



Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 2121/85

(51) Int.Cl.5

C 07 F 9/10

(22) Indleveringsdag: 14 maj 1985

(41) Alm. tilgængelig: 16 nov 1985

(44) Fremlagt: 01 nov 1993

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 15 maj 1984 AT 1590/84

(71) Ansøger: *Hafslund Nycomed Pharma AG; St. Peter-Strasse 25; A-4021 Linz, AT

(72) Opfinder: Friedrich *Paltauf; AT, Albin *Hermetter; AT

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

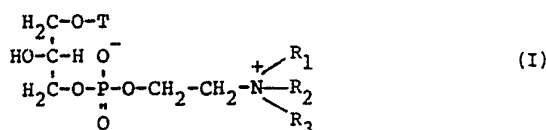
(54) Fremgangsmåde til fremstilling af blandet substituerede, enantiomer-rene 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholiner og 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphoethanolaminer

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammendrag:

2121-85

Triphenylmethyl-derivater af stereospecifikt nummereret glycero-3-phosphocholin og sn-glycero-3-phospho-ethanolamin med den almene formel



hvor T er eventuelt en eller flere gange med C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkoxy eller halogen substitueret triphenylmethylgruppe, og R₁, R₂ og R₃ enten er ens og betegner CH₃ eller forskellige, hvorved to af dem er H, og den tredje er triphenylmethyl, der eventuelt er substitueret en eller flere gange med C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkoxy eller halogen, fremstilles ved tritylering ved O-atomet i carbon-1-stillingen i glycerinmolekylet i sn-glycero-3-phosphocholin,

fortsættes

henholdsvis sn-glycero-3-phos-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin, salte eller metaltsaltkomplekser deraf med T-X (III), hvori X er Cl, Br eller I.

Forbindelserne er velegnede mellemprodukter ved syntese af kemisk definerede, enantiomer-rene 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholiner, henholdsvis -phosphoethanolaminer, som i 1- og 2-stillingerne er substitueret med indbyrdes uafhængige, forskellige acylgrupper.

Slutprodukterne er værdifulde emulgatorer ved lægemiddel- og plantebeskyttelsesmiddelfremstilling samt i fotoindustrien, og de er endvidere udgangsmaterialer ved fremstillingen af liposomer, liposomopløsninger og -geler.

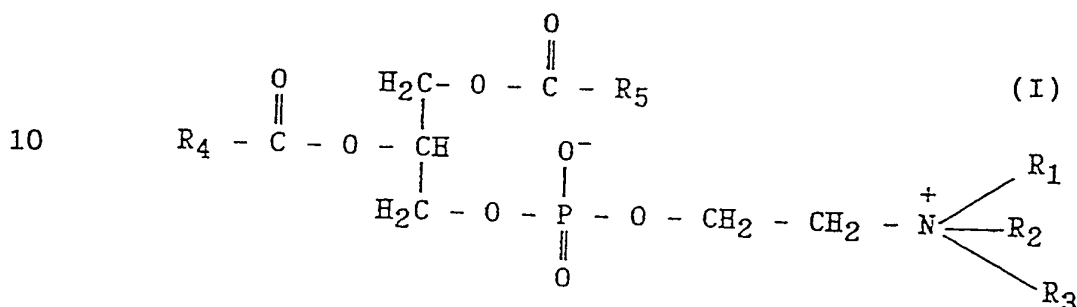
Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af kendte, enantiomer-rene 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholiner og 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphoethanolaminer, som i glycerolens 1- og 2-stillinger uafhængigt af hinanden er substitueret med forskellige acylgrupper.

Kemisk veldefinerede phosphatidylcholin-derivater og phosphatidylethanolamin-derivater, som bærer indbyrdes forskellige acylgrupper i carbon-1 og carbon-2-stillingerne i glycerinmolekylet, lader sig ifølge den op til nu kendte teknik kun opnå ved hjælp af en totalsyntese indeholdende flere trin eller ved hjælp af kostbare semisyn-tetiske fremgangsmåder, som kræver anvendelse af enzymer og meget store overskud af carboxylsyrer. Den pågældende kendte teknik er beskrevet i to oversigtsartikler af H. Eibl i Chem. Phys. Lipids, bind 26 (1980), side 405-429 og i Zeitschrift für Angewandte Chemie, bind 96 (1984), side 247-262.

Man har med de hidtil kendte fremgangsmåder og de derved anvendte udgangsmaterialer og mellemprodukter ikke været i stand til i praksis at gennemføre syntesen af disse blandet substituerede phosphatidylcholin-derivater og phosphatidylethanolamin-derivater i teknisk målestok.

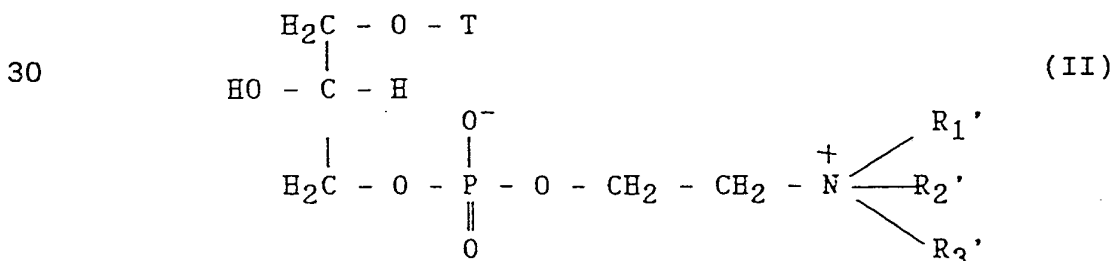
Til grund for den foreliggende opfindelse har følgelig ligget den opgave med udgangspunkt i simple og let tilgængelige udgangsmaterialer at tilvejebringe en fremgangsmåde, ved hvilken blandet substituerede, enantiomer-rene 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholiner og 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphoethanolaminer med veldefineret kemisk struktur kan fremstilles på økonomisk og tidsbesparende måde i teknisk målestok. Med den foreliggende opfindelse er denne opgave blevet løst på en uventet enkel og effektiv måde.

Genstanden for den foreliggende opfindelse er således en ny fremgangsmåde til fremstilling af i sig selv kendte, blandet substituerede, enantiomer-rene 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholiner og 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphoethanolaminer med den almene formel



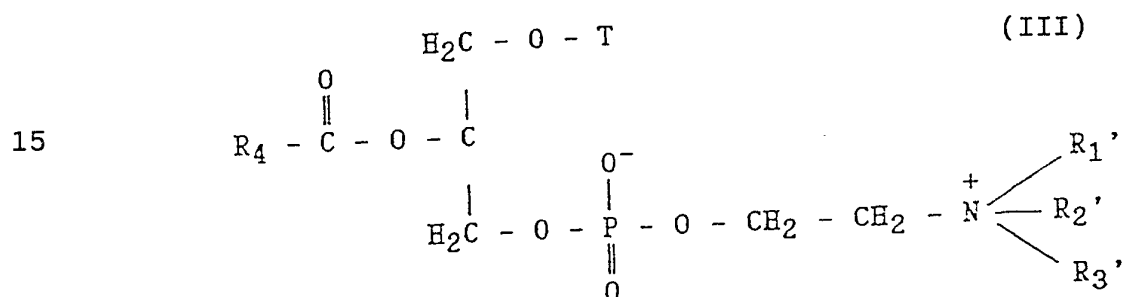
hvor R_1 , R_2 og R_3 er ens og betegner 3 hydrogenatomer eller 3 methylgrupper, og hvor R_4 og R_5 er forskellige og hver for sig betegner en usubstitueret eller en med halogen eller alkoxy en eller flere gange substitueret ligekædet eller forgrenet C_1 - C_{24} -alkyl- eller ligekædet eller forgrenet enkelt- eller flerumættet C_3 - C_{24} -alkenylgrupper. Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er særegen ved, at man

(a) acylerer et triphenylmethyl-derivat af sn-glycero-3-phosphocholiner eller sn-glycero-3-phosphoethanolaminer med den almene formel



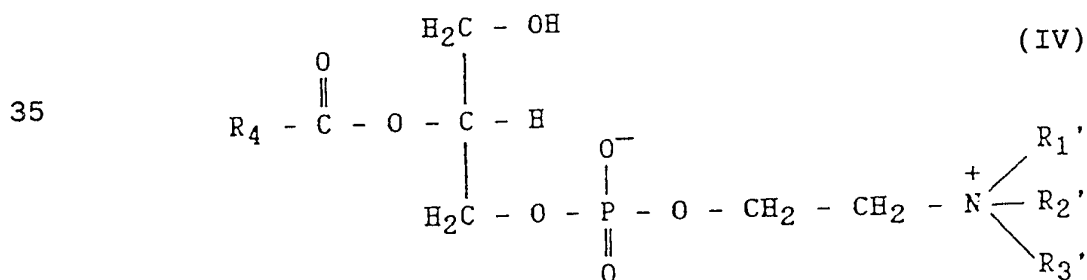
hvor T er en usubstitueret eller med C_1 - C_6 -alkyl, C_1 - C_6 -alkoxy eller halogen en eller flere gange sub-

stitueret triphenylgruppe, og hvor grupperne R_1' , R_2' og R_3' enten er ens og betegner methyl eller er forskellige, i hvilket tilfælde to af grupperne R_1' , R_2' og R_3' altid er hydrogen, medens den tredje gruppe er en usubstitueret eller en med C_1 - C_6 -alkyl, C_1 - C_6 -alkoxy eller halogen en eller flere gange substitueret triphenylmethylgruppe, med et derivat af en carboxylsyre med acylerende virkning med den almene formel R_4COOH , hvori R_4 har samme betydning som i formelen (I), til en forbindelse med den almene formel



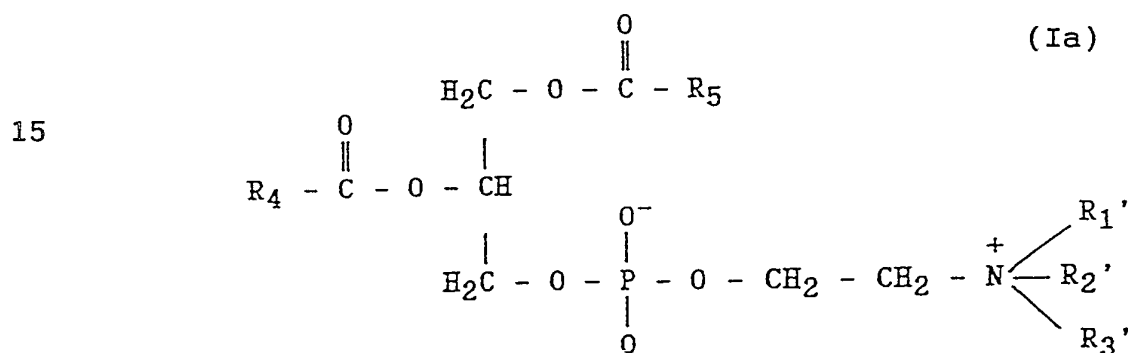
hvori T, R_1' , R_2' og R_3' har de samme betydninger som i formlen (II) og R_4 har den samme betydning som i formel (I), hvorefter man

(b) fraspalter 1-O-triphenylgruppen fra en opnået forbindelse med den almene formel (III) under indvirkning af en syre, om hvilken det forudsættes, at den er en Lewis-syre, når der er tale om forbindelser med formelen (III), hvori en af grupperne R_1' , R_2' og R_3' er en triphenylmethylgruppe, hvorved der dannes en 2-acyl-sn-glycero-3-phosphocholin eller en 2-acyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med den almene formel



hvor R_1' , R_2' , R_3' og R_4 har de ovenfor angivne betydninger, og

- 5 (c) videreacylerer en dannet forbindelse med formelen (IV) ved at omsætte denne med et acylerende derivat af en carboxylsyre med den almene formel $R_5\text{COOH}$, hvor R_5 har samme betydning som i formelen (I), til opnåelse af en 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholin eller en
10 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med den almene formel



hvor R_1' , R_2' og R_3' har de samme betydninger som i formelen (II) og R_4 og R_5 har de samme betydninger som i formelen (I), hvorefter man

- 25 (d) overfører en fremstillet forbindelse med den almene formel (Ia), hvor en af grupperne R_1' , R_2' og R_3' er en triphenylmethylgruppe, medens de to øvrige er hydrogen, til en forbindelse med den almene formel (I), hvor grupperne R_1 , R_2 og R_3 alle er hydrogen,
30 under indvirkning af syrer i aprotiske opløsningsmidler.

Ved det i nærværende beskrivelse i forbindelse med grupperne R_4 og R_5 anførte udtryk "en ligekædet eller forgrenet alkylgruppe" forstås en mættet, alifatisk carbonhydridgruppe, som indeholder 1-24 carbonatomer, og som kan
35 være forgrenet så mange steder som ønsket. Ved udtrykket

"likekædet eller forgrenet, en eller flere gange umættet alkenylgruppe" forstås en umættet, alifatisk carbonhydridgruppe med 3-24 carbonatomer, som indeholder en eller flere olefiniske dobbeltbindinger, og som ligeledes kan
 5 være forgrenet så ofte som ønsket. I såvel alkylgrupperne som i alkenylgrupperne kan et eller flere carbonatomer være erstattet af halogen, såsom fluor, chlor, brom eller iod, eller af alkoxygrupper, såsom methoxy, ethoxy, propyloxy, isopropyloxy, butyloxy eller lignende.

10

Forkortelsen "sn" i de systematiske kemiske betegnelser for de anførte forbindelser betyder "stereospecifikt nummereret".

15

Acyleringen af forbindelserne med den almene formel (II) til 2-acylderivaterne med den almene formel (III) gennemføres med reaktionsdygtige derivater af carboxylsyrer med den almene formel R_4COOH . Som sådanne acyleringsmidler egner sig f.eks. halogenider, anhydrider, aktive estere
 20 eller azolider af disse carboxylsyrer, hvor man særligt foretrækker carboxylsyreimidazolider. Omsætningen gennemføres under de sædvanlige acyleringsbetingelser, f.eks. i et vandfrit, polært, aprotisk opløsningsmiddel eller i en opløsningsmiddelblanding, som er inert over for de pågældende reaktionskomponenter. Hertil hører fortrinsvis
 25 ethere, såsom tetrahydrofuran, dioxan og ethylenglycoldimethylether, halogenerede alifatiske eller aromatiske carbonhydrider, såsom methylenchlorid, chloroform, 1,2-dichlorethan, chlorbenzen og p-chlortoluen, carboxylsyreamider, såsom dimethylformamid, dimethylacetamid og hexamethylphosphorsyretriamid, N-methylpyrrolidon, dimethylsulfoxid, heterocycliske baser, der samtidigt fungerer
 30 som protonacceptorer, såsom pyridin, alkylerede pyridiner, N,N-dialkylaminopyridin og lignende, eller blandinger af sådanne opløsningsmidler. Ved anvendelse af carboxylsyreimidazoliderne som acyleringsmiddel er særligt
 35 gunstige resultater opnået med blandinger af dimethylsul-

foxid og tetrahydrofuran i blandingsforhold fra 1:4 til 4:1. Acyleringen gennemføres hensigtsmæssigt under anvendelse af et syrebindende middel af uorganisk art, der samtidig virker katalytisk, såsom natriumhydrid eller metaltallisk natrium, eller af organisk art, såsom triethylamin, N-methylpiperidin, N,N-dimethylanilin eller N,N-diethylanilin, eller også i nærvær af heterocycliske baser, såsom pyridin, N,N-dimethylaminopyridin, picoliner, cholidin, quinolin, isoquinolin eller lignende. Acyleringsreaktionen kan gennemføres ved temperaturer mellem 0 °C og kogepunktstemperaturen for opløsningsmidlet, fortrinsvis dog ved temperaturer mellem 20 °C og 30 °C.

De ved omsætningen opstående ikke-omsatte carboxylsyrer og eventuelt endnu tilstedeværende ikke-omsatte rester af acyleringsmidlet må frasepareres før det næste reaktionstrin, f.eks. gennem chromatografi over silicagel eller under anvendelse af andre inden for den præparative kemi sædvanligvis anvendte rensningsmetoder, såsom ved at ekstrahere en opløsning af råproduktet i et opløsningsmiddel, der ikke er blandbart med vand, med fortyndede vandige baser, f.eks. vandig ammoniak, eller ved omkrystallisation henholdsvis omfældning af råproduktet ud fra egnede opløsningsmidler.

Derpå fraspalter man gennem syrebehandling 1-O-triphenylmethylgruppen fra 2-acylderivaterne med den almene formel (III). Hvad angår glycerophosphoethanolamin-derivaterne med den almene formel (III), hvori en af grupperne R_1' , R_2' og R_3' betegner en triphenylmethylgruppe, er det nødvendigt til opnåelse af N-triphenylmethylgruppen at anvende en Lewis-syre, og hvad angår glycerophosphocholin-derivaterne med formlen (III), i hvilke grupperne R_1' , R_2' og R_3' betyder methyl, er det fordelagtigt at anvende en Lewis-syre til fraspaltning af 1-O-triphenylmethylgruppen. Fraspaltningen af 1-O-triphenylmethylgruppen kan dog ved glycerophosphocholin-derivaterne også foretages

- med uorganiske syrer, f.eks. med uorganiske syrer, såsom saltsyre, hydrogenbromidsyre, perchlorsyre og lignende, eller med organiske syrer, såsom trifluoreddikesyre, trichloreddikesyre og lignende. Man vil herved fortrinsvis, for at forhindre en vandring af acylgruppen, holde sig ved temperaturer under 20 °C. Man kan som særligt aktivt 5 de-trityleringsmiddel anvende bortrifluorid-methanol-komplekser i methylenchlorid ved 0 °C. Man opnår derigennem forbindelserne med den almene formel (IV) i en så god renhedsgrad, at de ikke behøver at blive underkastet 10 yderligere rensningsbehandlinger før den videre forarbejdning. Den udførelsesform for syntesen, ved hvilken man overfører de efter fraspaltning af 1-O-triphenylmethylgruppen opnåede forbindelser med den almene formel (IV) direkte til en videre acylering, er særligt fordelagtig, da man derigennem på afgørende måde kan reducere 15 de acyl-vandringer, der eventuelt optræder i dette stadium af synteseforløbet som følge af rensningsprocessen.
- 20 Den videre acylering af forbindelserne med den almene formel (IV) til 1,2-diacylderivaterne med den almene formel (Ia) gennemføres igen med et af de ovenfor anførte reaktionsdygtige derivater af carboxylsyrer med den almene formel R_5COOH . Carboxylsyreanhydrider af disse syrer 25 har vist sig særligt nyttige til indføring af acylgruppen i carbon-1-stillingen i glycerolmolekylet. Omsætningen gennemføres under de sædvanlige acyleringsbetingelser, fortrinsvis i et vandfrit, polært, aprotisk opløsningsmiddel eller i en opløsningsmiddelblanding, hvorved man 30 foruden de ovenfor i forbindelse med acyleringen af carbon-2-stillingen anførte opløsningsmidler ligeledes kan anvende opløsningsmiddelblandinger med halogenerede carbonhydrider, såsom methylenchlorid, chloroform, carbontetrachlorid, chlorbenzen og lignende. Særligt gode resultater er opnået med blandinger af methylenchlorid og 4-N,N-dimethylaminopyridin, der samtidig overtager funktionen som syrebindende middel. Man kan ved omsætningen 35

vælge et temperaturområde fra stuetemperatur op til kogepunktstemperaturen for opløsningsmidlet eller for den lavest kogende opløsningsmiddelkomponent. Fortrinsvis gennemføres reaktionen ved stuetemperatur eller ved svagt forhøjede temperaturer fra 20 til 40 °C.

De fremstillede diacylderivater med den almene formel (Ia) kan opnås i ren form under anvendelse af rensningsbehandlinger, der er sædvanlige inden for den præparative kemi. Således kan råproduktet opløses i opløsningsmidler, der ikke er blandbare med vand, og befries for acyleringsmiddel i overskud ved ekstraktion med fortyndede vandige baser, f.eks. med en vandig ammoniakopløsning, eller det kan renses ved omkrystallisation, henholdsvis ved omfældning.

Til renfremstilling af forbindelserne med formlen (Ia) egner sig også de sædvanlige chromatografiske metoder eller en multiplikativ fordeling mellem to faser.

Man kan ud fra forbindelser med den almene formel (Ia), hvori en af grupperne R_1' , R_2' og R_3' betegner en triphenylmethylgruppe, opnå 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholiner og 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin-derivaterne med formlen (I), hvori R_1' , R_2' og R_3' hver betegner hydrogen, gennem fraspaltning af N-triphenylmethylgruppen. Til denne fraspaltning egner sig uorganiske syrer, eksempelvis mineralsyrer såsom saltsyre eller hydrogenbromidsyre, eller fortrinsvis organiske syrer, eksempelvis halogenerede carboxylsyrer, såsom trichloreddikesyre eller trifluoreddikesyre, hvorved man arbejder i et aprotisk opløsningsmiddel for at undgå en deacylering i carbon-1- og carbon-2-stillingen i glycerolmolekylet. Man fjerner fortrinsvis N-triphenylmethylgruppen med trifluoreddikesyre i methylenchlorid ved temperaturer omkring 0 °C.

Karakteriseringen og renhedsanalysen af de her beskrevne forbindelser gennemføres ved hjælp af tyndtlagschromatografi og spektroskopiske metoder, især 1 -NMR-spektroskopi. De derved opnåede spektroskopiske data er i overensstemmelse med de beskrevne kemiske strukturer af de pågældende forbindelser.

Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan man fremstille 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholiner og 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphoethanolaminer med den almene formel (I) uden at anvende enzymer. Eftersom anvendelsen af enzymer, som hidtil har været nødvendig ved den semisyntetiske fremstilling af sådanne blandet substituerede phosphatidylcholiner og phosphatidylethanolaminer, ikke længere er påkrævet, er forbindelserne med formlen (I) for første gang blevet let tilgængelige også i teknisk målestok. Yderligere fordele ved opfindelsen ligger i, at de til acylering i position 1 henholdsvis i position 2 anvendte carboxylsyrederivater udnyttes praktisk talt fuldstændigt. Ved de hidtil anvendte enzymatiske fremgangsmåder substituerer man stillingerne 1 og 2 i glycerophosphocholin, henholdsvis i N-beskyttede glycerophosphoethanolaminer, først med to ens acylgrupper, hvorpå acylgruppen i 2-stillingen fraspaltes under indvirkning af enzymet phospholipase A_2 , og man indfører så på dette mellemprodukt den ønskede acylgruppe ved en yderligere acyleringsreaktion. Derigennem går den carboxylsyre, som er anvendt til den første acylering i 2-stillingen, tabt. Yderligere er den enzymatiske hydrolyses hastighed og effektivitet afhængig af arten af carboxylsyren, medens fremstillingen ifølge opfindelsen af forbindelserne med formlen (II) er fuldstændig uafhængig deraf.

Phosphatidylcholinerne og phosphatidylethanolaminerne med den almene formel (I) kan eksempelvis anvendes som værdifulde emulgatorer ved fremstilling af lægemidler og plantebeskyttelsesmidler, ligesom de kan anvendes i fotoindu-

strien. Forbindelserne egner sig yderligere som kemisk definerede udgangsmaterialer til fremstilling af liposomer, liposomopløsninger og liposomgeler.

- 5 De som udgangsmaterialer ved fremstillingen af forbindelserne med den almene formel (I) anvendte 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholiner og 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolaminer med den almene formel (II) kan opnås ved tritylering af
10 sn-glycero-3-phosphocholin, henholdsvis sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med et tilsvarende reaktivt triphenylmethyl-derivat. Til fremstilling af disse udgangsmaterialer kan man anvende naturlig sn-glycero-3-phosphocholin eller sn-glycero-3-phosphoethanolamin.
15 Disse to produkter er let tilgængelige i praktisk talt ubegrænsede mængder ved forsæbning og isolation af phospholipider af vegetabilsk, animalsk eller mikrobiel opfindelse.
- 20 Opfindelsen illustreres nærmere ved de følgende eksempler.

EKSEMPEL 1

- 25 A) 1-O-triphenylmethyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

- Man lader 1,26 g oliesyre reagere med 794 mg carbonyldiimidazol i 25 ml tetrahydrofuran i 45 minutter ved stuetemperatur, hvorpå man fjerner opløsningsmidlet under
30 vakuum. Til inddampningsresten, som indeholder det dannede fedtsyreimidazolid, sættes derefter en opløsning af 1,1 g af råproduktet af 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin i 28 ml dimethylsulfoxid. Efter tilsætning
35 af en katalysator, som er fremstillet ved opløsning af 148 mg metallisk natrium i 11,5 ml dimethylsulfoxid, lader man reaktionsblandingen henstå under lejlighedsvis

omrystning i 20 minutter ved 20 °C. Til sidst tilsættes i én portion 64 ml af en 0,1N vandig eddikesyreopløsning. Der ekstraheres to gange med en blanding af chloroform og methanol 2/1 (v/v), hvorefter de samlede organiske faser vaskes to gange med en blanding af methanol og vand 1/1 (v/v). Efter afdampning af opløsningsmidlet under vakuum opløses råproduktet i chloroform og overføres til en silicagel-kolonne. Den rene forbindelse (1,1 g) elueres med en gradient af chloroform og methanol og viser ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% NH₃ 65:35:5 (v/v/v)) en enkelt plet, R_f = 0,4.

B) 2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Til en opløsning af 500 ml 1-O-triphenylmethyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin i 30 ml methylchlorid sættes 0,5 ml af en 20% opløsning af bortrifluorid i methanol, hvorpå der omrøres i 30 minutter ved 0 °C. Derpå tilsætter man 15 ml methanol og 9 ml vand, ryster blandingen og isolerer den organiske fase. Opløsningsmidlet fjernes ved afdampning under højt vakuum ved stuetemperatur.

C) 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Inddampningsresten, som indeholder den dannede 2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin, opløses i 30 ml tør chloroform. Man tilsætter en opløsning af 820 ml palmitinsyreanhydrid og 200 ml dimethylaminopyridin og omrører reaktionsblandingen i 6 timer ved 20 °C. Derpå tilsætter man 15 ml methanol og udryster først med 0,1N HCl og derpå med H₂O. Efter fjernelse af det organiske opløsningsmiddel under vakuum renses forbindelsen ved chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient. Den rensede forbindelse (400 mg) viser ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% NH₃ 65:35:5 (v/v/v)) en enkelt plet, R_f = 0,4.

EKSEMPEL 2**1-stearoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin**

5 Man omsætter en opløsning af 2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (som er fremstillet ud fra 700 mg 1-O-triphenylmethyl-2-oleoyl-sn-glycero-phosphocholin i overensstemmelse med eksempel 1, behandlingstrinnene (A) og (B)) med 1,2 g stearinsyreanhydrid analogt med den i eksempel
10 1, behandlingstrin (C) anførte fremgangsmåde, hvorpå man renser chromatografisk og analyserer. Der opnås 550 ml (76% udbytte beregnet på 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin) 1-stearoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin, som ved tyndtlagschromatografi over silicagel
15 (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig NH_3 opløsning, 65:35:5 (v/v/v) viser en enkelt plet; R_f -værdi 0,4.

EKSEMPEL 3

20

A) 1-O-triphenylmethyl-2-linoleoyl-sn-glycero-phosphocholin

Man acylerer 600 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin (ifølge eksempel 1) med linoleoylimidazolid, som er fremstillet ud fra 690 mg linolsyre og 440 mg carbonyldiimidazol, idet man anvender den i eksempel 1, trin (A) anførte fremgangsmåde. Den rene forbindelse (690 mg, udbytte 75% af det teoretiske) viser, efter middeltryk-chromatografi over silicagel, ved tyndtlagschromatografi over silicagel en enkelt plet, R_f -værdi 0,3 (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig NH_3 -opløsning, 65:35:5, v/v/v).

35

B) 2-linoleoyl-sn-glycero-phosphocholin

Man behandler en opløsning af 1 g 1-O-triphenylmethyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin i 60 ml methylenchlorid med en 20% opløsning af bortrifluorid i methanol til fraspaltning af 1-O-triphenylmethylgruppen som anført i eksempel 1, trin (B).

C) 1-stearoyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Det i ovenstående trin (B) opnåede 2-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin omsættes med 1,6 g stearinsyreanhydrid analogt med den i eksempel 1, trin (C) anførte fremgangsmåde, hvorpå der renses chromatografisk. Herved opnår man 820 mg (80% udbytte beregnet på 1-O-triphenylmethyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholin) som et rent produkt, der ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig NH_3 opløsning, 65:35:5, v/v/v) viser en enkelt plet; R_f -værdi 0,7.

EKSEMPEL 4**A) 1-O-triphenylmethyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholin**

320 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin omsættes med 0,7 mg eddikesyreanhydrid i 4 ml vandfri pyridin natten over ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen bliver derpå hældt ud i isvand og ekstraheret to gange med chloroform-methanol (2:1, v/v). De samlede organiske faser vaskes to gange med chloroform-methanol-vand (3:48:47, v/v/v), tørres over natriumhydrogencarbonat og bringes til slut til helt tør tilstand. Råproduktet renses ved middeltryk-chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient. Det rene produkt (180 mg, 51% udbytte) viser ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig

NH₃-opløsning, 65:35:5, v/v/v) en enkelt plet; R_f = 0,16.

¹H-NMR-spektrum δ ppm (CDCl₃-CD₃OD, 2:1, v/v)

2,13 (H₃C - CO, s, 3H); 3,16 (H₃C - N, s, 9H); 3,3 - 4,4
 5 (glycerol og cholin-CH₂); 5,23 (glycerol C-H, 1H);
 7,33 (aromat, 15H).

B) 2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholin

10 **C) 1-palmitoyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholin**

Fra 1-O-triphenylmethyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholin
 15 den fraspaltede 1-O-triphenylmethylgruppen analogt med
 den i eksempel 1, trin (B) anførte fremgangsmåde, og den
 derved dannede 2-acyl-sn-glycero-3-phosphocholin blev om-
 sat med palmitinsyreanhydrid analogt med den i eksempel
 1, trin (C) beskrevne metode til dannelse af 1-palmitoyl-
 2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholin.

20 **EKSEMPEL 5**

A) 1-O-triphenylmethyl-2-methoxyacetyl-sn-glycero-3-phosphocholin

25 316 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin
 blev omsat med methoxyacetylimidazolid, som var blevet
 fremstillet ud fra 50 mg methoxyeddikesyre og 178 mg
 carbonyldiimidazol, analogt med den i eksempel 5, trin
 (A) beskrevne metode, hvorpå reaktionsproduktet blev op-
 30 arbejdet. Man opnåede 250 mg (69% udbytte) ren 1-O-tri-
 phenylmethyl-2-methoxyacetyl-sn-glycero-3-phosphocholin,
 som ved tyndtlagschromatografi (elueringsmiddel: chloro-
 form-methanol-25% vandig NH₃-opløsning, 65:35:5, v/v/v)
 viste en enkelt plet; R_f-værdi 0,25.

35

B) 2-methoxyacetyl-sn-glycero-3-phosphocholin

C) 1-stearoyl-2-methoxyacetyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Fra 1-O-triphenylmethyl-2-methoxyacetyl-sn-glycero-3-phosphocholinen fraspaltedes 1-O-triphenylmethylgruppen analogt med den i eksempel 1, trin (B) beskrevne metode, og den derved dannede 2-methoxyacetyl-sn-glycero-3-phosphocholin blev omsat som beskrevet i eksempel 2 med stearynsyreanhydrid til dannelse af 1-stearoyl-2-methoxyacetyl-sn-glycero-3-phosphocholin, som blev renset chromatografisk.

EKSEMPEL 6

A) 1-O-triphenylmethyl-2-(2'-ethylhexanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin

Man omsatte en opløsning af 250 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin med 2-ethylhexanoylimidazolid, som var blevet fremstillet ud fra 144 mg 2-ethylhexansyre og 178 mg carbonyldiimidazol analogt med den i eksempel 1, trin (A) anførte fremgangsmåde, hvorpå reaktionsproduktet blev oparbejdet. Man opnåede 200 mg (69% udbytte) ren 1-O-triphenylmethyl-2-(2'-ethylhexanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin, som ved tyndtlagschromatografi (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% NH_3 , 65:35:5, v/v/v) viste en enkelt plet; R_f -værdi 0,24.

B) 2-(2'-ethylhexanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin

C) 1-oleoyl-2-(2'-ethylhexanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin

Fra 1-O-triphenylmethyl-2-(2'-ethylhexanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholinen fraspaltedes 1-O-triphenylmethylgruppen analogt med den i eksempel 1, trin (B) anførte metode, og den derved dannede 2-(2'-ethylhexanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin blev omsat analogt med den i eksempel 1,

trin (C) beskrevne metode med oliesyreanhydrid til dannelse af 1-oleoyl-2-(2'-ethylhexanoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin og renset chromatografisk.

5 EKSEMPEL 7

A) 1-O-triphenylmethyl-2-(1'-¹⁴C)-dodecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

- 10 Ved 20 °C i 45 minutter omsattes 100 mg (1'-¹⁴C)-dodecan-
syre (1 µci/mmol) med 90 mg carbonyldiimidazol i 30 ml
vandfri tetrahydrofuran. Opløsningen af det dannede acyl-
imidazolid blev sat til 127 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-
glycero-3-phosphocholin. Efter fjernelse af opløsnings-
15 midlet under vakuum blev indampningsresten opløst i 1 ml
dimethylsulfoxid, og reaktionen blev startet ved tilsæt-
ning af det katalytisk virkende syrebindende middel, som
fremstilledes ved opløsning af 23 g metallisk natrium i
18 ml dimethylsulfoxid. Reaktionsblandingen blev under
20 lejlighedsvis omrystning holdt i 10 minutter ved 20 °C,
hvorpå den på én gang ved tilsætning af 10 ml vandig
eddikesyre blev neutraliseret. Derpå blev den ekstraheret
to gange med hver 15 ml chloroform-methanol (2:1, v/v).
- 25 6 ml chloroform-methanol-vandig NH₃-opløsning (3:48:47,
v/v/v) og 6 ml chloroform-methanol-vand (3:48:47, v/v/v).
Efter fjernelse af opløsningsmidlet under vakuum og ind-
dampning i nærværelse af benzen opnåede man et råprodukt,
som blev renset ved middeltryk-chromatografi over silica-
30 gel med en chloroform-methanol-gradient, hvorved man op-
nåede 110 mg rent stof (82% udbytte), som blev elueret
med chloroform-methanol i forholdet 6:4 (v/v).

35 Det rene stof viste ved tyndtlagschromatografi over sili-
cagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig
NH₃-opløsning, 65:35:5, v/v/v) en enkelt plet; R_f = 0,25.
Radioaktiviteten var på 1 µci/mmol.

^1H -NMR-spektrum δ ppm ($\text{CDCl}_3\text{-CH}_3\text{OD}$, 2/1, v/v)
 0,90 (Acyl, CH_3 , 3H); 1,26 ($(\text{CH}_2)_n$, s) 16H); 1,66 ($\text{H}_2\text{C-}$
 C-CO , m, 2H); 3,16 ($\text{H}_3\text{C-N}$, s, 9H); 3,3 - 4,4 (glycerol
 og cholin- CH_2 , 8H); 5,23 (glycerol-CH, m, 1H); 7,33 (Aro-
 mat, 15H).

B) 2-(1'- ^{14}C)-dodecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

C) 1-oleoyl-2-(1'- ^{14}C)-dodecanoyl-sn-glycero-3-phospho-
 cholin

Fra 1-O-triphenylmethyl-2-(1'- ^{14}C)-dodecanoyl-sn-glycero-
 3-phosphocholin fraspaltedes 1-O-triphenylmethylgruppen
 analogt med den i eksempel 1, trin (B) anførte fremgangs-
 måde, og den derved dannede 2-(1'- ^{14}C)-dodecanoyl-sn-gly-
 cero-3-phosphocholin blev analogt med eksempel 1, trin
 (C) omsat med oliesyreanhydrid til dannelse af 1-oleoyl-
 2-(1'- ^{14}C)-dodecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin, som
 blev renset chromatografisk.

EKSEMPEL 8

A) 1-O-triphenylmethyl-2-(9',10'-dibromstearoyl)-sn-gly-
 cero-3-phosphocholin

I løbet af 5 timer ved 20 °C omsatte 300 mg 1-O-triphe-
 nylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin med 1,3 g 9,10-di-
 bromstearinsyreanhydrid analogt med den i eksempel 4,
 trin (A) angivne fremgangsmåde i nærværelse af 300 mg 4-
 N,N-dimethylaminopyridin i 20 ml chloroform, hvorpå pro-
 duktet blev oparbejdet. Man opnåede 460 ml (82% udbytte)
 ren 1-O-triphenylmethyl-2-(9',10'-dibromstearoyl)-sn-gly-
 cero-3-phosphocholin, som ved tyndtlagschromatografi
 (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig NH_3 -op-
 løsnings, 65:35:5, v/v/v) viste en enkelt plet; R_f -værdi
 0,3.

B) 2-(9',10'-dibromstearoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin

C) 1-stearoyl-2-(9',10'-dibromstearoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin

5

Fra 1-O-triphenylmethyl-2-(9',10'-dibromstearoyl)-sn-glycero-3-phosphocholinen fraspaltedes 1-O-triphenylmethylgruppen analogt med den i eksempel 1, trin (B) anførte fremgangsmåde, og den derved dannede 2-(9',10'-dibromstearoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin blev omsat analogt med eksempel 2, med stearinsyreanhydrid til dannelse af 1-(stearoyl-2-(9',10'-dibromstearoyl)-sn-glycero-3-phosphocholin, som renset chromatografisk.

15

EKSEMPEL 9

A) 1-O-triphenylmethyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

20

Man omsatte 550 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin under en argon-atmosfære med 1,50 g arachidonsyreanhydrid analogt med den i eksempel 8 angivne fremgangsmåde. Efter tilsætning af 15 ml ethanol vaskede man med 9 ml chloroform-methanol-vand (3:48:47, v/v/v), og derpå tørrede man den nederste fase under vakuum og rensede den ved middeltryk-chromatografi. Man opnåede 750 mg (80% udbytte) ren 1-O-triphenylmethyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholin, som ved tyndtlagschromatografi (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig NH_3 -opløsning, 65:35:5, v/v/v) viste en enkelt plet; R_f -værdi 0,3.

30

B) 2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

35

C) 1-stearoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Fra 1-O-triphenylmethyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholinen fraspaltedes 1-O-triphenylmethylgruppen analogt med den i eksempel 1, trin (B) anførte fremgangsmåde, og den derved dannede 2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholin blev omsat analogt med eksempel 2 med stearynsyreanhydrid til 1-stearoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphocholin, som blev renset chromatografisk.

10

EKSEMPEL 10

A) 1-O-triphenyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

15

Man omsatte 316 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phosphocholin med tetracosanoylimidazolid, som var blevet fremstillet ud fra 1,7 g tetracosansyre og 356 mg carboxyldiimidazol, idet man anvendte den i eksempel 1, trin (A) anførte fremgangsmåde, og materialet blev oparbejdet. Man nåede 850 mg (62% udbytte) ren 1-O-triphenylmethyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin, som ved tyndtlagschromatografi (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig NH_3 -opløsning, 65:35:5, v/v/v) viste en enkelt plet; R_f -værdi 0,3.

25

B) 2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

C) 1-oleoyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin

30

Fra 1-O-triphenylmethyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphocholinen fraspaltedes 1-O-triphenylmethylgruppen analogt med den i eksempel 1, trin (B) anførte fremgangsmåde, og den derved dannede 2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin blev analogt med eksempel 1, trin (C) omsat med oliesyreanhydrid til 1-oleoyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphocholin og renset chromatografisk.

35

Eksempel 11**A) 1-O-triphenylmethyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin**

5

Man omrørte 386 mg oliesyre og 255 mg carbonylimidazol i 10 ml tetrahydrofuran i 45 minutter ved stuetemperatur under beskyttelse mod fugtighed. Efter optagelse af 480 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin i opløsningen af oleoylimidazolidet tilsatte man 3,1 ml af en opløsning af 41 mg metallisk natrium i dimethylsulfoxid. Man lod omsætningen foregå i 20 minutter ved stuetemperatur og neutraliserede derpå med 17,8 ml 0,1N vandig eddikesyre. Produktet opløstes i isvand og ekstraheredes tre gange med diethylether, hvorpå de samlede organiske faser blev vasket to gange med vand og tørret over Na_2SO_4 . Derpå blev opløsningsmidlet fjernet under vakuum. Efter rensning af råproduktet ved en chromatografi over silicagel med en petroleumsether-chloroform-gradient opnåede man 633 mg af den rene tilstræbte forbindelse. Tyndtlagschromatografi af produktet over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol 9:1 v/v)) viste en enkelt plet; $R_f = 0,3$.

^1H -NMR-spektrum: δ ppm (CDCl_3)
 0,88 ($-\text{CH}_3$); 1,26 ($-\text{CH}_2-$); 1,8 - 2,3 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}=\text{C}$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$); 3,1 - 4,3 (glycerol og ethanolamin C-H); 5,1 (glycerol $\text{C}_2-\text{C}-\text{H}$, oleoyl $\text{HC}=\text{CH}$); 7,25 (triphenylmethyl C-H).

30

B) 2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

Man omrørte en opløsning af 406 mg 1-O-triphenylmethyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin i en blanding bestående af 30 ml methylenchlorid og 1 ml af en 20% opløsning af bortrifluorid i methanol i 30

minutter ved 0 °C. Derpå tilsatte man 30 ml methylenchlorid, vaskede tre gange med vand og tørrede den organiske fase over Na_2SO_4 .

5 C) 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

10 Til en opløsning af det dannede 2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin sættes 1,3 g palmitinsyreanhydrid og 230 mg dimethylaminopyridin. Reaktionsblandingen blev omrørt i 6 timer ved 20 °C. Derpå blev opløsningsmidlet fjernet under vakuum. Efter chromatografi af inddampningsresten over silicagel med en petroleumsether-chloroform-gradient opnåede man 361 mg af
15 det rene acyleringsprodukt. Forbindelsen viste ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol 9/1 (v/v)) en enkelt plet; $R_f = 0,6$.

^1H -NMR-spektrum: δ ppm (CDCl_3)
20 0,88 ($-\text{CH}_3$); 1,22 ($-\text{CH}_2-$); 1,55 ($-\text{CH}_2-\text{C}-\text{CO}$); 1,8 - 2,3 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}=\text{CH}_2-\text{C}=\text{O}$); 3,1 - 4,3 (glycerol og ethanolamin C-H); 5,1 (glycerol = C-H, oleoyl $\text{CH}=\text{CH}$); 7,25 (triphenylmethyl C-H).

25 D) 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

Man lod en opløsning af 190 mg 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-3-glycero-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin i 12 ml af en
30 blanding af 6 ml methylenchlorid og 6 ml trifluoreddikesyre henstå under beskyttelse mod fugtighed i 5 minutter ved 0 °C. Derpå neutraliserede man på én gang med 23 ml af en 6% vandig ammoniakopløsning. Den vandige fase blev frasepareret og ekstraheret med chloroform-methanol 2/1 (v/v). De samlede organiske faser blev vasket med vand.
35 Efter fjernelse af opløsningsmidlet under vakuum blev råproduktet rensat ved chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient. Forbindelsen viste ved

tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% vandig NH_3 -opløsning, 50:25:6, (v/v/v)) en enkelt plet; $R_f = 0,5$.

5 EKSEMPEL 12

A) 1-O-triphenylmethyl-2-lineoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

10 Man omsatte 464 mg linolsyre og 365 mg carbonyldiimidazol i 45 minutter i 15 ml tetrahydrofuran ved 20 °C. Opløsningen af det derved dannede acylimidazolid blev sat til 530 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin. Efter fjernelse af opløsningsmidlet under vakuum blev indampningsresten opløst i 15 ml 15 dimethylsulfoxid, og reaktionsblandingen blev indledt ved tilsætning af det katalytisk virkende syrebindende middel, som var blevet fremstillet ved opløsning af 49 ml 20 metallisk natrium i 3,7 ml dimethylsulfoxid. Reaktionsblandingen blev under lejlighedsvis omrystning holdt ved 20 °C i 20 minutter, hvorpå den blev neutraliseret på én gang med 10,4 ml vandig 0,1N eddikesyre. Derpå blev den ekstraheret to gange med hver 20 ml chloroform-methanol 25 2:1 (v/v). De samlede organiske faser blev successivt vasket med 8 ml chloroform-methanol-vandig NH_3 -opløsning (3:48:47, v/v/v) og med chloroform-methanol-vand (3:48:47, v/v/v). Efter fjernelse af opløsningsmidlet under vakuum og indampning i nærværelse af benzen opnåede man et råprodukt, som efter rensning ved middeltryk- 30 chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient førte til 670 mg (92% udbytte) af den rene forbindelse. Den rene forbindelse viste ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: methanol-chloroform 8:3, v/v) en enkelt plet; $R_f = 0,61$.

B) 2-linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

5 Fra 435 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)ethanolamin fraspaltedes triphenylmethylgruppen med 0,5 ml af en 20% opløsning af bortrifluorid i methanol under anvendelse af den i eksempel 11, trin (B) anførte fremgangsmåde.

10 **C) 1-oleoyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)ethanolamin**

D) 1-oleoyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

15 Man videreacylerede 2-linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin analogt med fremgangsmåden beskrevet i eksempel 11, trin (C) ved omsætning med olie-syreanhydrid til dannelse af 1-oleoyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin, hvorpå
20 man analogt med den i eksempel 15, trin (C) angivne fremgangsmåde fraspaltede N-triphenylmethylgruppen.

EKSEMPEL 13

25 **A) 1-O-triphenylmethyl-2-stearoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin**

Denne forbindelse blev analogt med fremgangsmåden i eksempel 12, trin (A) fremstillet ved omsætning af 380 mg
30 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med 350 mg stearoylimidazolid.

B) 2-stearoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

35 Denne forbindelse blev fremstillet ved fraspaltning af 1-O-triphenylmethylgruppen fra det i trin (A) opnåede reakt-

tionsprodukt analogt med fremgangsmåden beskrevet i eksempel 11, trin (B).

5 C) 1-oleoyl-2-stearoyl-sn-glycero-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

D) 1-oleoyl-2-stearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

Man omsatte den i trin (B) opnåede 2-stearoyl-sn-glycero-
10 3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin analogt med fremgangsmåden beskrevet i eksempel 11, trin (C) med 1,5 g oliesyreanhydrid til dannelse af 340 mg 1-oleoyl-2-stearoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin. De-trityleringen analogt med fremgangsmåden be-
15 skrevet i eksempel 11, trin (D) førte til 250 mg 1-oleoyl-2-stearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin, ud fra hvilken man ved chromatografering over silicagel med en chloroform-methanol-gradient opnåede 140 ml af det rene produkt, som ved tyndtlagschromatografi (elueringsmiddel:
20 chloroform-methanol-25% vandig NH_3 -opløsning, 50:25:6, v/v/v) viste en enkelt plet; R_f -værdi 0,5.

EKSEMPEL 14

25 A) 1-O-triphenylmethyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)ethanolamin

Man omsatte 300 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med 500 mg acetanhydrid i 5 ml vandfri pyridin i 20 timer ved 20 °C. Derpå
30 hældte man blandingen ud i 50 ml isvand og ekstraherede to gange med chloroform-methanol 2:1 (v/v). De samlede organiske faser blev vasket to gange med chloroform-methanol-vand 3:48:47 (v/v/v), tørret over natriumhydrogencarbonat og bragt til fuldstændig tør tilstand under va-
35 kuum. Restmærker af pyridin blev fjernet ved afdampning i nærværelse af toluen. Råproduktet blev rensat ved middel-

tryk-chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient. Den således opnåede rene forbindelse (128 mg, 40% udbytte) viste ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol 8:2, v/v) en enkelt plet; R_f -værdi 0,50.

$^1\text{H-NMR}$ -spektrum: δ ppm (CDCl_3 - CD_3OD 2:1, v/v);
 2,0 ($\text{H}_3\text{C-CO}$, s, 3H); 2,8 - 4,2 (glycerol og cholin- CH_2);
 5,16 (glycerol-CH, m, 1H); 7,23 (aromat, 30H).

1-O-triphenylmethyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethylamin)-ethanolamin blev omsat analogt med fremgangsmåderne beskrevet i trinnene (B), (C) og (D) i eksempel 11 til dannelse af yderligere følgende produkter:

B) 2-acetyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

C) 1-palmitoyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

D) 1-palmitoyl-2-acetyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

25 EKSEMPEL 15

A) 1-O-triphenylmethyl-2-propionyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

30 Man omsatte 450 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med 900 mg propionsyreanhydrid i 10 ml pyridin ved 30 °C analogt med fremgangsmåden beskrevet i eksempel 14, trin (A) til dannelse af 1-O-triphenylmethyl-2-propionyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin, hvorpå materialet blev
 35 oparbejdet og renset.

Udbytte: 220 mg (45% af det teoretiske); R_f -værdi 0,5. Det derved opnåede reaktionsprodukt blev omsat i overensstemmelse med fremgangsmåderne beskrevet i eksempel 11, trinnene (B), (C) og (D) til de følgende forbindelser:

5

B) 2-propionyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

10

C) 1-palmitoyl-2-propionyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

D) 1-palmitoyl-2-propionyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

15

EKSEMPEL 16

A) 1-O-triphenylmethyl-2-butyryl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

20

Man acylerede 500 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med butyrylimidazolid, som var blevet fremstillet ud fra 132 mg smørsyre og 267 mg carbonylimidazol, analogt med eksempel 12, trin (A), hvorpå materialet blev oparbejdet og rensat. Det derved opnåede reaktionsprodukt (300 mg, 56% udbytte; R_f -værdi 0,52, på silicagel, elueringsmiddel: chloroform-methanol 8:2, v/v) blev videreomsat analogt med fremgangsmåderne beskrevet i eksempel 11, trinnene (B), (C) og (D) til dannelse af følgende forbindelser:

30

B) 2-butyryl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

35

C) 1-palmitoyl-2-butyryl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

D) 1-palmitoyl-2-butyryl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

EKSEMPEL 17

5 A) 1-O-triphenylmethyl-2-isobutyryl-sn-glycero-3-phospho-
(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

10 Man acylerede 500 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med isobutyryl-imidazolid, som var blevet fremstillet ud fra 132 mg isomørsyre og 267 mg carbonyldiimidazol analogt med eksempel 12, trin (A), hvorpå materialet blev oparbejdet og rensat. Det derved opnåede reaktionsprodukt (272 mg, 40% udbytte; R_f -værdi 0,53 på silicagel, elueringsmiddel: 15 chloroform-methanol 8:2, v/v) udviste følgende spektroskopiske data:

^1H -NMR-spektrum: δ ppm (CDCl_3 - CD_3OD , 2:1, v/v)
1,2 (CH_3 , 6H); 2,5 - 3,9 (glycerol og cholin CH_2 , 8H);
20 5,26 (glycerol-CH, m, 1H); 7,23 (aromat, 30H).

1-O-triphenylmethyl-2-isobutyryl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin blev omsat analogt med eksempel 12, trinnene (B), (C) og (D) til dannelse af de 25 følgende forbindelser:

B) 2-isobutyryl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

30 C) 1-oleoyl-2-isobutyryl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

D) 1-oleoyl-2-isobutyryl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

EKSEMPEL 18**A) 1-O-triphenylmethyl-2-(3'-trifluormethylbutyryl)-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin**

5

Man omrørte 900 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin og 500 mg 3-trifluormethylbutyrylanhydrid i 50 ml methylenchlorid i 4 timer ved 20 °C efter tilsætning af 300 mg 4-N,N-dimethylaminopyridin. Efter tilsætning af vand blev der ekstraheret, hvorefter den organiske fase blev tørret over Na₂SO₄ og indampet under vakuum.

Efter oprensning af råproduktet ved middeltryk-chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient i nærvær af 0,5 vol-% vandig NH₃-opløsning opnåedes 820 mg (76% udbytte; R_f-værdi 0,50 på silicagel, elueringsmiddel: chloroform-methanol 8:2, v/v) 1-O-triphenylmethyl-2-(3'-trifluormethylbutyryl)-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin. Dette produkt blev omsat analogt med eksempel 11, trinnene (B), (C) og (D) til dannelse af de følgende forbindelser:

B) 2-(3'-trifluormethylbutyryl)-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

25

C) 1-palmitoyl-2-(3'-trifluormethylbutyryl)-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin**D) 1-palmitoyl-2-(3'-trifluormethylbutyryl)-sn-glycero-3-phosphoethanolamin**

30

35

EKSEMPEL 19**A) 1-O-triphenylmethyl-2-(2'-butylhexanoyl)-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin**

5 Man acylerede 430 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med 2-butylhexanoylimidazolid, som var fremstillet ud fra 200 mg 2-butylhexansyre og 210 mg carbonyldiimidazol, analogt med ek-

10 sempel 12, trin (A), hvorpå materialet blev oparbejdet og rensset. Det således opnåede reaktionsprodukt (370 mg, 70% udbytte; R_f -værdi 0,55 på silicagel, elueringsmiddel: chloroform-methanol 8:2, v/v) blev omsat analogt med fremgangsmåden beskrevet i eksempel 11, trinnene (B), (C)

15 og (D) til de følgende forbindelser:

B) 2-(2'-butylhexanoyl)-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin**20 C) 1-palmitoyl-2-(2'-butylhexanoyl)-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin****D) 1-palmitoyl-2-(2'-butylhexanoyl)-sn-glycero-3-phospho-ethanolamin**

25

EKSEMPEL 20**A) 1-O-triphenylmethyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin**

30

Man omrørte 500 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin og 890 mg arachidonsyreanhydrid i 50 ml methylenchlorid i 4 timer ved 20 °C efter tilsætning af 300 mg 4-N,N-dimethylaminopyridin.

35 Efter tilsætning af vand blev der ekstraheret, hvorefter den organiske fase blev tørret over Na_2SO_4 og inddampet under vakuum. Efter rensning af råproduktet ved middel-

tryk-chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient i nærværelse af 0,5 vol-% vandig NH_3 -opløsning opnåede man 520 mg (82% udbytte; R_f -værdi 0,61 på silicagel, elueringsmiddel: chloroform-methanol 8:2, v/v)

5 1-O-triphenylmethyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin. Dette produkt blev omsat analogt med eksempel 11, trinnene (B), (C) og (D) til dannelse af de følgende forbindelser:

10 B) 2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

C) 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

15

D) 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

EKSEMPEL 21

20

A) 1-O-triphenyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

500 mg 1-O-triphenylmethyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin acyleredes med tetracosanoyl-imidazolid, som var blevet fremstillet ud fra 1,57 g tetracosansyre og 267 mg carbonylimidazol analogt med eksempel 12, trin (A), hvorpå materialet blev oparbejdet og rensat. Det derved opnåede reaktionsprodukt (640 mg, 90% udbytte; R_f -værdi 0,6 på silicagel, elueringsmiddel: chloroform-methanol 8:2, v/v) blev omsat med fremgangsmåderne beskrevet i eksempel 11, trinnene (B), (C) og (D) til dannelse af de følgende forbindelser:

25

30

35 B) 2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

C) 1-palmitoyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

D) 1-palmitoyl-2-tetracosanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

EKSEMPEL 22

C) 1-stearoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

Til en opløsning af 2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin, som var blevet opnået ud fra 1,1 g 1-O-triphenylmethyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin (se eksempel 11, trinnene (A) og (B) i 150 ml methylenchlorid sættes 3,5 g stearinsyreanhydrid og 625 mg 4-N,N-dimethylaminopyridin. Reaktionsblandingen blev omrørt i 3 timer ved 20 °C, hvorpå der tilsættes 45 ml chloroform-methanol-vand (3:48:47, v/v/v) og 75 ml methanol. Den nederste fase blev efter ekstraktion frasepareret og vasket endnu to gange med hver 45 ml chloroform-methanol-vandig ammoniak (3:48:47, v/v/v) såvel som én gang med chloroform-methanol-vand (3:48:47, v/v/v). Efter fjernelse af opløsningsmidlet under vakuum blev råproduktet renset ved hjælp af middeltryk-chromatografi over silicagel med en chloroform-methanol-gradient, hvorved man opnåede 990 mg (89% udbytte; R_f -værdi 0,6 på silicagel, elueringsmiddel: chloroform-methanol 9:1, v/v) af det rene reaktionsprodukt.

D) 1-stearoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

Man lod 1. g 1-stearoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin i 30 ml trifluoreddikesyre henstå i 5 minutter ved 0 °C. Oparbejdningen blev gennemført analogt med eksempel 11, trin (D). Man opnåede 550 mg af den rene forbindelse (72% udbytte), som ved tyndt-

lagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol-25% NH_3 -opløsning, 50:25:6, v/v/v) viste én enkelt plet; R_f -værdi 0,5.

5 EKSEMPEL 23

C) 1-stearoyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin

10 D) 1-stearoyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin

Til 2-linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin, som var fremstillet ud fra 700 mg 1-O-triphenyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin (se eksempel 12, trinnene (A) og (B), i methylenchlorid sættes 2,2 g stearinsyreanhydrid og 390 mg 4-N,N-dimethylaminopyridin, hvorpå der omrørtes i 3 timer ved stuetemperatur. Det således opnåede reaktionsprodukt blev, således som det er beskrevet i eksempel 11, trin (D), omsat med trifluoreddikesyre og rensat.

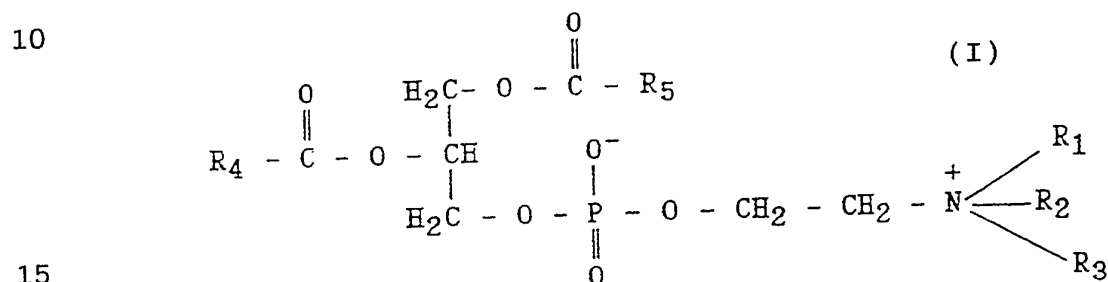
Man opnåede på denne måde 250 mg af den rene 1-stearoyl-2-linoleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamin, som ved tyndtlagschromatografi over silicagel (elueringsmiddel: chloroform-methanol analogt med eksempel 22) viste en enkelt plet; R_f -værdi 0,5.

30

35

P a t e n t k r a v :

1. Fremgangsmåde til fremstilling af blandet substituere-
 5 de, enantiomer-rene 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholi-
 ner og 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphoethanolaminer med
 den almene formel

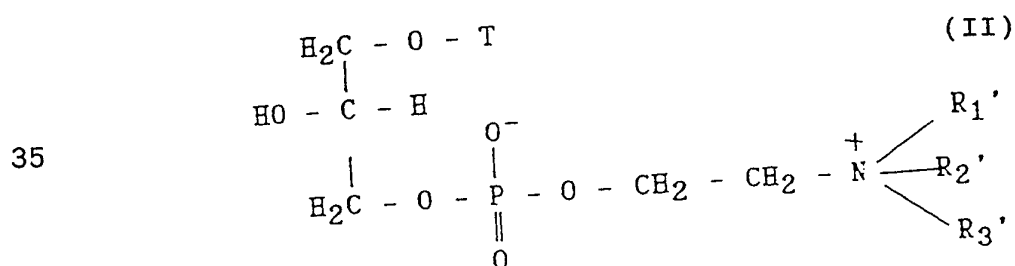


hvor R_1 , R_2 og R_3 er ens og betegner 3 hydrogenatomer,
 eller 3 methylgrupper, og hvor R_4 og R_5 er forskellige
 og hver for sig betegner en usubstitueret eller en med
 20 halogen eller alkoxy en eller flere gange substitueret
 ligekædet eller forgrenet C_1 - C_{24} -alkyl- eller ligekædet
 eller forgrenet enkelt- eller flerumættet C_3 - C_{24} -alkenyl-
 gruppe,

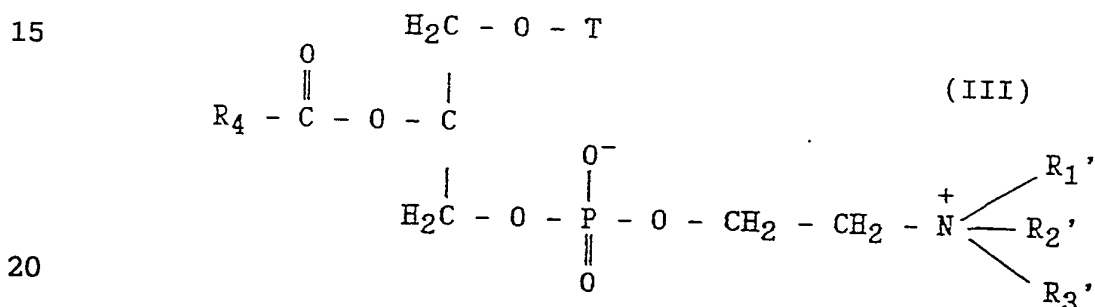
25 k e n d e t e g n e t ved, at man

(a) acylerer et triphenylmethyl-derivat af sn-glycero-3-
 phosphocholiner eller sn-glycero-3-phosphoethanolami-
 ner med den almene formel

30



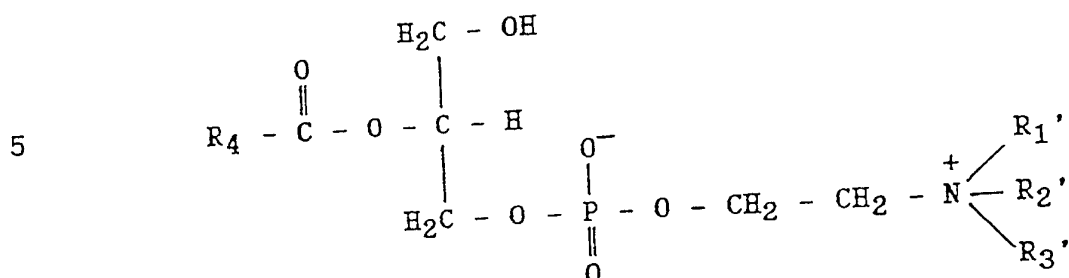
hvori T er en usubstitueret eller med C_1-C_6 -alkyl,
 C_1-C_6 -alkoxy eller halogen en eller flere gange sub-
 stitueret triphenylgruppe, og hvor grupperne R_1' , R_2'
 og R_3' enten er ens og betegner methyl eller er for-
 skellige, i hvilket tilfælde to af grupperne R_1' , R_2'
 og R_3' altid er hydrogen, medens den tredje gruppe er
 en usubstitueret eller en med C_1-C_6 -alkyl, C_1-C_6 -
 alkoxy eller halogen en eller flere gange substitue-
 ret triphenylmethylgruppe, med et derivat af en carb-
 oxylsyre med acylerende virkning med den almene for-
 mel R_4COOH , hvori R_4 har den samme betydning som i
 formlen (I), til en forbindelse med den almene formel



hvori T, R_1' , R_2' og R_3' har de samme betydninger som
 i formlen (II) og R_4 har den samme betydning som i
 formlen (I), hvorefter man

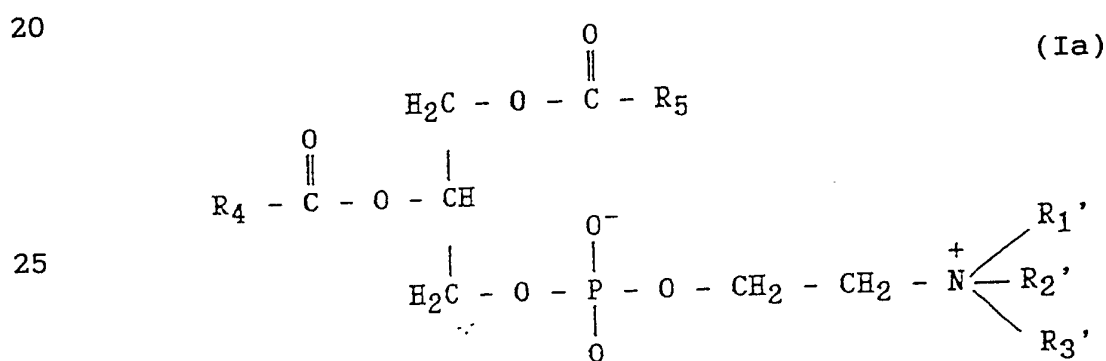
- (b) fraspalter 1-O-triphenylgruppen fra en opnået forbin-
 delse med den almene formel (III) under indvirkning
 af en syre, om hvilken det forudsættes, at den er en
 Lewis-syre, når der er tale om forbindelser med form-
 len (III), hvori en af grupperne R_1' , R_2' og R_3' er
 en triphenylmethylgruppe, hvorved der dannes en 2-
 acyl-sn-glycero-3-phosphocholin eller en 2-acyl-sn-
 glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med
 den almene formel

(IV)



hvor R_1' , R_2' , R_3' og R_4 har de ovenfor angivne betydninger, og

(c) videreacylerer en dannet forbindelse med formelen (IV) ved at omsætte denne med et acylerende derivat af en carboxylsyre med den almene formel R_5COOH , hvor R_5 har den samme betydning som i formelen (I), til opnåelse af en 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phosphocholin eller en 1,2-diacyl-sn-glycero-3-phospho-(N-triphenylmethyl)-ethanolamin med den almene formel



hvor R_1' , R_2' og R_3' har de samme betydninger som i formelen (II) og R_4 og R_5 har de samme betydninger som i formelen (I), hvorefter man

(d) overfører en fremstillet forbindelse med den almene formel (Ia), hvor en af grupperne R_1' , R_2' og R_3' er en triphenylmethylgruppe, medens de to øvrige er hydrogen, til en forbindelse med den almene formel (I), hvor grupperne R_1 , R_2 og R_3 alle er hydrogen, under

indvirkning af syrer i aprotiske opløsningsmidler.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at man i trin (a) ved acyleringen anvender imidazolidet af en carboxylsyre med den almene formel $R_4\text{COOH}$, hvori R_4 har den i krav 1 angivne betydning, som acyleringsmiddel i en opløsningsmiddelblanding af dimethylformamid og tetrahydrofuran i et volumenforhold på mellem 1:4 og 4:1.
3. Fremgangsmåde ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at man ved acyleringen i trin (a) anvender natriumhydrid eller metallisk natrium som syrebindende middel.
4. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-3, k e n d e t e g n e t ved, at man gennemfører acyleringen i trin (a) ved temperaturer på mellem 20 og 30 °C.
5. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-4, k e n d e t e g n e t ved, at man i trin (b) fraspalter 1-O-triphenylmethylgruppen med bortrifluorid-methanol-komplekset i methylenchlorid ved en temperatur på 0 °C.
6. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-5, k e n d e t e g n e t ved, at man ved acyleringen i trin (c) anvender anhydridet af en carboxylsyre med den almene formel $R_5\text{COOH}$, hvori R_5 har den i krav 1 angivne betydning, som acyleringsmiddel.
7. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-6, k e n d e t e g n e t ved, at man gennemfører acyleringen i trin (c) i en blanding af methylenchlorid og 4-N,N-dimethylaminopyridin.
8. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-7, k e n d e t e g n e t ved, at man gennemfører acyleringen i

trin (c) ved temperaturer på mellem 20 og 40 °C.

9. Fremgangsmåde ifølge ethvert af kravene 1-8, k e n -
d e t e g n e t ved, at man i trin (d) fraspalter N-tri-
5 phenylmethylgruppen med trifluoreddikesyre i methylen-
chlorid ved en temperatur på omkring 0 °C.

10

15

20

25

30

35