

Arch. Pharm. (Weinheim) 318, 695–700 (1985)

Synthese von Phosphonoanalogen des 2-O-Acetyl-1-O-hexadecyl(octadecyl)-sn-3-glycerolphosphoryl-cholins (Platelet-Activating Factor)

Hans Disselnkötter, Folker Lieb*, Hermann Oediger und Detlef Wendisch

Zentralbereich Forschung und Entwicklung der Bayer AG, D-5090 Leverkusen
Eingegangen am 26. April 1984

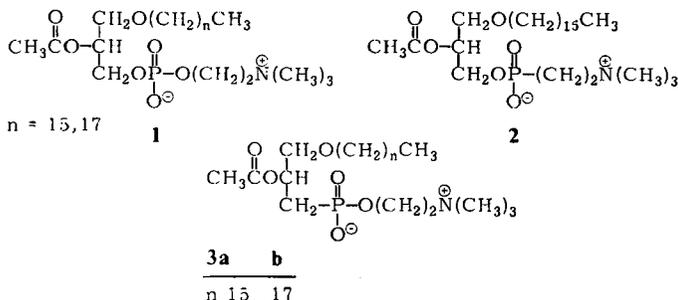
Die sich von **1** (Platelet-Activating Factor) ableitenden Phosphonoanaloge **2** und **3a–b** wurden aus dem Glycerinderivat **4** bzw. aus dem Epoxid **9** synthetisiert. **2** und **3a–b** zeigen bezüglich **1** keine agonistische oder antagonistische Wirkung.

Synthesis of Phosphono Analogs of 2-O-Acetyl-1-O-hexadecyl(octadecyl)-sn-3-glycerolphosphorylcholine (Platelet-Activating Factor)

Compounds **2** and **3a–b** are phosphono analogs of the platelet-activating factor **1**. They are prepared from the glycerol derivative **4** or the epoxide **9**. Compounds **2** and **3a–b** show neither agonistic nor antagonistic activity relative to **1**.

2-O-Acetyl-1-O-hexadecyl(octadecyl)-sn-3-glycerolphosphorylcholin (Platelet-Activating Factor) (**1**) besitzt eine breite pharmakologische Wirkung. Es aggregiert die Thrombozyten und führt zu einer Ausschüttung des Inhalts ihrer Granula¹⁾. **1** ist auch ein Lipidmediator bei entzündlichen Prozessen, indem es z. B. eine chemotaktische Wirkung auf Humanleukozyten ausübt²⁾. Darüber hinaus senkt **1** nach oraler oder parenteraler Applikation akut und langanhaltend den Blutdruck^{3,4)}. Dieser Befund läßt den Einsatz von Phospholipiden in der Hochdrucktherapie interessant erscheinen.

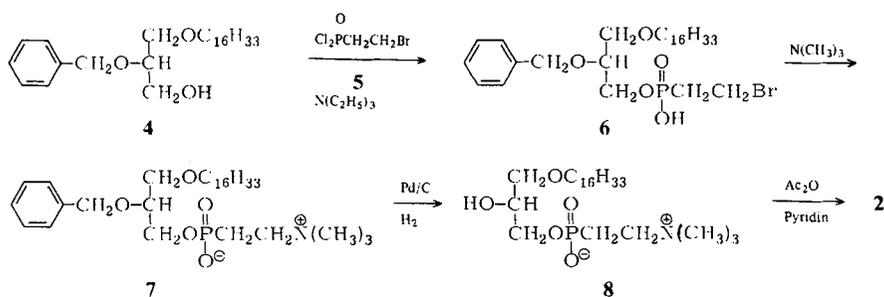
Das vielseitige Wirkprofil des Platelet-Activating Factors (**1**) veranlaßte uns zur Synthese der Phosphonoanaloge **2** und **3a–b**, die sich von **1** durch formale Eliminierung jeweils eines der dem Phosphor benachbarten Sauerstoffatome ableiten. Das Ziel war die Auffindung einer Substanz mit einer agonistischen (Senkung des Blutdrucks) oder antagonistischen Wirkung (Hemmung der Aggregation der Thrombozyten bzw. von entzündlichen Prozessen).



Phosphonolipide kommen in der Natur vor⁵. Die Synthese dieser Substanzklasse stand jedoch lange im Schatten der Phospholipide. Beschrieben wurden Phosphonolipide mit einem Cholinrest, die zwei Acyl-⁶⁻⁷ bzw. zwei Ethergruppen⁸ enthalten. Phosphonolipide, die sich von Alkylether-acylphosphatiden ableiten, sind bislang wenig bearbeitet⁹.

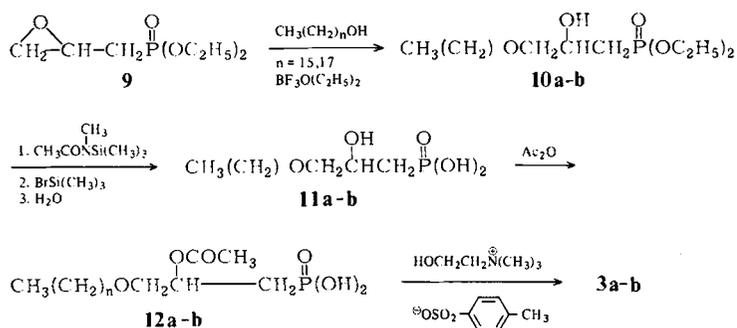
Zur Darstellung von **2** und **3a-b** bedienen wir uns des Instrumentariums der klassischen Lipidchemie. Da sich racem. **1** in seinen biologischen Eigenschaften wenig vom optisch aktiven Platelet-Activating Factor (**1**) unterscheidet¹⁰⁻¹¹, wurde auf eine stereospezifische Synthese verzichtet.

Wir wählten für die Herstellung von **2**¹² den von *Westphal*¹³ beschriebenen Benzylalkylether **4** als Ausgangsprodukt. Mit Bromethanphosphonsäurechlorid¹⁴ (**5**) reagiert **4** zu dem Phosphonsäurehalbester **6**, der mit Trimethylamin das innere Salz **7** bildet. Durch Hydrogenolyse der Benzylgruppe von **7** wird **8** erhalten, das mit Acetanhydrid in Pyridin das Phosphonolipid **2** bildet.



Für die Synthese von **3a-b** ist das Epoxid **9** ein geeignetes Ausgangsprodukt, da es mit Alkoholen regioselektiv unter saurer Katalyse die sekundären Alkohole¹⁴ liefert. So lagern sich Hexadecanol oder Octadecanol an **9** unter Bildung der Ether **10a-b** an. Zur Verseifung der Phosphonester **10a-b** bedienen wir uns nach vorheriger Silylierung der Hydroxygruppe mit *N*-Methyl-*N*-trimethylsilylacetamid der Methode von *McKenna*¹⁵. Mit Trimethylbromsilan wurden danach die Phosphonester **10a-b** in die Bistrimethylsilylester umgeestert. Diese hydrolysieren mit Wasser sehr leicht zu den Phosphonsäuren **11a-b**. **11a-b** wurden mit Acetanhydrid zu **12a-b** acyliert und anschließend mit Cholinlosylat⁸ (**13**) in Gegenwart von Trichloracetonitril in die Phosphonolipide **3a-b** überführt.

Die pharmakologische Prüfung von **2** und **3a-b** zeigte, daß die Phosphatteilstruktur essentiell für das Wirkprofil des Platelet-Activating Factors (**1**) ist. Die Phosphonolipide **2** und **3a-b** sind weder agonistisch (Senkung des Blutdrucks) noch antagonistisch (Inhibierung der Aggregation der Thrombozyten bzw. Hemmung von entzündlichen Prozessen) wirksam.



3.	10-12	a	b
n	15	17	^a

Wir danken Herrn Dr. W.-D. Busse, Herrn Dr. A. Knorr, Herrn Dr. M. Mardin und Herrn Dr. F. Seuter für die pharmakologische Prüfung, Herrn Dr. H. Niedrig für die Aufnahme von ¹H-NMR-Spektren und Herrn Dr. G. Rauleder für die Bereitstellung des Epoxids **9**.

Experimenteller Teil

Schmp.: nicht corr.; – *IR-Spektren*: Perkin-Elmer-Spektrophotometer 157 und 521; *¹H-NMR-Spektren*: (60 MHz; TMS inn. Stand.) WP 60 Fa. Bruker; *¹³C-NMR-Spektren*: (90, 52 MHz; TMS inn. Stand.) WH-360 Fa. Bruker. *DC*: Kieselgelplatten 60F₂₅₄ (Fa. Merck). *SC*: Kieselgel (0,063–0,2 mm; Fa. Merck) *DC* und *SC*: jeweils mit dem gleichen Laufmittel.

2-O-Benzyl-1-O-hexadecylglyceryl-3-(2-bromomethyl-phosphonat) (**6**)

Zu einer Lösung von 40,0 g (99 mmol) **4** und 88,0 g (0,39 mol) **5** in 11 Ethylacetat werden 44,0 g (0,44 mol) Triethylamin in 100 ml Ethylacetat innerhalb 1 h bei 10° zugetropft. Nach 20 stdg. Rühren bei 20° versetzt man mit 48 ml Wasser, rührt weitere 4 h und trennt den Niederschlag ab. Das i. Vak. eingedampfte Filtrat wird in 1 l Methylenechlorid/200 ml Methanol aufgenommen, je 2mal mit 400 ml 1-N-HCl und gesättigter Na₂CO₃-Lösung gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Man dampft i. Vak. ein und beginnt die SC an 1,2 kg SiO₂ mit Methylenechlorid/Methanol (9:1). **6** erhält man mit Methylenechlorid/Methanol (3:1). (RF = 0,46), Ausb.: 42,0 g (74 % d. Th.) – ¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 70,826 (C-1)^{a)}, 78,053 (C-2), 64, 598 (C-3)^{a)}, 31,982 (C-4) (J_{C-P} = 138,0 Hz), 26,932 (C-5)^{a)}. – C₂₈H₅₀BrO₅P (577,6) Ber. C 58,2 H 8,73 Br 13,8 P 5,4 Gef. C 58,0 H 8,49 Br 13,5 P 5,6.

2-O-Benzyl-1-O-hexadecylglyceryl-3-(2-trimethylammonioethyl-phosphonat) (**7**)

15,8 g (27,4 mmol) **6** werden in 1 l Methanol und 500 ml Methylenechlorid gelöst, mit 100 ml Trimethylamin versetzt und zum Sieden erhitzt. Im Abstand von 3 h gibt man viermal je 60 ml Trimethylamin zu. Nach 20 h dampft man ein, löst den Rückstand in 400 ml Methanol/400 ml Methylenechlorid, versetzt mit 4,9 g (29,2 mmol) Ag₂CO₃ und rührt 4 h bei 20°. Nach Abtrennung des Niederschlags engt man ein und chromatographiert den Rückstand mit Methylenechlorid/Methanol

a) verbreitertes Signal

(3:1) an 1 kg SiO₂. Man gewinnt 3,0 g **6** zurück. Mit Methylenechlorid/Methanol/Wasser (15:25:10) eluiert man 7,8 g (67 % d. Th.) **7**, Schmp. 211–214°. – ¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 71,698 (C-1), 79,377 (C-2) (J_{C-C-O-P} = 7,3 Hz), 65, 352 (C-3) (J_{C-O-P} = 4,4 Hz), 22,763 (C-4) (J_{C-P} = 129,3 Hz), 64,702 (C-5), 53,148 (C-6). – C₃₁H₅₈NO₅P (555,8) Ber. 67,0 H 10,52 N 2,5 P 5,6 Gef. C 67,4 H 10,50 N 2,6 P 5,7.

1-O-Hexadecyl-glycerol-3-(2-trimethylammonioethyl-phosphonat) (8)

15,2 g (27,4 mmol) **7** werden unter Zugabe von 15 g Pd/C (5 %) in 300 ml Ethylacetat bei Normaldruck und Raumtemp. hydriert. Nach Abtrennung des Katalysators wird i. Vak. eingeengt. Der kristalline Rückstand wird mit 15 ml Aceton digeriert. Ausb. 11,1 g (87 % d. Th.), Schmp. 221–223°. – ¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 70,305 (C-1), 72,423 (C-2), 66,838 (C-3), 22,115 (C-4) (J_{C-P} = 132,9 Hz), 63,501 (C-5), 53,503 (C-6). – C₂₄H₅₂NO₅P (465,7) Ber. C 61,9 H 11,26 N 3,0 O 17,2 P 6,7 Gef. C 62,3 H 11,00 N 2,8 O 17,1 P 6,5.

2-O-Acetyl-1-O-hexadecylglycerol-3-(2-trimethylammonioethyl-phosphonat) (2)

12,2 g (26,2 mmol) **8** erwärmt man in 180 ml Essigsäureanhydrid unter Zugabe von 2 ml Pyridin 12 h auf 60°. Man dampft i. Vak. ein und chromatographiert den Rückstand an 1 kg SiO₂ mit Methylenechlorid/Methanol/Wasser (65:35:4). Ausb. 3,5 g (28 % d. Th.). RF = 0,11. – ¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 69,791 (C-1), 73,177 (C-2), 63,549 (C-3), 22,316 (C-4) (J_{C-P} = 129,3 Hz), 63,549 (C-5), 53,503 (C-6), 172,717 (C=OCH₃). – IR (KBr): 1720 (CH₃CO₂-), 1230, 1045 cm⁻¹. C₂₆H₅₄NO₆P (507,7) Ber. C 61,5 H 10,72 N 2,8 O 18,9 P 6,1 Gef. C 61,7 H 10,51 N 2,8 O 18,5 P 5,8.

O-Diethyl-(3-hexadecyloxy-2-hydroxy-propyl-1-phosphonat) (10a)

206,0 g (0,85 mol) Hexadecanol und 80,0 g (0,41 mol) **9** werden in 105 ml Toluol mit 2,1 ml Bortrifluorid-Diethylether-Komplex versetzt und 1 h auf 50° erwärmt. Nach Zugabe von 11 Diethylether wird 3 mal mit 100 ml Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Der nach dem Einengen bis 120° bei 0,05 mbar verbleibende Rückstand (261,8 g) wird am Dünnschichtverdampfer bei 0,07 mbar und bei einer Manteltemp. von 165° mit einer Tropfgeschwindigkeit von 1 ml/min 2 mal von Hexadecanol (95,0 g) befreit. Als Rückstand verbleiben 162,6 g. Ausb. 90 % d. Th. **10a** kann als Rohprodukt weiter umgesetzt werden. Reines **10a** erhält man durch SC an SiO₂ mit Methylenechlorid/Ethanol (24:1). RF = 0,24. – ¹³C-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 65,689 (C-1), 74,455 (C-2), 30,360 (C-3) (J_{C-P} = 140,4 Hz). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 4,12 (dq; J = 7/7 Hz, 4 H (CH₂CH₂O)₂P, 0,87 (s; CH₃). – C₂₃H₄₉O₅P (436,6) Ber. C 63,3 H 11,31 O 18,3 P 7,1 Gef. C 63,0 H 11,31 O 18,2 P 7,1.

O-Diethyl-(3-octadecyloxy-2-hydroxypropyl-1-phosphonat) (10b)

Synthese analog **10a**. Ausb. 74 % d. Th. SC an SiO₂ mit Methylenechlorid/Ethanol (24:1). RF = 0,24. – C₂₅H₅₃O₅P (464,7) Ber. C 64,6 H 11,50 O 17,2 P 6,7 Gef. C 64,8 H 11,19 O 17,7 P 6,7.

3-Hexadecyloxy-2-hydroxy-propyl-1-phosphonsäure (11a)

Zu 109,2 g (0,25 mol) **10a** in 450 ml absol. Acetonitril tropft man bei 45° 60,0 g (0,41 mol) N-Methyl-N-trimethylsilylacetamid, gelöst in 125 ml absol. Acetonitril. Man erwärmt 45 min. auf 50°. Bei 15 bis 20° werden 95,0 g (0,62 mol) Trimethylsilylbromid in 50 ml absol. Acetonitril zugetropft. Nach 2 h bei 45 bis 50° wird mit 100 ml Wasser versetzt, 1 h bei 40° gerührt und bei 0° abgesaugt; 96,0 g. Umkristallisation aus Diethylether und darauf aus Aceton. Ausb. 58,0 g (61 % d. Th.). Schmp. 61–63°. – C₁₉H₄₁O₅P (380,5) Ber. C 61,0 H 10,86 O 21,0 P 8,1 Gef. C 60,2 H 11,10 O 20,8 P 8,1.

3-Octadecyloxy-2-hydroxy-propyl-1-phosphonsäure (11b)

11b wird entsprechend **11a** dargestellt. Ausb. 63 % d. Th. Schmp. 63–64°. – $C_{21}H_{45}O_3P$ (408,6) Ber. C 61,7 H 11,10 O 19,6 P 7,6 Gef. C 60,2 H 11,12 O 19,8 P 7,6.

2-Acetoxy-3-hexadecyloxy-propyl-1-phosphonsäure (12a)

55,0 g (0,145 mol) **11a** erhitzt man in 285 ml Essigsäureanhydrid 1 h auf 100°. Man dampft i. Vak. ein und versetzt den Rückstand mit 590 ml Acetonitril und 20 ml Wasser. Nach 1 stdg. Rühren bei 50° wird erneut i. Vak. eingedampft und aus 100 ml Aceton umkristallisiert. Ausb. 28,1 g (46 % d. Th.). Schmp. 49°. – ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 68,019 (C-1), 73,810 (C-2), 28,294 (C-3) ($J_{C,P}$ = 140,0 Hz). – 1H -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 2,07 (s; CH_3CO), 0,87 (s; CH_3). – $C_{21}H_{43}O_6P$ (422,5) Ber. C 59,7 H 10,26 O 22,8 P 7,3 Gef.: C 59,3 H 10,13 O 23,0 P 7,6.

2-Acetoxy-3-octadecyloxy-propyl-1-phosphonsäure (12b)

12b erhält man wie bei **12a** beschrieben. Ausb. 77 % d. Th., Schmp. 57°. – $C_{23}H_{47}O_6P$ (450,6) Ber. C 61,3 H 10,51 O 21,3 P 6,9 Gef. C 61,1 H 10,29 O 20,8 P 7,4.

2-Acetoxy-3-hexadecyloxy-propyl-1-phosphonyl-cholin (3a)

Eine Mischung aus 16,9 g (40 mmol) **12a**, 80,0 g (290 mmol) Cholinotrylat, 8 ml Trichloracetonitril und 30 ml Pyridin wird 48 h auf 50° erwärmt, dann i. Vak. auf 200 ml eingeeengt und mit 1,5 l Acetonitril versetzt. Der Niederschlag wird in 1 l THF/Wasser (7:3) gelöst und über 200 ml Amberlite MB-3[®] filtriert. Man wäscht mit 300 ml obigen Gemisches nach, dampft i. Vak. ein und kristallisiert den Rückstand aus Methylenchlorid/Aceton (2:1) um. Ausb. 3,8 g (19 % d. Th.), Schmp. 210° (Zers.).-IR (Film): 3450, 1735, 1470, 1245, 1054 cm^{-1} . – $C_{26}H_{54}NO_6P$ (507,7) Ber. C 61,5 H 10,72 N 2,8 P 6,1 Gef. C 60,9 H 10,54 N 2,8 P 6,1.

2-Acetoxy-3-octadecyloxy-propyl-1-phosphonyl-cholin (3b)

3b erhält man analog **3a**. Ausb. 23 % d. Th., Schmp. 190° (Zers.). – IR (Film): 3450, 1735, 1470, 1238, 1055 cm^{-1} . – ^{13}C -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 68^{a)} (C-1), 75, 510 (C-2), 28, 751 (C-3) ($J_{C,P}$ = 145,0 Hz), 58,3 (CH_2N^{\oplus}), 54,2 ($N(CH_3)_3$). – $C_{28}H_{58}NO_6P$ (535,8) Ber. C 62,8 H 10,91 N 2,6 P 5,8 Gef. C 62,1 H 10,87 N 2,2 P 6,1.

Literatur

- 1 N. J. Cusack, Nature (London) 285, 193 (1980).
- 2 E. J. Goetzl, C. K. Derian, A. I. Tauber und F. H. Valone, Biochem. Biophys. Res. Commun. 94, 881 (1980).
- 3 R. L. Prewitt, B. E. Leach, L. W. Byers, B. Brooks, W. E. M. Lands und E. E. Muirhead, Hypertension 1, 299 (1979).
- 4 M. L. Blank, F. Snyder, L. W. Byers, B. Brooks und E. E. Muirhead, Biochem. Biophys. Res. Commun. 90, 1194 (1979).
- 5 C. R. Liang und H. Rosenberg, Biochim. Biophys. Acta 125, 548 (1966).
- 6 E. Baer und N. C. Stanacev, J. Biol. Chem. 240, 3754 (1965).

a) Signal verbreitert

- 7 P. W. Deroo, A. F. Rosenthal, Y. A. Isaacson, L. A. Vargas, R. Bittman, *Chem. Phys. Lipids* **16**, 60 (1976).
- 8 A. Rosenthal, *J. Lipid. Res.* **7**, 779 (1966).
- 9 E. Baer und H. Basu, *Can. J. Biochem.* **50**, 988 (1972).
- 10 F. Heymans, E. Michel, M.-C. Borrel, B. Wichrowski, J.-J. Godfroid, O. Convert, E. Coeffier, M. Tence und J. Benveniste, *Biochim. Biophys. Acta* **666**, 230 (1981).
- 11 M. Tence, E. Coeffier, F. Heymans, J. Polonsky, J.-J. Godfroid und J. Benveniste, *Biochimie* **63**, 723 (1981).
- 12 Nach Abschluß dieser Arbeit wurde eine andere Synthese von **2** veröffentlicht: M. C. Moschidis, C. A. Demopoulos und L. G. Kritikou, *Chem. Phys. Lipids* **33**, 87 (1983).
- 13 D. Arnold, H. U. Weltzien und O. Westphal, *Liebigs Ann. Chem.* **709**, 234 (1967).
- 14 V. M. Kapoulas und M. C. Moschidis, *Chem. Phys. Lipids* **28**, 357 (1981).
- 15 C. E. Griffin und S. K. Kundu, *J. Org. Chem.* **34**, 1532 (1969).
- 16 C. E. Mc Kenna, M. T. Higa, N. H. Cheung und M. C. Mc Kenna, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 155.

[Ph 947]

Arch. Pharm. (Weinheim) **318**, 700-707 (1985)

Konformere 3-Oxa-7-azabicyclo[3.3.1]nonanone und ihre Reduktionsprodukte

Rolf Haller* und Ulrike Ashauer

Pharmazeutisches Institut der Universität Kiel, Gutenbergstr. 76-78, D-2300 Kiel 1
Eingegangen am 30. April 1984

Die Konformation substituierter, isomerer 3-Oxa-7-azabicyclo[3.3.1]nonanone- (9) wird anhand von ¹³C-NMR-Spektren diskutiert. Die Reaktion mit Natriumborhydrid ergibt je nach Konformation des Ketons und Polarität der Reaktionslösung einen bzw. zwei epimere Alkohole. Die Konfiguration der Alkohole wird durch ¹³C-NMR- und Massenspektren bestimmt.

Conformeric Isomers of 3-Oxa-7-azabicyclo[3.3.1]nonanones and Their Reduction Products

The conformations of substituted isomeric 3-oxa-7-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-ones are discussed on the basis of ¹³C-NMR spectra. The reaction with sodium borohydride yields one or two epimeric alcohols depending on the conformation of the ketons and the polarity of the solvent. The configurations of these alcohols were determined by ¹³C-NMR and mass spectra.

2,6-Diphenyl-1-oxacyclohexanon-(4)-dicarbonsäureester **1** bzw. **2**, die als CH-acide Komponenten eingesetzt werden, kondensieren mit Formaldehyd und primären Aminen im Sinne einer Piperidonringschlußreaktion^{1,2)} zu 3-Oxa-7-azabicyclo[3.3.1]nonanon **3-8**.