



12 PATENTSCHRIFT A5

615 191

21 Gesuchsnummer: 10283/75

73 Inhaber:  
Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der  
Wissenschaften e.V., Göttingen (DE)

22 Anmeldungsdatum: 06.08.1975

72 Erfinder:  
Dr. Hansjörg Eibl, Bovenden (DE)  
Walter Diembeck, Göttingen (DE)  
Stefan Kovatchev, Göttingen-Roringen (DE)

30 Priorität(en): 06.08.1974 DE 2437832

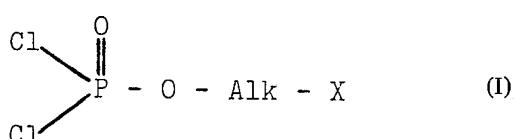
24 Patent erteilt: 15.01.1980

74 Vertreter:  
Brühwiler, Meier & Co., Zürich

54 Verfahren zur Herstellung von synthetischen Phospholipiden und deren Verwendung.

55 Synthetische Phospholipide werden hergestellt, indem man

A) eine Polyhydroxyverbindung, bei der eine Hydroxygruppe in freier Form vorliegt und die übrigen geschützt sind, mit einem  $\omega$ -Halogenalkylphosphorsäuredichlorid der Formel I



worin X Fluor, Chlor, Brom oder Jod und Alk einen Alkyl- oder Cycloalkylrest mit mindestens 3 Kohlenstoffatomen bedeuten, umsetzt; und

B) das erhaltene Reaktionsprodukt mit einem Amin der Formel II



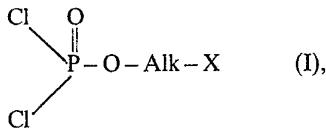
worin  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$  und  $\text{R}_3$  unabhängig voneinander Wasserstoff oder Methylgruppen bedeuten, reagieren lässt.

Die Verfahrensprodukte können anstelle natürlicher Phospholipide in deren gesamtem Anwendungsbereich eingesetzt werden. Bevorzugt werden sie als Stabilisatoren für Enzymzubereitungen, als Zusätze für Nahrungsmittel und Kosmetika, insbesondere zur Verbesserung der Resorption, sowie als Emulgatoren für Wasch- und Reinigungsmitteln verwendet.

## PATENTANSPRÜCHE

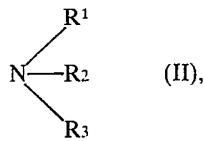
1. Verfahren zur Herstellung synthetischer Phospholipide, dadurch gekennzeichnet, dass man

A) eine Polyhydroxyverbindung, bei der eine Hydroxygruppe in freier Form vorliegt und die übrigen geschützt sind, mit einem  $\omega$ -Halogenalkylphosphorsäuredichlorid der Formel I



worin X Fluor, Chlor, Brom oder Jod und Alk einen Alkyl- oder Cycloalkylrest mit mindestens 3 Kohlenstoffatomen bedeuten, umsetzt; und

B) das erhaltene Reaktionsprodukt mit einem Amin der Formel II



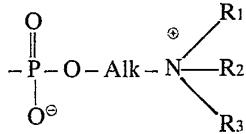
worin  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  und  $\text{R}^3$  unabhängig voneinander Wasserstoff oder Methylgruppen bedeuten, reagieren lässt.

2. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Verfahrensstufe A in Anwesenheit eines inerten Lösungsmittels durchführt.

3. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Verfahrensstufe A unter Feuchtigkeitsauschluss durchführt.

4. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Verfahrensstufe A in Gegenwart einer Base durchführt.

5. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man Phospholipide mit einer Phosphor-Stickstoff-Gruppierung der Formel



herstellt.

6. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man SN-1,2-Dipalmitoylglycerin-3-phosphorsäure-5-trimethylaminopentylester herstellt.

7. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man SN-1-Palmitoylglycerin-3-phosphorsäure-5-trimethylaminopentylester herstellt.

8. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1,2,3,4,5-Pentamyrystoyl-D-mannit-6-phosphorsäure-7-trimethylaminoheptylester herstellt.

9. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1-Palmitoyl-2-hexadecylätherglycerin-3-phosphorsäure-9-trimethylaminononylester herstellt.

10. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1,3-Dioctylätherglycerin-2-phosphorsäure-6-trimethylaminohexylester herstellt.

11. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1,2-Dipentadecylketonglycerin-3-phosphorsäure-6-trimethylaminohexylester herstellt.

12. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1-Myristoyl-propandiol-3-phosphorsäure-4-trimethylaminobutylester herstellt.

13. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1-Tetradecyläther-propandiol-3-phosphorsäure-4-trimethylaminobutylester herstellt.

14. Verwendung von nach dem Verfahren gemäss Patentanspruch 1 hergestellten synthetischen Phospholipiden als Emulgatoren anstelle natürlicher Phospholipide.

10

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung synthetischer Phospholipide, insbesondere solcher, die nicht in der Natur vorkommen und die sich durch einen variierten Phosphor-Stickstoff-Abstand auszeichnen sowie die Verwendung dieser Produkte.

Natürlich vorkommende Phospholipide sind fettähnliche Triglyceride, die zwei langkettige Fettsäuren und einen Phosphorsäurerest, an den noch eine Base gebunden ist, enthalten. Sie kommen in allen tierischen und pflanzlichen Zellen, vor allem im Gehirn, im Herzen, in der Leber, im Eiweiß sowie in der Sojabohne vor. Die wichtigsten natürlich vorkommenden Phospholipide sind die Kephaline und Lecithine, in denen als Base Colamin bzw. Cholin auftritt.

Lecithine und Kephaline finden vielfach Verwendung, da sie

25 kolloidale, oberflächenaktive, emulgierende, weichmachende, antioxidative, reinigende und physiologische Eigenschaften aufweisen. Als Naturprodukte sind sie ernährungsphysiologisch unbedenklich und damit vielen ähnlich wirkenden synthetischen Stoffen überlegen. Sie werden zur Margarine zuge-30 setzt, um eine bessere Wasserbindung zu erreichen, in Schokolade und Überzugsmassen bewirkt die Verwendung von Lecithin eine schnellere und bessere Benetzung der Mischungsbe-35 standteile, eine Verringerung der Viskosität und damit eine erhebliche Einsparung an teurer Kakaobutter. Gleichzeitig wird die Ranzidität und der «Fettreif» beim Lagern verhindert.

In Süßwaren verwendet man Lecithin zur Emulgierung von Sirup mit Fett. Es verhindert gleichzeitig das Ranzigwerden des Fets und die Kristallisation des Zuckers. Backwaren lassen sich durch die verbesserte Benetzung beim Mischen leichter verarbeiten. Man kann bis zu 20% des sonst benötigten Fets einsparen und die Ausbeute durch bessere Wasserbin-40 dung bis zu 2% erhöhen.

Große Mengen an Sojalecithin werden auch Futtermitteln zugesetzt, da dadurch die Resorption der Nahrungsmittel im 45 Darmkanal gefördert und zusammen mit Fisch und Fleischmehl der schädlichen Wirkung von Cholesterin entgegengewirkt wird.

In der Kosmetik und Seifenherstellung verbessern geringe Zusätze die Geschmeidigkeit und Resorption von Salben, 50 Cremes, Zahnpasta, Seifen usw.

In der Leder- und Textilindustrie benutzt man Lecithin-55 emulsionen wegen ihrer Antioxidanzwirkung als Hilfsmittel bei der Verarbeitung. In Anstrichmitteln verhindert das Lecithin das Absetzen der Pigmente und die Viskosität wird erniedrigt, wodurch sich eine bessere Verarbeitung ergibt. Es ist auch möglich, Druckfarben für Papier und Stoffe mit Lecithin zu verbessern. Bei Schädlingsbekämpfungen werden Lecithin-60 emulsionen eingesetzt, da diese eine gute Stabilität und Haftfestigkeit besitzen.

60 Besondere Bedeutung haben die Lecithine und Kephaline kürzlich erlangt, da festgestellt wurde, dass sie bei der Zelloxydation und anderen Zellvorgängen wichtige Funktionen ausüben. Die Funktion der Phospholipide im Zellstoffwechsel ist jedoch noch wenig aufgeklärt und deshalb besonders schwierig, da die isolierten Verbindungen nur in geringen Mengen erhalten werden und ihre Synthese mit grossen Schwierigkeiten verbunden ist. Die Synthese von Phospholipiden verläuft oft vielstufig und man erhält die gewünschten Produkte nur

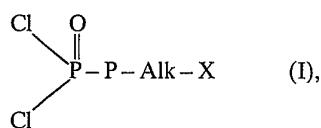
mit geringen Ausbeuten (vgl. A. J. Slotboom und P. P. M. Bonsen, *Chem. Phys. Liquids* (1970) S. 301).

Lecithin und Kephalin werden aus Naturprodukten, z. B. aus Eigelb, Hirnsubstanz, Rückenmark und Sojabohnen gewonnen. Die Handelsprodukte besitzen sehr unterschiedliche Eigenschaften und dadurch wird der Einsatz des Lecithins und Kephalins bei den verschiedenen Anwendungen oft durch den unterschiedlichen Gehalt an Phospholipiden schwierig.

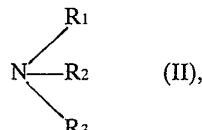
Der vorliegenden Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Syntheseverfahren für Phospholipide zu schaffen, das einfach und leicht durchzuführen ist, ohne dass teure Ausgangsmaterialien eingesetzt werden müssen und dabei neue Verbindungen zu erhalten, die ähnlich wie die natürlich vorkommenden Phospholipide gebaut sind und durch eine Kombination von lipophilen und hydrophilen sowie von sauren und basischen Gruppen im gleichen Molekül ähnliche oder bessere Eigenschaften als die natürlich vorkommenden Phospholipide besitzen.

Die Lösung dieser Aufgabe gelingt mit Hilfe des erfindungsgemäßen Verfahrens, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man

A) eine Polyhydroxyverbindung, bei der eine Hydroxygruppe in freier Form vorliegt und die übrigen geschützt sind, mit einem  $\omega$ -Halogenalkylphosphorsäuredichlorid der Formel I



worin X Fluor, Chlor, Brom oder Jod und Alk einen Alkyl- oder Cycloalkylrest mit mindestens 3 Kohlenstoffatomen bedeuten, umsetzt; und  
B) das erhaltene Reaktionsprodukt mit einem Amin der Formel II



worin R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> und R<sub>3</sub> unabhängig voneinander Wasserstoff oder Methylgruppen bedeuten, reagieren lässt.

Die erfindungsgemäss hergestellten synthetischen Phospholipide können überall dort eingesetzt werden, wo auch die natürlichen Phospholipide verwendet werden. Dabei ist ihre Verwendung als Emulgatoren hervorzuheben.

Die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen haben wertvolle pharmakologische Eigenschaften. Die lecithinanalogen Verbindungen besitzen als stark oberflächenaktive Stoffe einen grossen Einfluss auf natürliche Zellmembranen und auf die Permeabilitätsverhältnisse in Biomembranen. Durch eine gezielte Variation des Phosphat-Tetramethylammonium-Abstands der eingesetzten Fettsäure sowie der eingesetzten Base können die Eigenschaften der Zellmembranen gezielt geändert werden.

Beeinflusst man die Grenzflächenaktivität von Zellmembranen mit Hilfe der erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen, ändert sich die Wirksamkeit von Pharmaka, d. h. die Resorbierbarkeit und Verteilung im Organismus werden geändert.

Bedingt durch die ausgeprägte Grenzflächenaktivität verursachen die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen bei peroraler oder intraperitonealer Gabe an Warmblüter eine Änderung der Eigenschaften von Zellmembranen. Bei höheren Konzentrationen werden zytolytische Phänomene beobachtet. Bei sublytischen Dosen werden Änderungen von Zellmembranen hervorgerufen. Verbindungen mit gesättigten Fettsäureestern von 16 und mehr Kohlenstoffatomen, beispielsweise Palmitinsäure, sind immunologische Adjuvantien, während bei Kettenlängen von weniger als 14 Kohlenstoffatomen eine Hemmung (Imuno-Suppressant-Action) des Immunapparates beobachtet werden konnte. Diese Ergebnisse wurden mit Phosphorsäurecholinestern beobachtet. Die immunologische Adjuvanswirkung äussert sich in einer generellen Erhöhung des Antikörperspiegels.

Die umfassenden Strukturvarianten, die am Lysophospholipidmolekül vorgenommen wurden, führten zu wirksameren Adjuvantien.

15 Phospholipidabhängige Enzyme in Zellmembranen enthalten natürliche Phospholipidgemische mit einer grossen Anzahl ungesättigter Fettsäuren. Die Stabilisierung solcher Enzympräparationen ist wegen der Instabilität der ungesättigten Fettsäuren in Gegenwart von Sauerstoff schwierig.

20 Solche Enzympräparationen können jedoch delipidiert werden, wobei sie ihre enzymatische Aktivität verlieren. Die Reaktivierung der Enzyme kann mit den erfindungsgemäss erhältlichen Phospholipiden erreicht werden, die keine ungesättigten Fettsäurereste enthalten. Die Reaktivierung ist möglich, wenn das Enzym in einem geeigneten Verhältnis mit der erfindungsgemäss erhältlichen Verbindung vermischt wird. Es ist somit möglich, phospholipidabhängige Enzyme zu reaktivieren und zu stabilisieren.

Nach Auffassung verschiedener Autoren werden die 30 Hybridbildung und die Zellfusionen durch Lysolecithin induziert. So können ähnlich wie mit Sendai Virus Zellhybride erzeugt werden. Zum Nachteil ist dabei die grosse zytolytische Aktivität der bei diesen Untersuchungen verwendeten Lysolecithinen aus Eilecithin. Durch die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen mit fein abgestufter zytolytischer Aktivität können Zellfusionsexperimente optimiert werden, d. h. die Zytolyse kann vermieden werden.

Die erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen sind, wie oben bereits angegeben wurde, durch die Kombination von 40 lipophilen und hydrophilen sowie von sauren und basischen Gruppen im gleichen Molekül gute Emulgatoren und bilden stabile Emulsion zwischen pH 0 und 11. Sie können daher mit Vorteil in Waschmitteln verwendet werden. Sie besitzen zusätzlich den weiteren Vorteil, dass sie aufgrund ihrer engen 45 Verwandtschaft mit natürlichen Phosphatiden auf biologische Weise abgebaut werden können und dass so Umweltverschmutzungsprobleme vermieden werden. Erfindungsgemäss erhältliche Verbindungen mit mehr als 6 Kohlenstoffatomen zwischen P und N erwiesen sich zudem als von Phospholipase 50 C und D nicht mehr angreifbar, so dass ihre bactericide und bacteriostatische Wirksamkeit durch diese zelleigenen Enzyme nicht zerstört werden kann.

Bei dem erfindungsgemässen Verfahren werden Polyhydroxyverbindungen mit einer freien Hydroxylgruppe mit einem 55 Halogenalkylphosphorsäuredichlorid umgesetzt. Der Schutz der Hydroxylgruppen in den Polyhydroxyverbindungen kann durch Ätherbildung, Esterbildung, Ketalbildung usw. erfolgen. Bei dem erfindungsgemässen Verfahren kann man als Polyhydroxyverbindungen 1,2- oder 1,3-Diglyceride und andere 60 Glycerinderivate allgemein mehrwertige aliphatische Alkohole, wie Erythrit, Pentite und Hexite, einsetzen. Beispiele für Polyhydroxyverbindungen, die nach dem erfindungsgemässen Verfahren umgesetzt werden können, werden später im Zusammenhang mit den erfindungsgemässen erhältlichen Verbindungen näher erläutert.

Für die Umsetzung verwendet man bevorzugt  $\omega$ -Bromalkylphosphorsäuredichloride mit vorzugsweise 3 bis 25 Kohlenstoffatome, insbesondere 3 bis 16 und am meisten bevorzugt 3

bis 12 Kohlenstoffatome bei Alkylgruppen bzw. 6 Kohlenstoffatome bei Cycloalkylgruppen z. B. Cyclohexyl. Die Halogenalkylphosphorsäuredichloride gewünschter Kettenlänge erhält man durch Umsetzung von Halogenalkoholen der folgenden Formel:



entsprechender Kettenlänge, d. h. Alk besitzt die oben aufgeführte Bedeutung, mit Phosphoroxytrichlorid. Die genannten Halogenalkohole können aus den entsprechenden Diolen erhalten werden. Beispielsweise wurden die Bromalkohole durch Einführung eines Bromatoms je Molekül Diol nach einem vereinfachten Verfahren hergestellt. Das einfach-bromierte Reaktionsprodukt wird hierbei durch Extraktion aus dem Reaktionsmedium entfernt und so wird eine weitere Bromierung ausgeschlossen.

Die Umsetzung des Halogenalkylphosphorsäuredichlorids mit der Polyhydroxyverbindung erfolgt bevorzugt in einem inerten organischen Lösungsmittel. Als inerte organische Lösungsmittel können beispielsweise halogenierte Kohlenwasserstoffe, wie Chloroform, Tetrachlorkohlenstoff, Benzol, Toluol, Petroläther usw., verwendet werden. Die Umsetzung sollte möglichst unter Feuchtigkeitsausschluss durchgeführt werden. Allgemein werden bei der Umsetzung Temperaturen im Bereich von -10 bis 50°C, bevorzugt im Bereich von 0 bis 20°C, verwendet. Bevorzugt wird die Umsetzung in Anwesenheit einer inerten Base, wie beispielsweise Triäthylamin oder Pyridin, durchgeführt. Allgemein löst man das Halogenalkylphosphorsäuredichlorid in dem inerten Lösungsmittel und gibt dazu die Base. Unter Röhren tropft man die Polyhydroxyverbindung, ebenfalls gelöst in einem inerten Lösungsmittel, möglicherweise unter Kühlen zu dem Phosphorylierungsmittel.

Dabei verläuft die Umsetzung glatt und eindeutig. Im allgemeinen ist die Umsetzung nach kurzer Zeit beendet. Es empfiehlt sich jedoch, noch einige Zeit weiterzurühren, um eine vollständige Umsetzung sicherzustellen. Reaktionszeiten im Bereich von einer halben Stunde bis 5 Stunden sind üblich.

Der Reaktionsverlauf kann beispielsweise dünnenschichtchromatographisch verfolgt werden. Nach Beendigung der Umsetzung werden das Lösungsmittel und die überschüssige Base bei niedriger Temperatur entfernt und das Reaktionsprodukt kann nach üblichen Verfahren, beispielsweise durch Extraktion, abgetrennt werden. Es ist im allgemeinen nicht erforderlich, das Reaktionsprodukt zu reinigen, sondern man kann es sofort ohne weitere Reinigung mit der gewünschten Aminbase umsetzen.

Dazu wird das Reaktionsprodukt in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst und dazu wird eine äthanolische oder wässrige Lösung der entsprechenden Aminbase gegeben. Die Umsetzung wird bei Zimmertemperatur oder leicht erhöhten Temperaturen, beispielsweise bei 55°C, 5 bis 20 Stunden bzw. 1 bis 6 Stunden durchgeführt. Der Verlauf der Umsetzung kann dünnenschichtchromatographisch verfolgt werden.

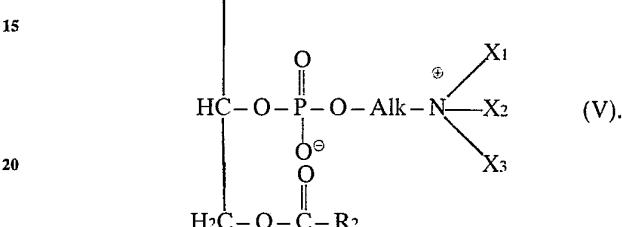
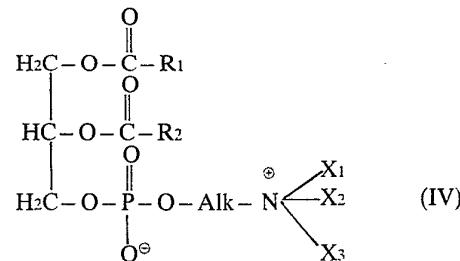
Man sollte beachten, dass die notwendige Reaktionszeit nicht überschritten wird, da sich nach Beendigung der Umsetzung das Reaktionsprodukt zersetzt.

Nachdem festgestellt wurde, dass die Umsetzung beendet ist, wird das Reaktionsprodukt auf an sich bekannte Weise isoliert. Beispielsweise kann man durch Säulenchromatographie reinigen.

Die Ausbeuten der analysenreinen Produkte liegen im allgemeinen zwischen 10 und 25% der Theorie, bezogen auf die eingesetzten Diglyceride oder die anderen entsprechenden Ausgangsmaterialien.

Im folgenden werden Beispiele für Verbindungen aufgeführt, die nach dem erfundungsgemäßen Verfahren hergestellt werden können.

5 1. Lecithine und Kephaline der folgenden Formeln:



10 Ausgangsmaterialien sind allgemein racemische oder optisch aktive 1,2- oder 1,3-Diglyceride mit ungesättigten, gesättigten oder verzweigten Fettsäuren oder mit Fettsäuren, die einen Cycloalkan oder aromatischen Ring enthalten.

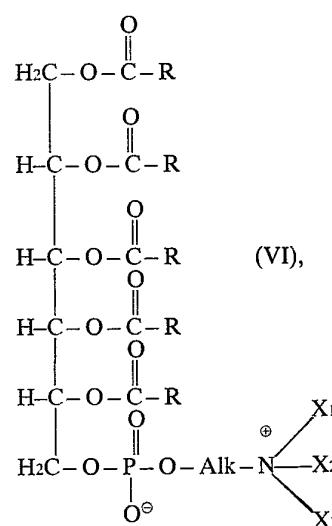
15 In den obigen Formeln bedeuten  $\text{X}_1$ ,  $\text{X}_2$  und  $\text{X}_3$  unabhängig voneinander je ein Wasserstoffatom oder eine Methylgruppe, Alk hat die zuvor angegebene Bedeutung.

20 30  $\text{R}_1$  und  $\text{R}_2$  bedeuten geradkettige oder verzweigte gesättigte oder ungesättigte Alkylgruppen, die gegebenenfalls auch durch einen Cycloalkyrring oder eine aromatische Gruppe substituiert sein können. Die Alkylgruppen enthalten 9 bis 25 Kohlenstoffatome, bevorzugt 12 bis 18 Kohlenstoffatome und am meisten bevorzugt 14 bis 18 Kohlenstoffatome. Die Cycloalkylgruppen können 5 bis 7, bevorzugt 5 bis 6, Kohlenstoffatome enthalten. Als aromatische Gruppen können beispielsweise Phenylgruppen oder substituierte Phenylgruppen auftreten. Bevorzugt sind  $\text{R}_1$  und  $\text{R}_2$  Fettsäurereste, wie beispielsweise Reste der Palmitinsäure, Stearinsäure.

35 40 2. Lysoverbindungen von Verbindungen der Formel IV oder V

Als Ausgangsmaterialien zur Herstellung der Lysoverbindungen der Formel IV oder V verwendet man allgemein beispielsweise 1-Acyl-2-benzylglycerin bzw. 1-Benzyl-2-acylglycerin. Biochemisch lassen sich die Ausgangsmaterialien auch aus Lecithinen und Kephalinen durch enzymatische Spaltung mit Phospholipase A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub> herstellen.

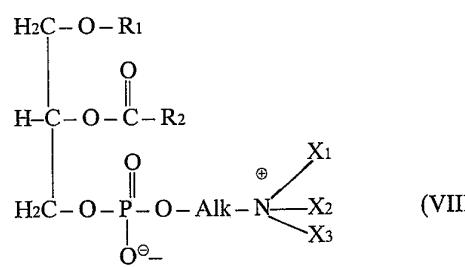
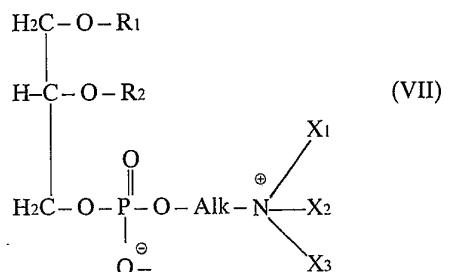
45 3. Analoge mit Zuckeralkoholen



wobei in der Formel VI Alk, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> und X<sub>3</sub> die zuvor angegebenen Bedeutungen besitzen und R die gleiche Bedeutung besitzt, wie sie zuvor für R<sub>1</sub> und R<sub>2</sub> angegeben wurde. Als Ausgangsmaterialien verwendet man allgemein acylierte Zuckerkalkohole, die bei z Hydroxylgruppen z-1 Acylreste enthalten, z ist eine ganze Zahl von 2 bis 7, bevorzugt 3 bis 6, am meisten bevorzugt 4, 5 oder 6. Man kann auch cyclische Zuckerkalkohole einsetzen.

4. Ätheranaloge und Ätheresteranaloge der Verbindungen der Gruppen 1 bis 3

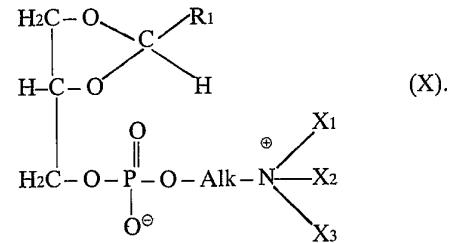
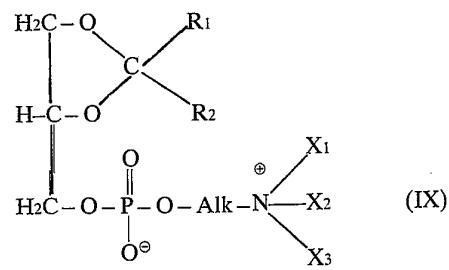
z. B.



wobei in den obigen Formeln VII und VIII R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, Alk, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> und X<sub>3</sub> die zuvor angegebenen Bedeutungen besitzen.

Ausgangsmaterialien sind die 1,2- und 1,3-Dialkylglycerin-äther bzw. Acylglycerinalkyläther.

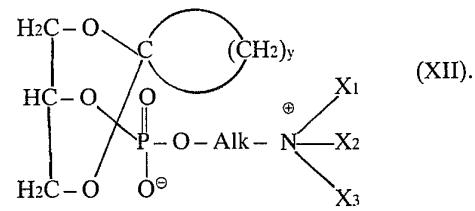
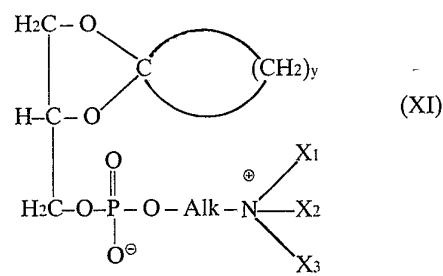
5. Dialkylketonglycerinphosphatide



In den obigen Formeln IX und X besitzen R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, Alk, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> und X<sub>3</sub> die zuvor angegebenen Bedeutungen.

Ausgangsstoffen sind u. a. 1,2- und 1,3-Dialkylketonglycerine oder entsprechende Acetale, die aus Glycerin oder 2-Benzylglycerin durch Umsatz mit dem entsprechenden Keton oder Aldehyd erhalten werden können. Das Keton oder der Aldehyd können ebenfalls Cycloalkan oder aromatische Ringe in der Seitenkette enthalten.

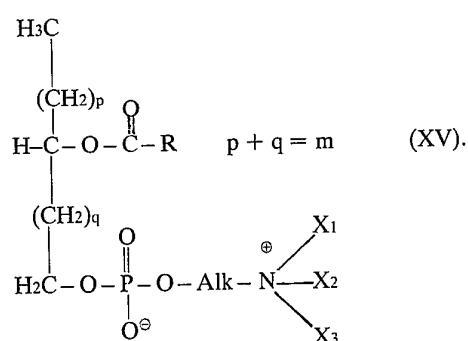
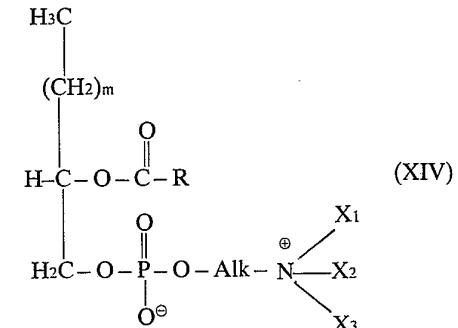
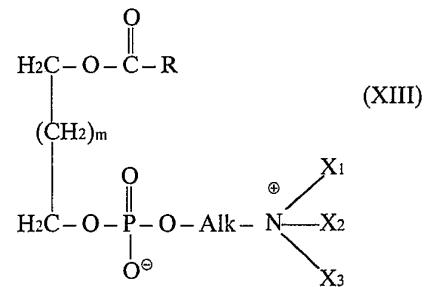
6. Cycloalkylketonglycerinphosphatide



In den obigen Formeln XI und XII besitzen Alk, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> und X<sub>3</sub> die zuvor angegebenen Bedeutungen. y bedeutet eine ganze Zahl von 5 bis 32, bevorzugt 5 bis 18, mehr bevorzugt 5 bis 16, am meisten bevorzugt 5 bis 12. y kann somit 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 usw. bedeuten. In den obigen Formeln kann Alk auch 2 Kohlenstoffatome enthalten.

Ausgangsstoffen sind 1,2- und 1,3-Cycloalkylketonglycerine, die aus Glycerin oder 2-Benzylglycerin durch Umsatz mit dem betreffenden Cycloalkanon erhalten werden können.

7. Desoxylysolecithine und -cephaline



In den obigen Formeln besitzen Alk, X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, X<sub>3</sub>, R die zuvor angegebenen Bedeutungen. m ist eine ganze Zahl von Null bis 14, bevorzugt 1 bis 8, am meisten bevorzugt 2, 3, 4, 5 oder 6.

Die Summe von p und q ergibt m.

Ausgangssubstanzen für Verbindungen der Formeln XIII, XIV und XV sind die entsprechenden Monoacylalkandiole, bevorzugt aber die  $\omega\omega'$ -Monoacylalkandiole. Die Alkandiole können gesättigt, ungesättigt oder verzweigt sein und auch ein Cycloalkan oder aromatischen Ring enthalten.

#### 8. Ätheranaloge der Verbindungen der Gruppe 7

Die obigen Klassen von Verbindungen sind Beispiele für das erfindungsgemäße Verfahren. Das erfindungsgemäße Verfahren ist allgemein anwendbar und kann zur Synthese vieler Verbindungen eingesetzt werden.

Die bei dem erfindungsgemäßen Verfahren erhaltenen Verbindungen können allgemein durch Säulenchromatographie auf Kieselgel erhalten werden. Die analysenreinen Produkte sind weisse amorphe Pulver mit einem uncharakteristischen Schmelzgebaren. Die Charakterisierung erfolgt daher im allgemeinen durch Dünnschichtchromatographie und Elementaranalyse.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung, ohne sie zu beschränken.

#### Beispiel 1

Darstellung von Bromalkoholen verschiedener Kettenlänge nach einem vereinfachten Verfahren:

Verbindungen folgender Art werden synthetisiert:

Br – (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> – OH mit Alk = 4 bis 10 Kohlenstoffatome.

Ausgangsprodukte sind Diole entsprechender Kettenlänge mit endständigen Alkoholfunktionen. Da nur jeweils ein Bromatom je Diolmolekül eingeführt werden soll, muss ein Verfahren Anwendung finden, bei dem das Reaktionsprodukt sofort aus dem eigentlichen Reaktionsmedium entfernt und damit eine weitere Reaktion ausgeschlossen wird. Hierzu bietet sich die Extraktion an.

In einem Rundkolben werden Diol und Bromwasserstoff-säure vorgelegt. Die Ausgangsprodukte werden mit Petroleumbenzin bzw. Benzol/Petroleumbenzin überschichtet. Ausschlaggebend für die Wahl des Extraktionsmittels ist die Unlöslichkeit des Diols und die gute Löslichkeit des Reaktionsproduktes hierin. Der Rundkolben wird mit einem Rückflusskühler versehen. Unter sehr starkem Rühren mit einem Magnetrührer wird anschliessend unter Rückfluss bis zur vollständigen Umsetzung des Ausgangsproduktes mit einem Heizpilz erhitzt. Das Fortschreiten der Reaktion wird mit Hilfe von Dünnschichtchromatogrammen ermittelt.

Anschliessend wird die Extraktionsmittelphase abgetrennt und mit Calciumsulfat getrocknet. Nach dem Abfiltrieren des Trockenmittels wird das Extraktionsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen. Der Rückstand wird im Ölumpenvakuuum fraktioniert destilliert.

Die Ausbeuten betragen ca. 80 bis 95% der Theorie, bezogen auf den eingesetzten Diol.

4-Brom-butanol-(1) und 5-Brom-pentanol-(1) werden folgendermassen dargestellt:

22,5 g (0,25 Mol) 1,4-Butandiol bzw. 26 g 1,5-Pentandiol (0,025 Mol) werden zusammen mit 80 g Bromwasserstoffsäure 47%ig (0,48 Mol), 500 ml Benzol und 50 ml Petroleumbenzin (Kp. 100 bis 140°C) 6,5 bzw. 6 Stunden am Rückfluss erwärmt.

Die übrigen Bromalkohole werden folgendermassen hergestellt:

29,6 g (0,25 Mol) des entsprechenden Diols werden zusammen mit 80 g (0,48 Mol) Bromwasserstoffsäure, 47%ig, 1500 ml Petroleumbenzin (Kp. 100 bis 140°C) am Rückfluss erwärmt.

Die folgenden Reaktionsprodukte wurden hergestellt:

Reaktionsprodukt	Reaktionsdauer	Physikal.	Konstanten
4-Brombutanol-(1)	6,5 Std.	Kp <sub>0,7</sub>	58 bis 60°C
5-Brompentanol-(1)	6 Std.	Kp <sub>0,5</sub>	72 bis 74°C
6-Bromhexanol-(1)	1,5 Std.	Kp <sub>0,6</sub>	85 bis 87°C
7-Bromheptanol-(1)	1,5 Std.	Kp <sub>0,5</sub>	87 bis 89°C
8-Bromoctanol-(1)	1 Std.	Kp <sub>0,5</sub>	110 bis 112°C
9-Bromnonanol-(1)	1 Std.	Kp <sub>0,4</sub>	112 bis 114°C
10-Bromdecanol-(1)	30 Min.	Kp <sub>0,3</sub>	124 bis 126°C

10

Bis zum 8-Bromoctanol-(1) sind die Reaktionsprodukte farblose Flüssigkeiten. 9-Bromnonanol-(1) und 10-Bromdecanol-(1) sind bei Zimmertemperatur weiss und fest. Bromalkohole grösserer Kettenlänge können prinzipiell ebenso nach diesem Verfahren hergestellt werden. Da diese Reaktionsprodukte alle fest sind, werden sie durch Umkristallisation gereinigt.

20

#### Beispiel 2

Darstellung von Lecithinen mit verändertem Phosphor-Stickstoff-Abstand im polaren Kopf:

A.  $\omega$ -Bromalkylphosphorsäuredichlorid:

25 32 mMol = 30 ml Phosphoroxytrichlorid (frisch destilliert, Kp.: 105 bis 107°C) in 70 ml absolutem Chloroform (90 Min. unter Umlauf über P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> destilliert)

werden in einem Rundkolben vorgelegt. Bei Zimmertemperatur wird zur Verdrängung von Luft kurze Zeit Stickstoff in die

30 Lösung eingeleitet. Der Kolben wird mit einem Tropftrichter versehen und luftdicht verschlossen. Unter Rühren mit einem Magnetrührer tropft man bei Zimmertemperatur langsam unter Feuchtigkeitsausschluss 20 mMol des Bromalkohols

35 gewünschter Kettenlänge in 50 ml absolutem Chloroform zu. Man röhrt ca. 12 Std. Der bei der Reaktion entstandene Chlorwasserstoff sowie überschüssiges Phosphoroxytrichlorid und Chloroform werden bei 30°C am Rotationsverdampfer abgezogen. Zur Entfernung letzter Spuren von Phosphoroxytrichlorid wird Toluol zugegeben und ebenfalls abgezogen.

40 Der Umsatz beträgt 95 bis 100% und kann dünnschichtchromatographisch verfolgt werden.

B. Phosphorylierung:

Das nach A. erhaltene  $\omega$ -Bromalkylphosphorsäuredichlorid 45 wird in 60 ml absolutem Chloroform aufgenommen und auf 0°C gekühlt. Unter Rühren mit einem Magnetrührer werden 10 ml Triäthylamin (getrocknet über Lithium-Aluminium-Hydrid und frisch destilliert) zugegeben. 14 mMol des entsprechenden Diglycerids, z. B.

50 SN-1,2-Dipalmitoylglycerin,

SN-1,2-Dimyristoylglycerin,

1,2-Dipentadecylketonglycerin,

oder eine andere der obengenannten Ausgangssubstanzen in 60 ml absolutem Chloroform werden bei 30 bis 35°C unter

55 Rühren mit einem Magnetrührer und Ausschluss von Luftfeuchtigkeit langsam zugetropft.

Dünnschichtchromatographisch wird festgestellt, dass die Reaktion schon beim Eintropfen fast vollständig verläuft.

Die hellgelbe Lösung färbt sich im Verlauf der Reaktion 60 dunkelbraun. Man röhrt noch 3 bis 5 Std. Dann werden Chloroform und Triäthylamin am Rotationsverdampfer bei 35°C abgezogen. Das Reaktionsprodukt wird in 100 ml Tetrahydrofuran aufgenommen. Man gibt dann unter Rühren 1 M Natriumacetatlösung vom pH 8,4 solange zu, bis die Lösung schwach 65 alkalisch bleibt. Zu dem auf diese Weise hydrolysierten Reaktionsprodukt gibt man 100 ml Diisopropyläther und röhrt 1 Std. Nach einer Phasentrennung extrahiert man erneut mit 50 ml Äther. Die vereinigten Ätherphasen werden 1 Std. über

Natriumcarbonat gerührt, filtriert und dann der Äther am Rotationsverdampfer abgezogen.

Die anschliessenden Umsetzungen erfolgen ohne weitere Reinigung dieses Reaktionsproduktes.

C. Umsetzung mit einer Aminobase:

Das Reaktionsprodukt aus B. wird für die weitere Umsetzung zu Lecithinen in 150 ml Butanon aufgenommen. Wird ein Kephalin dargestellt, so löst man in 50 ml Chloroform und 100 ml Methanol. Dazu gibt man 100 ml Acetonitril und 100 ml einer äthanolischen oder wässrigen Lösung der entsprechenden Aminobase.

Das Reaktionsgefäß wird luftdicht verschlossen und entweder 1 bis 6 Std. bei 55°C oder 5 bis 20 Std. bei Zimmertemperatur gehalten. Der Fortschritt der Reaktion wird dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Wird die notwendige Reaktionszeit überschritten, so erfolgt Zersetzung des Reaktionsproduktes, was sich in einer starken Verminderung der Ausbeute niederschlägt. Am Rotationsverdampfer werden anschliessend die flüchtigen Bestandteile des Reaktionsgemisches bei 50°C abgezogen. Der Rückstand wird in 150 ml Chloroform aufgenommen, mit 100 ml 2% Ameisensäure und 200 ml Methanol versetzt und geschüttelt. Das Reaktionsprodukt befindet sich in der Chloroformphase und wird zur Neutralisation mit 100 ml 0,1m Natriumacetatlösung vom pH 5,6 und 200 ml Methanol behandelt. Nach erneuter Phasentrennung wird die Chloroformphase über 10 g Natriumsulfat getrocknet und anschliessend das Chloroform am Rotationsverdampfer abgezogen.

Das so erhaltene Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt. Hierzu wird eine Säule mit einer Suspension aus 100 g Kieselgel (Mallinckrodt AR p. a.) in einem Lösungsmittelsystem aus Chloroform: Methanol: Ammoniak = 200:15:1 gefüllt. Auf diese Säule gibt man das in 10 bis 15 ml Lösungsmittel gelöste Produkt und eluiert zunächst Verunreinigungen mit dem obengenannten System. Das Reaktionsprodukt wird dann mit Chloroform: Methanol: Ammoniak = 65:15:1 bzw. 65:30:1 eluiert. Die Fraktionen werden dünn-schichtchromatographisch auf ihre Reinheit überprüft.

Die Ausbeuten der analysenreinen Produkte liegen zwischen 10 und 25% der Theorie, bezogen auf die eingesetzten Diglyceride oder andere entsprechende Ausgangssubstanzen.

Es wurden die im folgenden aufgeführten Verbindungen hergestellt, wobei jeweils die Analysenwerte angegeben sind.

Gruppe 1:

SN-1,2-Dipalmitoylglycerin-3-phosphorsäure-5-trimethylaminopentylester C<sub>43</sub>H<sub>88</sub>NO<sub>9</sub>P M: 794,15

	C	H	N	P
Berechnet	65,03%	11,17%	1,76%	3,90%
Gefunden	64,36%	11,04%	1,84%	3,91%

Gruppe 2:

SN-1-Palmitoylglycerin-3-phosphorsäure-5-trimethylaminopentylester C<sub>27</sub>H<sub>58</sub>NO<sub>8</sub>P M: 537,72

	C	H	N	P
Berechnet	58,35%	10,52%	2,52%	5,57%

Die erhaltenen Analysenwerte stimmten mit den berechneten überein.

Gruppe 3:

1,2,3,4,5-Pentamristoyl-D-mannit-6-phosphorsäure-7-trimethylaminoheptylester C<sub>92</sub>H<sub>166</sub>NO<sub>14</sub>P M: 1541,31

C H N P

Berechnet 71,69% 10,86% 0,91% 2,01%

5 Die erhaltenen Analysenwerte stimmten mit den berechneten überein.

Gruppe 4:

a) 1-Palmitoyl-2-hexadecylätherglycerin-3-phosphorsäure-

10 9-trimethylaminononylester C<sub>47</sub>H<sub>98</sub>NO<sub>8</sub>P M: 836,27

C H N P

15 Berechnet 67,50% 11,81% 1,67% 3,70%

Die erhaltenen Analysenwerte stimmten mit den berechneten überein.

20 b) 1,3-Dioctylätherglycerin-2-phosphorsäure-6-trimethylaminohexylester C<sub>28</sub>H<sub>62</sub>NO<sub>7</sub>P M: 555,78

C H N P

25 Berechnet 60,51% 11,24% 2,52% 5,57%

Die erhaltenen Analysenwerte stimmten mit den berechneten überein.

30 Gruppe 5:

1,2-Dipentadecylketonglycerin-3-phosphorsäure-6-trimethylaminohexylester C<sub>43</sub>H<sub>90</sub>NO<sub>7</sub>P M: 750,12

C H N P

35 Berechnet 67,25% 11,83% 1,87% 4,13%  
Gefunden 67,28% 11,87% 1,82% 4,14%

Gruppe 7:

40 1-Mristoylpropandiol-3-phosphorsäure-4-trimethylaminobutylester C<sub>24</sub>H<sub>52</sub>NO<sub>7</sub>P M: 497,65

C H N P

45 Berechnet 57,92% 10,53% 2,81% 6,22%

Die erhaltenen Analysenwerte stimmten mit den berechneten überein.

50 Gruppe 8:

1-Tetradecyläthetherpropandiol-3-phosphorsäure-4-trimethylaminobutylester C<sub>24</sub>H<sub>54</sub>NO<sub>6</sub>P M: 483,67

C H N P

55 Berechnet 59,60% 11,25% 2,90% 6,40%

Die erhaltenen Analysenwerte stimmten mit den berechneten überein.

60 Gruppe 1:

SN-1,2-Dipalmitoylglycerin-3-phosphorsäure-6-trimethylaminohexylester M: 808,18 C<sub>44</sub>H<sub>90</sub>NO<sub>9</sub>P

65 C H N P

Berechnet 65,39% 11,23% 1,73% 3,83%

Gefunden 66,66% 11,45% 1,80% 4,08%

SN-1,2-Dipalmitoylglycerin-3-phosphorsäure-7-trimethyl-  
aminoheptylester M: 822,20  
 $C_{45}H_{92}NO_9P$

	C	H	N	P
Berechnet	65,74%	11,28%	1,70%	3,77%
Gefunden	64,90%	11,16%	2,02%	4,59%

SN-1,2-Dipalmitoylglycerin-3-phosphorsäure-8-trimethyl-  
aminoctylester M: 836,23  
 $C_{46}H_{94}NO_9P$

	C	H	N	P
Berechnet	66,07%	11,33%	1,68%	3,70%
Gefunden:	64,15%	10,91%	2,30%	4,60%

SN-1,2-Dipalmitoylglycerin-3-phosphorsäure-9-trimethyl-  
aminononylester M: 850,26  
 $C_{47}H_{96}NO_9P$

	C	H	N	P
Berechnet	66,39%	11,38%	1,65%	3,64%
Gefunden	66,28%	11,43%	1,85%	3,85%

5  
Gruppe 5:  
1,2-Dipentadecylketonglycerin-3-phosphorsäure-5-trimethyl-  
aminopentylester M: 736,11  
 $C_{42}H_{88}NO_7P$

	C	H	N	P
Berechnet	66,90%	11,78%	1,90%	4,21%
Gefunden	67,06%	11,78%	2,06%	4,22%

10  
1,2-Dipentadecylketonglycerin-3-phosphorsäure-8-  
trimethylaminoctylester M: 778,19  
 $C_{45}H_{94}NO_7P$

	C	H	N	P
Berechnet	67,91%	11,92%	1,80%	3,98%
Gefunden:	68,21%	11,93%	1,89%	3,95%