

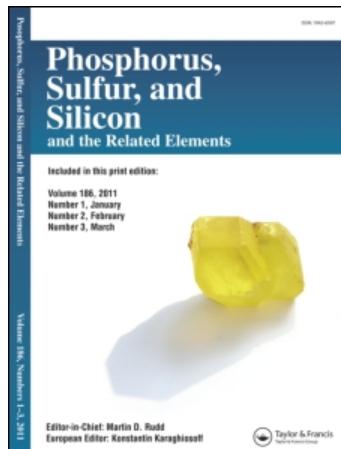
This article was downloaded by:

On: 30 January 2011

Access details: Access Details: Free Access

Publisher Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713618290>

SYNTHESE DE LA d,l-(ACETOXY-2 OCTADECYLTHIO-1) PROPYL-3 PHOSPHORYLCHOLINE OU THIA-PAF

Bernard Garrigues^a; Guy Bertrand^b; Daniel Frehel^c; Jean-Pierre Maffrand^c

^a ERA 926, Université Paul Sabatier, Toulouse Cédex, France ^b ERA 829, Université Paul Sabatier, Toulouse Cédex, France ^c Sanofi Recherche, Ligne Hémobiologie, Toulouse Cédex, France

To cite this Article Garrigues, Bernard , Bertrand, Guy , Frehel, Daniel and Maffrand, Jean-Pierre(1984) 'SYNTHESE DE LA d,l-(ACETOXY-2 OCTADECYLTHIO-1) PROPYL-3 PHOSPHORYLCHOLINE OU THIA-PAF', Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 21: 2, 171 – 176

To link to this Article: DOI: 10.1080/03086648408077653

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/03086648408077653>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

SYNTHESE DE LA d,l-(ACETOXY-2 OCTADECYLTHIO-1) PROPYL-3 PHOSPHORYLCHOLINE OU THIA-PAF

BERNARD GARRIGUES

ERA 926, Université Paul Sabatier, 31062 Toulouse Cédex, France

GUY BERTRAND

ERA 829, Université Paul Sabatier, 31062 Toulouse Cédex, France

DANIEL FREHEL et JEAN-PIERRE MAFFRAND*

Sanofi Recherche, Ligne Hémobiologie, 195 Route d'Espagne 31024 Toulouse
Cédex, France

(Received June 25, 1984)

d,l-thia-PAF [d,l-(2-acetoxy-1-octadecylthio)-3-propylphosphorylcholine] 2 was synthesised using a selective method of protection (CISiMe₂t-Bu) and deprotection (BF₃-Et₂O) of the primary alcohol function. This method could be used with advantage in the synthesis of other phospholipids as it avoids an isomerisation by internal trans-acylation at the deprotection step.

Nous avons synthétisé le d,l-thia-PAF [d,l-(acétoxy-2 octadécythio-1) propyl-3 phosphorylcholine] (2) en utilisant une méthode sélective de protection (CISiMe₂t-Bu)-déprotection (BF₃-Et₂O) de la fonction alcool primaire, qui pourrait être utilisée avec profit dans la synthèse d'autres phospholipides puisqu'elle permet d'éviter, au moment de la déprotection, une isomérisation par-trans-acylation interne.

INTRODUCTION

Le PAF ou PAF-acéthé (Platelet Activating Factor) 1¹ est un puissant médiateur de l'anaphylaxie et de l'inflammation. Ce phospholipide, identifié comme l'acétyl-2 O-alkyl-1 sn-glycero-3-phosphorylcholine (1) est encore appelé AGEPC (Acétyl Glycéryl Ether Phosphoryl Choline)² ou APRL (Antihypertensive Polar Renomedullary Lipid).³ Cette substance est libérée par de nombreuses espèces cellulaires, dont les polynucléaires basophiles et neutrophiles, les macrophages et les plaquettes.

Le PAF peut être également libéré par des organes (coeur de cobaye et rein de rat) perfusés *in vitro* en l'absence de toute cellule sanguine.⁴

Cette molécule pourrait être impliquée dans certains processus physiologiques et pathologiques: c'est, en effet, le plus puissant agent agrégant plaquettaire connu à ce jour.⁵

Une autre caractéristique remarquable de ce produit est d'augmenter la perméabilité vasculaire indépendamment de l'activation plaquettaire.⁶

*Author to whom all correspondence should be addressed.

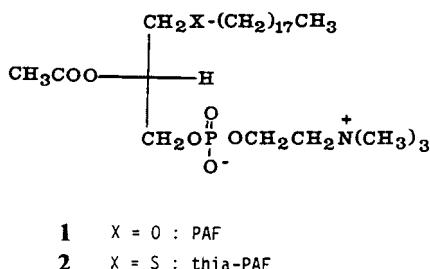


SCHÉMA 1

Le PAF est donc un médiateur ubiquitaire très puissant qui présente de nombreux effets et il n'est pas surprenant que plusieurs équipes se soient lancées dans la recherche de molécules pouvant inhiber sa libération ou son action. Ainsi plusieurs analogues structuraux ont été déjà synthétisés et testés⁷⁻¹² mais aucun d'entre-eux ne s'est avéré un bon antagoniste du PAF.

Nous présentons dans cette publication la synthèse de l'analoge sulfuré racémique **2** du PAF que l'on désignera comme thia-PAF.

SYNTHESES CHIMIQUES

Nous avons synthétisé le d,l-thia-PAF (**2**) en 6 étapes à partir du d,l-mercaptopropanediol-2,3 (**3**) (Schéma 2).

Celui-ci est facilement transformé en diol **4** par condensation avec le bromo-1 octane en présence de potasse alcoolique. Plusieurs groupes protecteurs ont été utilisés pour bloquer sélectivement la fonction alcool primaire de ce diol. Les chlorures de trityle et de tertiobutyldiméthylsilyle¹³ conduisent régiospécifiquement et avec d'excellents rendements aux composés **5a** et **5b** recherchés. Par contre, on obtient les deux isomères de position avec le chlorure de triméthylsilyle.

Par traitement avec de l'anhydride acétique en présence de pyridine, les deux alcools **5a** et **5b** sont transformés en leur dérivés acétylés **6a** et **6b**.

Le groupe trityle est le groupe protecteur le plus couramment utilisé dans les synthèses de phospholipides¹⁴ puisque la déprotection peut être réalisée très facilement par hydrogénéation catalytique, si aucune double liaison n'est à préserver dans la molécule.

Malheureusement, nous n'avons pu obtenir le composé **7** par hydrogénéation catalytique du dérivé tritylé **6a**, vraisemblablement à cause de l'empoisonnement du catalyseur par le soufre présent dans la molécule.

Nous avons alors essayé, comme Betzing *et al.*,¹² d'éliminer le groupe trityle, en chauffant **6a** dans l'acide acétique à 75%. Nous avons bien obtenu le composé **7** attendu, mais il était accompagné d'une forte proportion (30-40%) de son isomère **9**, résultant d'une trans-acylation interne¹⁵ (Schéma 3). La séparation de ces isomères n'a pu être réalisée.

Ces échecs nous ont conduits à essayer un autre groupement protecteur, le groupe tertiobutyldiméthylsilyle SiMe₂t-Bu,¹³ qui n'avait jamais été utilisé, à notre connais-

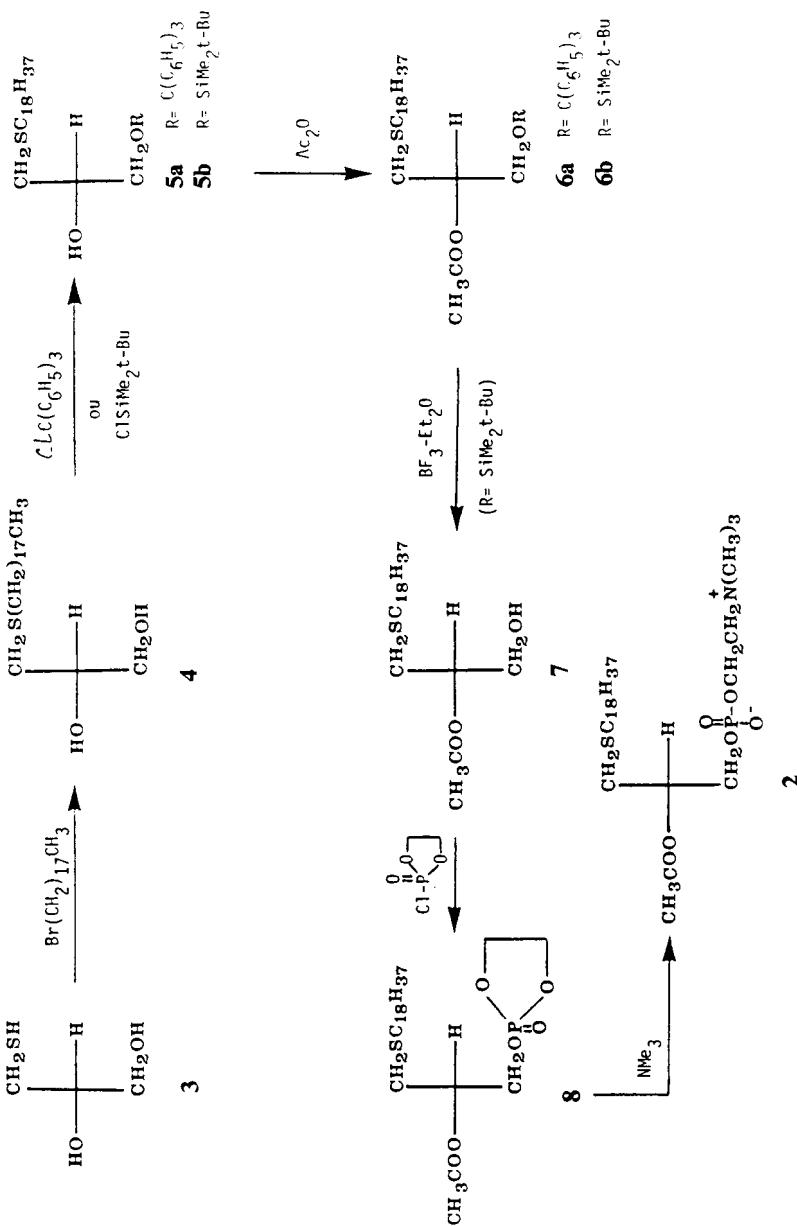


SCHÉMA 2

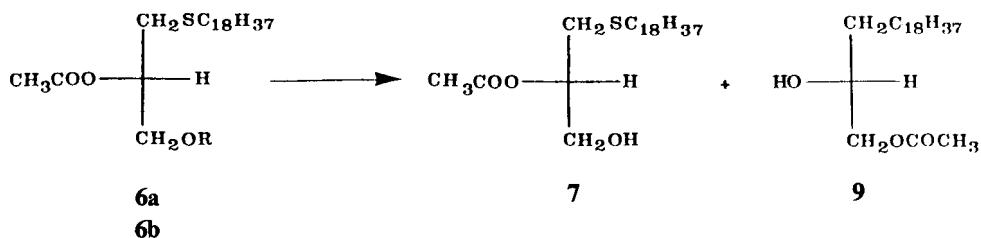


SCHÉMA 3

sance, en synthèse phospholipidique. Divers agents de déprotection ont été essayés: fluorure de tétrabutylammonium,¹³ acide fluorhydrique aqueux,¹⁵ sels de tétrafluoroborate,¹⁶ *N*-bromosuccinimide-diméthylsulfoxyde,¹⁷ éthérate de trifluorure de bore,¹⁸ mais seul ce dernier a permis d'obtenir l'alcool 7, exempt de son isomère 9. Nous avons ainsi mis au point une méthode de protection (ClSiMe₂-t-Bu)-déprotection (BF₃-Et₂O) qui doit pouvoir être utilisée avec profit dans la synthèse d'autres phospholipides, puisqu'elle permet d'éviter, au moment de la déprotection, une isomérisation partielle par trans-acylation interne. Elle peut être la méthode de choix lorsque la présence de double liaison exclut l'élimination du groupe protecteur trityle par hydrogénéation catalytique. Le chloro-2 oxo-2 dioxa-1,3 phospholane¹⁹ s'est avéré meilleur agent de phosphorylation que le dichlorure de l'acide β -bromoéthyl phosphorique.²⁰ Le phosphate 8, ainsi obtenu, a été condensé sans aucune purification, avec un excès de triméthylamine pour conduire au thia-PAF (2).

Le rendement global de la synthèse est de 36%.

PARTIE EXPERIMENTALE

Les analyses élémentaires, effectuées par le service de microanalyse de la Société Sanofi Recherche à Toulouse, ont donné des résultats conformes aux normes habituelles ($\pm 0.3\%$): ils ne sont pas publiés et seuls sont indiqués les symboles des éléments dosés.

Les points de fusion ont été déterminés sur un banc KOFLER. Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées avec des plaques de silice Merck 7734.

Les spectres infra-rouge ont été enregistrés sur un spectromètre PERKIN-ELMER 257.

Les spectres de RMN ¹H, ¹³C et ³¹P ont été enregistrés respectivement sur des appareils Hitachi-Perkin-Elmer R24A, Brucker WP80 et Perkin-Elmer R32. Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm, par rapport au TMS pris comme référence interne, dans le cas de ¹H et du ¹³C et par rapport à l'acide phosphorique, pris comme référence externe, dans le cas du ³¹P. Les constantes de couplage sont exprimées en Hz. Les abréviations utilisées sont les suivantes: s (singulet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet).

Octadécylthio-1 propanediol-2,3 (4). A une solution, agitée et maintenue sous azote, de 21.6 g (0.2 mole) de mercapto-1 propanediol-2,3 (3) et de 66.6 g (0.2 mole) de bromo-1 octadécane dans 1.5 l d'éthanol, on ajoute, goutte à goutte, 220 cm³ (0.22 mole) de potasse éthanolique normale. On abandonne à 20°C, sous agitation, pendant quatre jours. Après addition de 1.5 l d'eau, préalablement refroidie à 10°C, au milieu réactionnel, les cristaux sont filtrés et séchés sous vide.

Après recristallisation dans l'acétate d'éthyle, on récupère 66 g (Rdt: 92%) du composé 4: C₂₁H₄₄O₂S (C₂₁H₄₄O₂S), F = 76°C, rf = 0.4 (cyclohexane-acétate d'éthyle 1/1). RMN ¹H(CDCl₃): 0.95 (t, J = 7, 3 H, CH₃); 1.30 (s, 32 H, (CH₂)₁₆); 2.60 (m, 4 H, CH₂SC₁₈H₃₇); 3.70 (m, 3 H, CH₂O et CHO—). RMN ¹³C(CDCl₃): 14.57 (CH₃); 23.31 (CH₂CH₃); 66.57 (CH₂O); 73.17 (CHO—).

Octadécylthio-1 trityloxy-3 propanol-2 (5a). On agite pendant 3 jours, à température ambiante, une solution de 18 g (0.05 mole) de dérivé 4, 21 g (0.075 mole) de chlorure de triphénylméthyle et 12 g (0.11 mole) de triéthylamine dans 700 cm³ de dichloro-1,2 éthane. On ajoute de l'eau au milieu réactionnel,

décante et séche la phase organique. L'évaporation à sec de la phase organique laisse un résidu que l'on purifie par chromatographie sur colonne de silice (Merck 7734) (élution: cyclohexane-acétate d'éthyle 1/1). On obtient ainsi 33 g (Rdt: 90%) du composé **5a**: $C_{40}H_{58}O_2S$ (C,H), $F = 62^\circ C$. RMN 1H (CDCl₃): 0.90 (t, $J = 7$, 3 H, CH₂CH₃); 1.30 (s, 32 H, (CH₂)₁₆); 2.50 (m, 4 H, CH₂SCH₂); 3.20 (d, $J = 7$, 2 H, CH₂O); 3.80 (m, 1 H, CHO—); 7.30 (m, 15 H, arom.). RMN ^{13}C (CDCl₃): 14.67 (CH₂CH₃); 23.26 (CH₂CH₃); 68.56 (CH₂O); 71.52 (CHO—); 86.13 (C(C₆H₅)₃).

t-Butyldiméthylsilyloxy-1 octadécylothio-3 propanol-2 (5b). A une solution de 1.81 g (0.0265 mole) d'imidazole dans 100 cm³ tétrahydrofurane anhydre, on ajoute 4 g (0.0265 mole) de tertiobutyldiméthylchlorosilane dissous dans 100 cm³ de tétrahydrofurane.

On porte au reflux pendant 5 minutes puis on ajoute 10 g (0.0277 mole) de dérivé **4** dissous dans 200 cm³ de tétrahydrofurane. On laisse au reflux, sous agitation, pendant 24 heures. Après refroidissement, on filtre le chlorhydrate d'imidazole formé et évapore à sec le filtrat. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur colonne de silice (Merck 7734) (élution: cyclohexane-acétate d'éthyle 1/1). On obtient 9.5 g (Rdt: 72%) d'une huile incolore: $C_{27}H_{58}O_2SSi(C,H)$, $rf = 0.85$ (cyclohexane-acétate d'éthyle 1/1). RMN 1H (CDCl₃): 0.20 (s, 6 H, Si(CH₃)₂); 0.90 (t, $J = 7$, 3 H, CH₂CH₃); 1.10 (s, 9 H, C(CH₃)₃); 1.30 (s, 32 H, (CH₂)₁₆); 2.70 (m, 4 H, CH₂SCH₂); 3.75 (m, 3 H, CH₂O et CHO—). RMN ^{13}C (CDCl₃): 5.32 (Si(CH₃)₂); 14.15 (CH₂CH₃); 22.17 (CH₂CH₃); 25.93 (C(CH₃)₃); 65.90 (OCH₂); 70.77 (CHO—).

Acétate d'(octadécylothio-1 trityloxy-3) propyle-2 (6a). On chauffe à 50°C, sous agitation, pendant 12 heures, un mélange de 12 g (0.02 mole) de dérivé **5a**, 30 cm³ de pyridine, 15 cm³ d'anhydride acétique et 300 cm³ de chloroforme. Après refroidissement, on ajoute 200 cm³ d'eau et décante la phase organique. Après lavage à l'eau, on séche la phase organique sur du sulfate de sodium et évapore à sec. L'huile résiduelle est purifiée par chromatographie sur colonne de silice (Merck 7734) (élution: cyclohexane-acétate d'éthyle 9/1). On obtient 10.7 g (Rdt: 84%) d'une huile incolore qui solidifie après quelques heures à température ambiante: $C_{42}H_{60}O_3S(C,H)$, $F < 30^\circ C$, $rf = 0.60$ (éther-éther de pétrole 15/85). IR (film): 1740 cm⁻¹ (ν C=O). RMN 1H (CDCl₃): 0.90 (t, $J = 7$, 3 H, CH₂CH₃); 1.30 (s, 32 H, (CH₂)₁₆); 2.10 (s, 3 H, COCH₃); 2.40 (t, $J = 7$, 2 H, SCH₂CH₂); 2.75 (d, $J = 7$, 2 H, SCH₂); 3.25 (s, 2 H, OCH₂); 5.10 (m, 1 H, CHO—); 7.30 (m, 15 H, arom.). RMN ^{13}C (C₅D₅N): 14.67 (CH₂CH₃); 21.41 (COCH₃); 23.36 (CH₂CH₃); 65.01 (OCH₂); 73.26 (CHO—); 87.64 (C(C₆H₅)₃); 170.85 (C=O).

Acétate de (t-butyldiméthylsilyloxy-1 octadécylothio-3) propyle-2 (6b). On chauffe à 60°C, sous argon, pendant 24 heures, une solution de 3.91 g (0.0082 mole) de dérivé **5b**, 1.53 g (0.0148 mole) d'anhydride acétique et 1.7 g (0.0213 mole) de pyridine dans 300 cm³ de dichloro-1,2 éthane. La solution évaporée à sec laisse une huile que l'on purifie par chromatographie sur colonne de silice (Merck 7734) (élution: cyclohexane-acétate d'éthyle 9/1). On obtient 3.83 g (Rdt: 90%) d'une huile incolore: $C_{29}H_{60}O_3SSi(C,H)$, $rf = 0.69$ (cyclohexane-acétate d'éthyle 9/1). IR (film): 1740 cm⁻¹ (ν C=O). RMN 1H (CDCl₃): 0.20 (s, 6 H, Si(CH₃)₂); 0.90 (t, $J = 7$, 3 H, CH₂CH₃); 1.00 (s, 9 H, C(CH₃)₃); 1.30 (s, 32 H, (CH₂)₁₆); 2.15 (s, 3 H, COCH₃); 2.70 (m, 4 H, CH₂SCH₂); 3.85 (d, $J = 7$, 2 H, OCH₂—); 5.00 (m, 1 H, CHO—). RMN ^{13}C (CDCl₃): 5.44 (Si(CH₃)₂); 13.97 (CH₂CH₃); 20.95 (COCH₃); 22.65 (CH₂CH₃); 25.30 (C(CH₃)₃); 63.07 (OCH₂—); 170.88 (C=O).

Acétate d'(hydroxy-1 octadécylothio-3) propyle-2 (7). A une solution de 0.516 g (0.001 mole) de dérivé **6b** dans 5 cm³ de chloroforme anhydre, on ajoute, sous atmosphère d'argon, 0.5 g d'étherate de trifluorure de bore et laisse sous agitation pendant une heure à température ambiante. On détruit l'excès de trifluorure de bore avec une solution aqueuse de bicarbonate de sodium à 5% et extrait avec du chloroforme.

Les extraits chloroformiques, lavés avec de l'eau, sont séchés sur sulfate de sodium. L'évaporation à sec du chloroforme laisse 0.33 g (Rdt: 84%) de produit cristallin $C_{23}H_{46}O_3S(C,H)$, $F < 30^\circ C$, $rf = 0.15$ (chloroforme). IR (KBr): 1740 cm⁻¹ (ν C=O). RMN 1H (CDCl₃): 0.90 (t, $J = 7$, 3 H, CH₂CH₃); 1.30 (s, 32 H, (CH₂)₁₆); 2.15 (s, 3 H, COCH₃); 2.50 (t, $J = 7$, SCH₂CH₂); 2.70 (d, $J = 7$, 2 H, CH₂S); 3.80 (d, $J = 7$, 2 H, OCH₂—); 4.95 (m, 1 H, CHO—). RMN ^{13}C (CDCl₃): 14.12 (CH₂CH₃); 21.14 (COCH₃); 22.75 (CH₂CH₃); 63.47 (OCH₂—); 74.22 (CHO—); 170.95 (C=O).

(Acétoxy-2 octadécylothio-1) propyl-3 phosphorylcholine (thia-PAF) (2). On agite pendant 24 heures à température ambiante, sous atmosphère d'argon, une solution de 1.45 g (0.0036 mole) de dérivé **7**, 0.56 g (0.004 mole) de chloro-2 oxo-2 dioxa-1,3 phospholane et 0.4 g (0.004 mole) de triéthylamine dans 10 cm³ de tétrahydrofurane anhydre. Le chlorhydrate de triéthylamine formé est filtré et le filtrat évaporé à sec. Le produit **8** contenu dans le résidu est très sensible à l'hydrolyse et sa conservation, même à froid, est délicate. On le dissout donc, immédiatement dans 50 cm³ d'acétonitrile anhydre contenant un large excès de triméthylamine. Le mélange réactionnel est abandonné, sous bonne agitation et sous atmosphère inerte, pendant 48 heures. Le thia-PAF (2) précipite dans le milieu réactionnel. Après filtration, on achève sa purification par chromatographie sur colonne de silice (Merck 7734) (élution: chloroforme-méthanol-eau 65/15/5). On obtient un produit très hygroscopique, ayant un point de fusion mal défini. On obtient

use forme hydratée stable avec 2.7 molécules d'eau: $C_{28}H_{58}NO_6PS$, 2.7 H_2O (C, H, N), Rdt: 71%; $rf = 0.06$ (chloroforme-méthanol-eau 65/15/5). RMN 1H ($CDCl_3$): 0.90 (t, $J = 7$, 3 H, CH_3-CH_2); 1.3 (s, 32 H (CH_2)₁₆); 2.0 (s, 3 H, CH_3-CO); 2.8-2.3 (m, 4 H, CH_2-S-CH_2); 3.3 (s, 9 H, CH_3-N); 4.8-3.5 (m, 7 H, CH_2O , CH_2-N). RMN ^{13}C ($CDCl_3$): 14.03 (CH_2CH_3); 21.19 ($COCH_3$); 22.71 (CH_2CH_3); 54.33 ($N(CH_3)_3$); 59.36 (NCH_2); 65.31 ($P-OCH_2CH_2$); 66.23 ($CHCH_2O$); 72.72 (CHO —); 170.72 ($C=O$). RMN ^{31}P (H_3PO_4): -1. Spectre de masse (ionisation chimique): $MH^+ = 568$.

BIBLIOGRAPHIE

1. B. B. Vargaftig et J. Benveniste, *Trends in Pharm. Sci.*, **4**, 341 (1983).
2. (a) C. A. Demopoulos, R. N. Pinckard et D. J. Hanahan, *J. Biol. Chem.*, **254**, 9355 (1979); (b) J. J. Godfroid, F. Heymans, E. Michel, C. Redeuill, E. Steine et J. Benveniste, *Febs Lett.*, **116**, 161 (1980).
3. M. L. Blank, F. Snyders, L. W. Byers, B. Brooks et E. E. Muirhead, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **90**, 1194 (1979).
4. J. Benveniste, *Behring Inst. Mitt.*, **68**, 92 (1981).
5. B. Vargaftig, M. Chignard et J. Benveniste, *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 263 (1981).
6. D. M. Humphrey, L. M. Mc. Manus, K. Satduchi, D. J. Hanahan et R. N. Pinckard, *Lab. Invest.*, **46**, 422 (1982).
7. M. Tence, E. Coeffier, F. Heymans, J. Polonsky, J. J. Godfroid et J. Benveniste, *Biochimie*, **63**, 1981 (1981).
8. P. Hadvary et H. R. Baumgartner, *Thrombosis Res.*, **30**, 1981 (1983).
9. J. T. O'Flaherty, W. L. Salzer, S. Cousart, C. E. Mc Call, C. Piantadosi, J. R. Surles, M. J. Hammett et R. L. Wykle, *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **39**, 291 (1983).
10. N. S. Chandrakumar et J. Hajdu, *Tetrahedron Lett.*, **22**, 2949 (1981).
11. B. Garrigues, G. Bertrand et J. P. Maffrand, accepté à *Synthesis*.
12. H. Betzing, F. Wirtz-Peitz et G. Prop, European Patent Application, N° 43472 (1981).
13. E. J. Corey et A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 6190 (1972).
14. F. Paltauf, *Chem. Phys. Lipids.*, **11**, 270 (1973).
15. (a) G. K. Chaku et D. J. Hanahan, *Biochim. Biophys. Acta*, **164**, 252 (1968); (b) R. F. Newton, D. P. Reynolds, M. A. W. Finch, D. R. Kelly et S. M. Roberts, *Tetrahedron Lett.*, **20**, 3981 (1979).
16. B. W. Metcalf, J. P. Burkhardt et K. Jund, *Tetrahedron Lett.*, **21**, 35 (1980).
17. R. J. Batten, A. J. Dixon et R. J. K. Taylor, *Synthesis*, 234 (1980).
18. R. D. Kelly, S. M. Roberts et R. F. Newton, *Synthetic. Comm.*, **9**, 295 (1978).
19. N. T. Thuong et P. Chabrier, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 667 (1974).
20. H. K. Mangold, *Angew Chem. Internat. Edit.*, **18**, 493 (1979).