

in gereinigtem Zustande freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Die restlichen Benzol-sulfonanilide wurden uns freundlicherweise von der wissenschaftlichen Abteilung der *Cilag AG.*, Schaffhausen, ebenfalls in gereinigtem Zustand (vgl. *A. V. Willi*<sup>27)</sup>) überlassen.

Alle übrigen Verbindungen sind Handelsprodukte, die nach den üblichen Methoden gereinigt wurden. Die Mikroanalysen ergaben Werte für den Kohlenstoff- und den Wasserstoffgehalt, die weniger als  $\pm 0,3\%$  vom Sollwert abwichen.

Herrn Dr. *A. V. Willi*, der *Cilag AG.*, Schaffhausen, sowie der *Dr. A. Wander AG.*, Bern, danken wir für die freundliche Überlassung von Substanzen, Herrn *E. Merk* für die Ausführung verschiedener Messungen im Rahmen einer Diplomarbeit.

#### SUMMARY.

Apparent pK-values have been determined for 56 aromatic acids in the solvent system methylcellosolve (80 wt.-%)/water (20 wt.-%) with a previously described fully automatic titration apparatus. The validity of the *Hammett* equation was tested and found to express the experimental data with a deviation comparable with data for aqueous systems. Reaction constants  $\rho$  are given for the apparent pK-values of phenols, benzoic acids, salicylic acids and benzenesulfonanilides in the solvent system mentioned. The additivity of the effects of aromatic substituents on the apparent pK-values was tested and found to be comparable with the data for pK-values measured in aqueous media.

Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 202. Zur Synthese der Phosphatide. Eine neue Synthese der Kephaline<sup>1)</sup>

von **R. Hirt** und **R. Berchtold**.

(31. VII. 1957.)

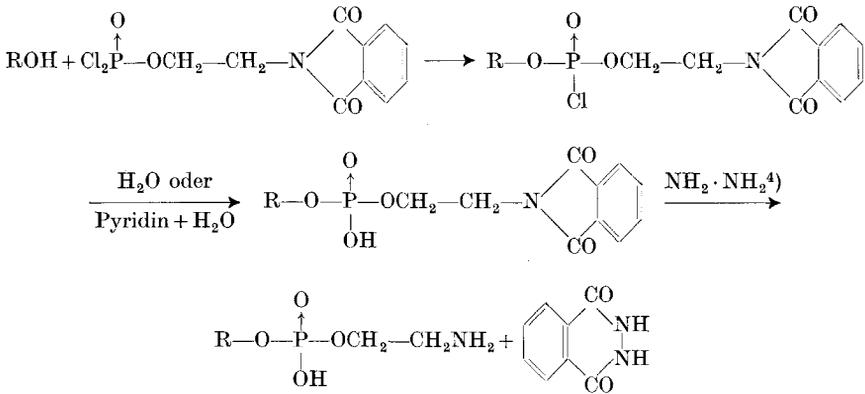
Für biophysikalische und biologische Untersuchungen benötigten wir völlig reine Phosphatide. Da diese aus natürlichen Quellen bisher noch nie ganz rein isoliert wurden, erschien nur die Synthese zu deren Beschaffung gangbar. Eine Nacharbeitung der beschriebenen Synthesen<sup>2)3)</sup> hat uns jedoch gezeigt, dass diese unsicher sind und nur mit relativ schlechten Ausbeuten verwirklicht werden können. Diese Synthesen gehen aus von Glycerin-Fettsäurediestern, welche mit Phos-

<sup>1)</sup> Schweiz. Patentanmeldung vom 11. Juli 1957.

<sup>2)</sup> *A. Grün & R. Limpächer*, Ber. deutsch. chem. Ges. **60**, 151 (1927); *G. Rose*, J. Amer. chem. Soc. **69**, 1384 (1947) u. Zit.; *E. Baer*, J. Amer. chem. Soc. **74**, 152 (1952). Siehe auch Chemistry of Phosphatides in *Physiol. Reviews* **32**, 167 (1952).

phoroxchlorid nach *Hunter*<sup>3)</sup> oder Phenylphosphorsäureesterchlorid nach *Baer*<sup>2)</sup> umgesetzt werden. Ohne Isolierung wird nun das primäre bzw. sekundäre Esterchlorid mit Aminoäthanol mit geschützter Aminogruppe weiter umgesetzt. *Hunter* führt die Aminogruppe als substituiertes Phtalimid ein, *Baer* als Carbobenzoxyamid. Durch Verseifung der Säurechloridgruppe bzw. Weghydrierung des Phenols und nachfolgende Freisetzung der Aminogruppe werden dann die Kephale erhalten. Da höher molekulare Phosphatide bei geringstem Gehalt von Verunreinigungen sehr schlecht oder überhaupt nicht kristallisieren oder in unfiltrierbarer Form ausfallen, ist die Reinheit der Ausgangsmaterialien und der Zwischenprodukte von wesentlicher Bedeutung. Die Möglichkeit, dass bei der Synthese Aminoalkohol-salze als Verunreinigung erhalten werden, ist bei den bisherigen Methoden nicht ausgeschlossen, Diese Aminoäthanol-salze lassen sich von den Kephalininen mit ihrer esterartigen Verknüpfung des Aminoalkohols mit der Phosphorsäure nicht unterscheiden, ihre Schmelzpunkte und Löslichkeiten sind gleich (*Baer*<sup>2)</sup>).

Durch Einführung der vorgebildeten Phosphorsäure-aminoäthano-lester-Gruppe mit Hilfe des im folgenden beschriebenen Phtaliminoäthyl-phosphorsäuredichlorids in die Glycerindiester (ROH), entsprechend nachstehendem Schema, wird die Bildung dieser Salze vermieden.



Diese Synthese hat als neues Element die Verwendung des Phtaliminoäthyl-phosphorsäuredichlorids, das leicht in reiner Form aus Hydroxyäthyl-phtalimid und Phosphoroxchlorid erhalten werden kann.

Wir beschreiben im folgenden die Herstellung der  $\beta$ -Aminoäthyl-phosphorsäureester des Cetylalkohols, des Cholesterins, sowie der  $\alpha, \beta$ - und  $\alpha, \gamma$ -Glycerin-dipalmitinsäureester.

<sup>3)</sup> I. R. Hunter, R. L. Roberts & E. B. Kester, J. Amer. chem. Soc. **70**, 3244 (1948).

### Experimenteller Teil.

$\beta$ -Phtalimidoäthyl-phosphorsäuredichlorid: 60 g  $\beta$ -Hydroxyäthyl-phtalimid werden mit 250 cm<sup>3</sup> abs. Benzol und 132 g Phosphoroxychlorid unter Feuchtigkeitsschluss 4 Std. unter Rückfluss gekocht. Darauf werden im Vakuum auf dem Wasserbad bei 60° Benzol und überschüssiges Phosphoroxychlorid abdestilliert. Die verbleibende rötliche, honigartige Masse löst man in 500 cm<sup>3</sup> abs. Äther und lässt unter Eiskühlung stehen; nach 2—3 Std. ist das Chlorid als weisses Pulver auskristallisiert. Es wird rasch abgesaugt und mit abs. Äther gewaschen. Man erhält 72 g weisses Pulver vom Smp. 72—73°, das sich an feuchter Luft unter Entwicklung von Salzsäure rasch zersetzt.

C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>NCl<sub>2</sub>P (308) Ber. Cl 23,02 N 4,55% Gef. Cl 21,38 N 4,35%

Cetyl-phtalimidoäthyl-phosphorsäure: 40 g Phtalimidoäthyl-phosphorsäuredichlorid werden bei 40° in 200 cm<sup>3</sup> abs. Benzol gelöst und mit 24 g kristallisiertem Cetylalkohol versetzt. Man rührt 1 Std. bei 40°, wobei eine homogene Lösung entsteht. Innert 2 Std. wird die Lösung auf Siedetemperatur erwärmt und dann noch 1 Std. im Sieden gehalten, bis kein Salzsäure-Gas mehr entweicht. Das Benzol wird darauf im Vakuum abgesaugt und der Rückstand zur Verseifung des Chlorids mit einem Gemisch von 30 cm<sup>3</sup> Wasser und 70 cm<sup>3</sup> Pyridin versetzt und auf dem Dampfbad erwärmt (wobei die anfangs trübe Mischung in eine homogene Lösung übergeht), bis eine Probe beim Verdünnen mit Wasser klar bleibt. Nun wird in 500 cm<sup>3</sup> 10-proz. Salzsäure eingerührt, wobei sich eine weisse, halb feste Masse abscheidet. Diese wird abgetrennt und in Äther aufgenommen; die ätherische Lösung wird mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das nach dem Abdestillieren des Äthers zurückbleibende viskose Öl löst man in 700 cm<sup>3</sup> Petroläther und lässt bei 0° kristallisieren. Nach dem Abnutschen und Waschen mit Petroläther erhält man 36 g Kristalle vom Smp. 64—65°.

C<sub>26</sub>H<sub>42</sub>O<sub>6</sub>NP (495,58) Ber. N 2,83% Gef. N 2,78%

Cetyl-aminoäthyl-phosphorsäure: 10 g der vorstehenden Phtalyl-Verbindung (0,02 Mol) werden zur Abspaltung der Phtalsäure mit einer Lösung von 3 g Hydrazinhydrat<sup>1)</sup> (0,06 Mol) in 50 cm<sup>3</sup> Methanol zum Sieden erwärmt. Die Lösung erstarrt nach ca. 15 Min. Sieden zu einem dicken Brei, den man in 500 cm<sup>3</sup> siedendem Methanol löst. Die heiss filtrierte Lösung wird mit 3 cm<sup>3</sup> Piperidin versetzt und erkalten gelassen. Der Zusatz des Piperidins verhindert das Auskristallisieren des Phtalhydrazid, während das Cetylphosphorsäure-Derivat als feines, weisses Pulver ausfällt. Die Kristalle nutsch man ab und wäscht mehrmals mit Methanol; bei 225° werden sie glasig durchscheinend und zerfliessen bei 230° unter Braunfärbung; sie sind unlöslich in Wasser, verd. Soda-lösung und Salzsäure, jedoch leicht löslich in verd. Natronlauge. An sich schwer löslich in Chloroform, gehen sie jedoch auf Zusatz einiger Tropfen ätherischer Salzsäure sofort klar in Lösung.

C<sub>18</sub>H<sub>40</sub>O<sub>4</sub>NP (364,5) Ber. N 3,83 P 8,48% Gef. N 3,71 P 8,41%

Cholesteryl-phtalimidoäthyl-phosphorsäure: In einem Kolben mit Rührer werden 12 g Phtalimidoäthyl-phosphorsäuredichlorid in 40 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin gelöst und auf 5° abgekühlt. Bei 5—8° wird nun eine Lösung von 12 g reinem, trockenem Cholesterin in 40 cm<sup>3</sup> Pyridin innert ½ Std. zugegossen. (Zum Trocknen des Cholesterins wurde seine Lösung in Toluol im Vakuum eingedampft.) Nach einiger Zeit scheidet sich Pyridinhydrochlorid ab. Nach dem Zutropfen wird ohne Kühlung 3 Std. weitergerührt, darauf ½ Std. auf 70° erwärmt und zur Verseifung des Chlorids bei dieser Temperatur mit 20 cm<sup>3</sup> Wasser versetzt und ½ Std. bei 70° gerührt. Die klare Lösung der Säure wird in kalte, verdünnte Salzsäure eingerührt, wobei sich eine teigige, weisse Masse abscheidet. Diese wird von der wässrigen Schicht abgetrennt und in Äther-Isopropanol (5:1) aufgenommen. Die Lösung wird mit Wasser gewaschen, getrocknet, filtriert und eingedampft. Zur völligen

<sup>1)</sup> Allgemeines zur Spaltung von Phtalimiden mit Hydrazin, siehe *H. J. Barber & W. R. Wragg*, *J. chem. Soc.* **1947**, 1331.

Trocknung des Rückstandes wird seine Lösung in Toluol im Vakuum eingedampft. Aus Hexan erhält man dann 10 g Cholesteryl- $\beta$ -phtalimidoäthyl-phosphorsäure als glasige Masse vom Smp. 160—162°, leicht löslich in Benzol, Chloroform, schwer löslich in Äther.

$C_{37}H_{54}O_6NP$  (639,8) Ber. N 2,19 Gef. N 2,16; 2,10%

Cholesteryl-aminoäthyl-phosphorsäure: 3,9 g der vorstehenden Phtalimido-Verbindung (0,006 Mol) werden mit 70 cm<sup>3</sup> Isopropanol und 0,9 g Hydrazinhydrat (0,018 Mol) unter Rückfluss gekocht. Nach kurzer Zeit scheidet sich eine feine Fällung von Phtalhydrazid ab, und nach 1½ Std. ist das Gemisch zu einem dicken Brei erstarrt. Nun wird erkalten gelassen und abgesaugt, mit Isopropanol gewaschen und im Vakuum bei 80° getrocknet. Zur Abtrennung von Phtalhydrazid wird in einem Gemisch von Chloroform und einigen Tropfen trockener ätherischer Salzsäure aufgenommen, vom ungelösten Hydrazid abgesaugt und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Nun wird wieder in Chloroform aufgenommen und die Cholesteryl-aminoäthyl-phosphorsäure durch langsamen Zusatz von Methanol kristallin ausgefällt: 2,79 g weisses Pulver, das von 250° an bräunlich-glasig wird und bei 270—272° zu einer braunen Flüssigkeit zerfliesst; schwer löslich in Methanol, Chloroform, leicht löslich in Chloroform mit etwas Zusatz von absolut ätherischer Salzsäure, sowie in wässriger Natronlauge.

$C_{29}H_{52}O_4NP$  (509,69) Ber. N 2,75 P 6,08% Gef. N 2,64 P 6,21%

( $\alpha$ ,  $\gamma$ -Dipalmitoyl-glyceryl)-phtalimidoäthyl-phosphorsäure: 5 g reines, durch Abdestillieren einer Toluollösung im Vakuum völlig getrocknetes  $\alpha$ , $\gamma$ -Dipalmitin (hergestellt nach *Howe & Malkin*<sup>5</sup>) und 5 g Phtalimidoäthyl-phosphorsäuredichlorid werden in 100 cm<sup>3</sup> abs. Chloroform gelöst, unter Kühlung bei 5° mit 3 g wasserfreiem Triäthylamin vermischt und darauf 4 Tage bei Raumtemperatur stehengelassen. Nun wird im Vakuum bei 30° im Wasserbad eingedampft, der bräunliche, pastenartige Rückstand in Äther aufgenommen und diese Lösung mit verd. Salzsäure und darauf mit Wasser gewaschen. Zur Verseifung des Chlorids wird die feuchte ätherische Lösung 24 Std. stehengelassen, dann mit Wasser gewaschen und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird in 150 cm<sup>3</sup> warmem Methanol gelöst und auf 20° erkalten gelassen, wobei sich das unveränderte  $\alpha$ , $\gamma$ -Dipalmitin abscheidet. Aus dem Filtrat scheidet sich durch weiteres Abkühlen auf 5° die ( $\alpha$ , $\gamma$ -Dipalmitoylglyceryl)-phtalimidoäthyl-phosphorsäure als dicke, käsig-fällige ab. Diese wird abgesaugt, mit eiskaltem Methanol gewaschen und getrocknet: 6 g wachsartige Masse vom Smp. 45°.

$C_{45}H_{76}O_{10}NP$  (822,05) Ber. N 1,70 P 3,77% Gef. N 1,43 P 3,23%

( $\alpha$ ,  $\gamma$ -Dipalmitoylglyceryl)-aminoäthyl-phosphorsäure (Dipalmitoyl- $\beta$ -Kephalin): Das vorstehende Produkt wird in warmem absoluten Alkohol gelöst, durch Zugabe von Hydrazin in Alkohol neutralisiert und mit 3 Mol Hydrazinhydrat versetzt. Die Lösung wird 2 Std. unter Rückfluss gekocht und dann mit 85-proz. Ameisensäure angesäuert. Nach dem Erkalten wird die abgeschiedene Fällung abgesaugt, mit Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet. Zur Entfernung von beigemengtem Phtalhydrazid wird in Chloroform aufgenommen, vom Unlöslichen abfiltriert, im Vakuum abgedampft und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Dabei werden 3,4 g des  $\beta$ -Kephalins als weisses Pulver erhalten, das bei 130—135° glasig wird und bei 202° (nach *Bevan & Malkin*<sup>6</sup>) Smp. 206° zu einer gelblichen Flüssigkeit zerfliesst.

$C_{37}H_{74}O_8NP$  (692) Ber. N 2,02 P 4,48% Gef. N 1,91 P 4,50%

( $\alpha$ ,  $\gamma$ -Dipalmitoylglyceryl)-dinitrobenzoylaminoäthyl-phosphorsäure (N-2,4-Dinitrobenzoyl-Derivat des Dipalmitoyl- $\beta$ -Kephalins): 0,2 g  $\beta$ -Kephalin und 0,1 g 2,4-Dinitrobenzoylchlorid werden in einem Gemisch von 5 cm<sup>3</sup> abs. Chloroform und 1 cm<sup>3</sup> abs. Pyridin gelöst und über Nacht stehengelassen. Das Chloroform wird im Vakuum bei 20° abdestilliert, der Rückstand in Äther und verdünnter Salzsäure

<sup>5</sup>) *R. J. Howe & T. Malkin*, *J. chem. Soc.* **1951**, 2663.

<sup>6</sup>) *T. H. Bevan & T. Malkin*, *J. chem. Soc.* **1951**, 2667.

aufgenommen, die ätherische Lösung mit Wasser neutral gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Die abfiltrierte ätherische Lösung wird auf  $-25^{\circ}$  abgekühlt, das abgechiedene Produkt abgenutscht, mit wenig kaltem Äther gewaschen und aus Aceton umkristallisiert. Smp.  $62^{\circ}$ .

$C_{44}H_{76}O_{13}N_3P$  (886) Ber. N 4,74 P 3,50% Gef. N 4,75 P 3,42%

( $\beta, \gamma$ -Dipalmitoylglyceryl)-phthalimidoäthyl-phosphorsäure: In einem Rührkolben werden 114 g Phthalimidoäthyl-phosphorsäuredichlorid in  $200 \text{ cm}^3$  abs. Chloroform bei  $10^{\circ}$  gelöst, dann unter Rühren mit einer Lösung von 114 g  $\alpha, \beta$ -Dipalmitin<sup>5)</sup> und 60 g wasserfreiem Triäthylamin in  $500 \text{ cm}^3$  abs. Chloroform bei  $8-10^{\circ}$  innert  $\frac{1}{2}$  Std. tropfenweise versetzt und darauf 2 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Zur Verseifung des Chlorid wird langsam ein Gemisch von  $140 \text{ cm}^3$  Pyridin und  $70 \text{ cm}^3$  Wasser zugegeben. Dabei findet eine mässige Temperatursteigerung auf ca.  $35^{\circ}$  statt. Nach 2 Std. Stehen wird die Chloroformlösung abgetrennt, filtriert und vom Lösungsmittel im Vakuum bei  $50^{\circ}$  befreit. Der Rückstand wird in 1 l Äther aufgenommen. Die ätherische Lösung wird 2 Std. unter Rückfluss gekocht und darauf mit verd. Salzsäure und mit Wasser gewaschen. Das gesuchte Produkt scheidet sich aus der ätherischen Lösung in Kristallen ab. Es wird nach einigem Stehen bei  $10^{\circ}$  abgesaugt, mit Äther und Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet: 130 g Rohprodukt vom Smp.  $63-65^{\circ}$ ; nach Umkristallisieren aus Methanol unter Eiskühlung Smp.  $70-72^{\circ}$ . Ausbeute: 109 g (66%).

$C_{45}H_{76}O_{10}NP$  (822) Ber. P 3,77 N 1,70% Gef. P 3,71 N 1,64%

( $\beta, \gamma$ -Dipalmitoylglyceryl)-aminoäthyl-phosphorsäure ( $\alpha$ -Kephalin): Die Lösung von 35 g der vorstehenden Phthalimidoverbindung in  $500 \text{ cm}^3$  abs. Alkohol wird mit Hydrazinhydrat auf pH 7 gebracht. Nach Zusatz von weiteren 7 g Hydrazinhydrat (pH ca. 8) wird 1 Std. unter Rückfluss gekocht. Alsdann wird heiss filtriert und das Filtrat mit 35-proz. Ameisensäure angesäuert. Beim Erkalten scheidet sich das gebildete Kephalin zusammen mit Phtalhydrazid aus. Das Gemisch wird abgesaugt, mit abs. Alkohol und darauf mit Äther gewaschen, im Vakuum getrocknet und in  $400 \text{ cm}^3$  abs. Chloroform aufgenommen. Die Lösung wird vom ungelösten Phtalhydrazid (Smp.  $340-345^{\circ}$ ) abfiltriert und im Vakuum eingedampft. Beim Umkristallisieren aus  $500 \text{ cm}^3$  Alkohol erhält man 22,2 g des  $\alpha$ -Kephalins als feines, weisses Pulver. Es wird bei  $130^{\circ}$  durchsichtig glasig und zerfliesst bei  $202^{\circ}$ .

$C_{37}H_{74}O_8NP$  (692) Ber. N 2,02 P 4,48% Gef. N 1,95 P 4,59%

### Zusammenfassung.

Es wird ein Verfahren zur Herstellung von Palmitoyl-Kephalinen und einiger Analogen beschrieben unter Verwendung des Phthalimidoäthyl-phosphorsäuredichlorids. Die Synthese ist allgemeiner Anwendung fähig und kann insbesondere auch zur Herstellung von Aminoäthyl-phosphorsäure-monoestern ungesättigter Alkohole angewendet werden.

Forschungsinstitut *Dr. A. Wander AG.*, Bern.