2proz. Na_2CO_3 -Lösung, dann mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und im Vak. zur Trockene gebracht. Den Abdampfückstand nimmt man in etwa 100 ml warmem *P.Ä* auf. Die kalte Lösung wird vom Triphenylcarbinol filtriert, eingeeengt und noch-

mals filtriert. Nach Entfernung des Lösungsmittels kristallisiert man den Rückstand abwechselnd aus Äthanol, Methanol und *PA* um; Schmp. 88—90°.

$C_{34}H_{66}NO_4$. Ber. C 74,00, H 11,90, N 2,54.
Gef. C 73,85, H 11,48, N 2,80.

Die IR-Spektren wurden von KBr-Preßlingen aufgenommen. Konzentration 1 mg/200 mg, Spaltbreite 25 μ .

Für die Aufnahme der Massenspektren danken wir Herrn Dr. *H. Egger*.

Dem Österreichischen Forschungsrat danken wir für die Bereitstellung finanzieller Mittel.