

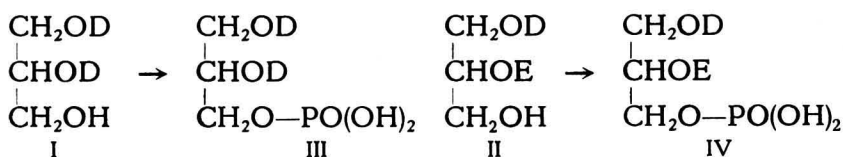
**Chemistry.** — *Synthesen von Glycerophosphatidsäuren und Glycerophosphatiden.* Von P. E. VERKADE und J. VAN DER LEE.

(Communicated at the meeting of November 27, 1937.)

§ 1. Vor kurzem haben VERKADE, VAN DER LEE, Frll. DE QUANT und DE ROY VAN ZUYDEWIJN<sup>1)</sup> den schon bekannten Methoden, die bisher von wenig Bedeutung sind und hier unerwähnt bleiben können, eine neue und einfache Methode für die Herstellung von einsäurigen und zweisäurigen  $\alpha\beta$ -Diglyceriden (I, bezw. II) hinzugefügt. Diese Methode — bestehend in der katalytisch-reduktiven Detritylierung von  $\alpha\beta$ -Diacyl- $\gamma$ -tritylglycerolen in neutralem Milieu — ist, wenigstens im Prinzip, für die Herstellung aller gewünschten  $\alpha\beta$ -Diglyceride anwendbar, falls diese keine unter den Umständen des Versuchs reduzierbare Säurekomponenten (z.B. ungesättigte Fettsäuren) enthalten müssen.

Es darf erwartet werden, dass sich in diese Diglyceride durch Einwirkung von Phosphoroxychlorid bei Zimmertemperatur in Gegenwart von Pyridin oder Chinolin immer leicht ein endständiger Phosphorsäurerest einführen lassen wird, d.h. dass hierdurch viele sog.  $\alpha$ -Phosphatidsäuren (III, bezw. IV) auf einfache Weise zugänglich geworden sind. Wir werden hinfort Substanzen vom Typus III als *zweisäurige* und solche vom Typus IV als *dreisäurige*  $\alpha$ -Phosphatidsäuren bezeichnen; auf analoge Weise werden dann selbstverständlich die beiden Typen von  $\beta$ -Phosphatidsäuren und von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phosphatiden unterschieden werden müssen.

(D, bezw. E = Acylgruppe)



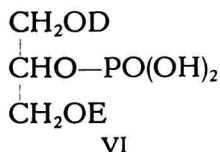
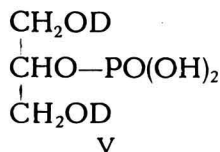
Durch von VERKADE, VAN DER LEE und Frll. MEERBURG<sup>2)</sup>, bezw. von VERKADE und VAN DER LEE<sup>3)</sup> angestellte Untersuchungen sind viele einsäurige und zweisäurige  $\alpha\gamma$ -Diglyceride — darunter gerade für unseren Zweck sehr wichtige, welche nur Fettsäuren als Säurekomponenten enthalten — leichter, in reinerem Zustande und mit besserer Ausbeute als bisher zugänglich geworden. Für die eventuelle Synthese von *zweisäurigen*

<sup>1)</sup> Proc. Royal Acad. Amsterdam, **40**, 580 (1937).

<sup>2)</sup> Rec. trav. chim., **54**, 716 (1935).

<sup>3)</sup> Ibid., **55**, 267 (1936).

und dreisäurigen  $\beta$ -Phosphatidsäuren (V, bzw. VI) durch Phosphorylierung von  $\alpha\gamma$ -Diglyceriden auf obengenannte Weise, ist diese Tatsache selbstredend von grosser Bedeutung.



Die Einführung eines Phosphorsäurerestes in Diglyceride mit Hilfe von Phosphoroxchlorid ist zuerst von GRÜN und MEMMEN angewandt. Diese Untersuchung ist bis heute nicht in extenso veröffentlicht. Die Tatsache wird kurz in GRÜN's Beitrag über die Phosphatide in HEFTER-SCHÖNFELD's „Chemie und Technologie der Fette und Fettprodukte“<sup>4)</sup> erwähnt. Einige Anwendungen dieses Verfahrens sind im D.R.P. 608.074 (1932) auf Namen HOFFMANN-LA ROCHE & CO., A.-G. beschrieben. Als Ausgangsmaterial dienten hier vermutlich auf technischem Wege hergestellte Diglyceride, in welchem Falle die erhaltenen Produkte wohl Gemische von Phosphatidsäuren der  $\alpha$ - und der  $\beta$ -Reihe gewesen sein werden. Das von WAGNER-JAUREGG und ARNOLD<sup>5)</sup> unter dem Namen „ $\alpha\gamma$ -Dichaulmoogroylglycerol- $\beta$ -phosphorsäure“ beschriebene, aus „ $\alpha\gamma$ -Dichaulmoogrin“ nach dem Verfahren von GRÜN und MEMMEN hergestellte Produkt war fraglos ein kompliziertes Gemisch.

Soweit uns bekannt, wurden bisher nur zwei mehr oder weniger reine  $\beta$ -Phosphatidsäuren in der Literatur beschrieben, und zwar die  $\alpha\gamma$ -Dibenzoylglycerol- $\beta$ -phosphorsäure von SUZUKI und MARUYAMA<sup>6)</sup> und die Dipalmitylverbindung (in Form eines Salzes) von KABASHIMA und SUZUKI<sup>7)</sup>; diese Produkte waren jedoch ausgehend von Glycerol- $\beta$ -phosphorsäure erhalten. Auf diese Weise sind allein zweisäurige  $\beta$ -Phosphatidsäuren, aber dann auch ohne Ausnahme und sehr leicht zugänglich. Von Bedeutung ist hierbei eine neue, einfache Methode für die Herstellung von Glycerol- $\beta$ -phosphorsäure, welche wir bald zu veröffentlichen hoffen; hierbei dient  $\alpha\gamma$ -Ditrylglycerol als Ausgangsmaterial.

Was die  $\alpha$ -Phosphatidsäuren anbelangt, ist bisher ausgehend von einem Diglycerid nur die Herstellung von  $\alpha\beta$ -Distearylglycerol- $\gamma$ -phosphorsäure erst von GRÜN und KADE<sup>8)</sup> und später (in Form von Salzen) noch zweimal von GRÜN und LIMPÄCHER<sup>9)</sup> beschrieben worden. Von einer reinen Substanz war hier aber fraglos keine Rede. Einerseits war wenigstens das von GRÜN und KADE benutzte Ausgangsmaterial wohl keineswegs reines

<sup>4)</sup> Band I, S. 483 (1936).

<sup>5)</sup> Ber., 70, 1459 (1937).

<sup>6)</sup> Proc. Imp. Acad. (Tokyo), 6, 67 (1930).

<sup>7)</sup> Ibid., 8, 492 (1930).

<sup>8)</sup> Ber., 45, 3358 (1912).

<sup>9)</sup> Ber., 59, 1345 (1926); 60, 266 (1927).

$\alpha\beta$ .Distearin. Andererseits erfolgte die Einführung des Phosphorsäurerestes immer in der von HUNDESHAGEN herrührenden Weise, nämlich durch Erhitzen des Diglycerids mit Phosphorpentoxyd, und es ist zweifellos, — wir verweisen hierfür nach § 2 —, dass hierbei eine teilweise Isomerisierung des Diglycerids eingetreten ist.

Zweisäurige  $\alpha$ .Phosphatidsäuren sind wieder ausnahmslos und leicht ausgehend von Glycerol- $\alpha$ .phosphorsäure zugänglich. Die letztgenannte Säure ist ausgehend von Acetonglycerol leicht zu erhalten<sup>10)</sup>. Mit Hilfe von aus natürlichen Phosphatiden isolierter, optisch-aktiver Glycerol- $\alpha$ .phosphorsäure haben KARRER und BENZ<sup>11)</sup> die Diacetylverbindung hergestellt.

§ 2. Von GRÜN und dessen Mitarbeitern sind einige  $\alpha$ - und  $\beta$ .Phosphatide beschrieben worden, die alle ausgehend von einem geschmolzenen Diglycerid durch aufeinanderfolgendes Verrühren mit Phosphorpentoxyd und Cholinbikarbonat, bzw. Colaminkarbonat hergestellt waren. Wir werden uns hier nur mit den Distearyl-lecithinen<sup>12)</sup> und den Distearyl-kephalinen<sup>13)</sup> beschäftigen. Hierbei ergab sich nämlich die merkwürdige Tatsache, dass zwischen den Eigenschaften der aus  $\alpha\beta$ .Distearin und  $\alpha\gamma$ .Distearin hergestellten Produkte praktisch keine Unterschiede gefunden wurden. GRÜN und LIMPÄCHER haben denn auch schon die Möglichkeit geäußert, — einen sicheren Schluss in diesem Sinne wagten sie mit Recht aus der genannten Tatsache nicht zu ziehen —, dass während dieser Synthesen Umlagerungen eingetreten sind und aus beiden Distearinen entweder dasselbe Phosphatid oder dasselbe Gemisch der beiden isomeren Phosphatide entstanden ist.

In diesem Zusammenhange möge nunmehr die Phosphorylierung durch Erhitzen mit Phosphorpentoxyd etwas näher besprochen werden. GRÜN<sup>14)</sup> hat nachweisen können, dass z.B. die beiden Distearine sich bei mehrstündigem Erhitzen eben über ihren Schmelzpunkt oder schneller bei 120—140° isomerisieren, sodass ein Gleichgewichtszustand eintritt, bei welchem ein beträchtlicher Prozentsatz von jedem der Isomere vorhanden ist. Es hat sich uns nun gezeigt, dass Zusatz einer kleinen Menge Phosphorpentoxyd zu den geschmolzenen, auf 80—85° erhitzten Diglyceriden — bei etwa dieser Temperatur führen GRÜN c.s. die Phosphorylierung aus — die wechselseitige Umlagerung der Isomere sehr bedeutend beschleunigt. Zweifelsohne sind denn auch die von GRÜN und seinen Mitarbeitern in der genannten Weise erhaltenen Phosphatide immer Gemische gewesen. Die aus  $\alpha\beta$ - und aus  $\alpha\gamma$ .Distearin entstandenen Gemische können jedoch in keinem Falle identisch gewesen sein, da die Phosphorylierung ja nicht

<sup>10)</sup> Vgl. z.B. FISCHER und PFÄHLER, Ber., 53, 1606 (1920).

<sup>11)</sup> Helv. chim. acta, 10, 87 (1927).

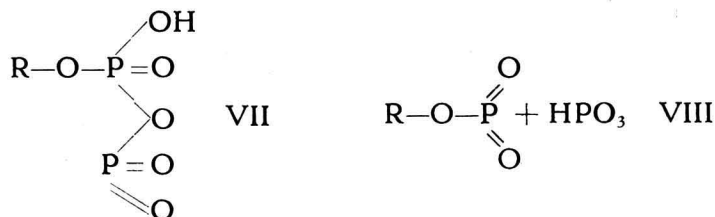
<sup>12)</sup> GRÜN und LIMPÄCHER, Ber., 59, 1350 (1926); 60, 147 (1927).

<sup>13)</sup> GRÜN und LIMPÄCHER, Ber., 60, 151 (1927).

<sup>14)</sup> Vgl. HEFTER-SCHÖNFELD, Band I, 234, 250 (1936); KIRCH, Inaug.-Diss. Technische Hochschule Dresden (1928).

wartet, bis die Einstellung des Gleichgewichtes erfolgt ist. Jedenfalls ist hier die Phosphorylierung mit Phosphorpentoxyd in präparativer Hinsicht absolut wertlos.

Es scheint uns nicht unmöglich, dass der eigentliche Katalysator bei dieser gegenseitigen Umlagerung von Diglyceriden das saure Reaktionsprodukt dieser Substanzen mit Phosphorpentoxyd ist, für dessen Zusammensetzung GRÜN die Möglichkeiten VII und VIII (R = Diglyceridrest)



äusserte. Wir hätten dann mit einem interessanten Fall von Autokatalyse zu tun. Bei dieser Annahme sind wir der von STIMMEL und KING<sup>15)</sup> gefundenen Umlagerung von  $\beta$ .Monopalmitin unter Einfluss von kalter alkoholischer Salzsäure und der Tatsache eingedenk, dass wir selbst bei  $\alpha\beta$ .Diglyceriden eine derartige Labilität gegenüber Mineralsäure angetroffen haben. Es drängt sich die Frage auf, inwieweit diesen Acylwanderungen, und dann auch solchen Wanderungen im allgemeinen, immer Gleichgewichtseinstellungen unter katalytischem Einfluss zugrunde liegen. Es liegt ausserhalb des Rahmens dieser Abhandlung sich hierüber weiter zu verbreiten; nähere Untersuchung des Mechanismus der Acylwanderungen ist fraglos erwünscht.

Bei Phosphorylierung von Diglyceriden mit Hilfe von Phosphoroxychlorid bei Zimmertemperatur in Gegenwart von Pyridin oder Chinolin braucht, auf Grund der Erfahrung bei Einführung anderer Gruppen in ähnlicher Weise, keine Störung des Reaktionsverlaufes infolge Umlagerung dieser Substanzen befürchtet zu werden.

§ 3. Ausgehend von jetzt — mit durch unsere Arbeiten — zur Verfügung stehenden  $\alpha$ .Phosphatidsäuren ist nun, wie wir glauben annehmen zu dürfen, die Synthese von reinen *zweisäurigen* und *dreisäurigen*  $\alpha$ .Phosphatiden (Lecithinen, Kephallinen u. dergl.) möglich geworden. Ausserdem wird der Umstand, dass viele  $\beta$ .Phosphatidsäuren als Resultat von in unserem Laboratorium ausgeführten Untersuchungen leichter zugänglich geworden sind, selbstverständlich von diesen Säuren ausgehenden Versuchen zur Synthese von *zweisäurigen* und *dreisäurigen*  $\beta$ .Phosphatiden zustatten kommen.

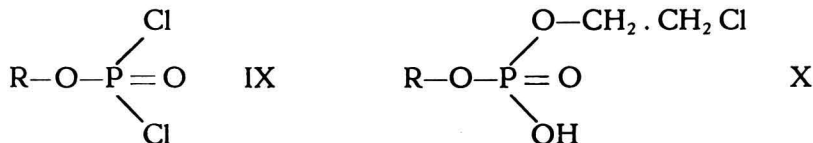
Es erübrigt sich für unseren Zweck, jetzt eingehend zu untersuchen, auf welche Weisen eine solche Synthese von Phosphatiden in Angriff zu nehmen ist. Es sei hier nur auf die Synthese von Dipalmityl- $\beta$ .lecithin und Dipalmityl- $\beta$ .kephalin durch KABASHIMA und SUZUKI<sup>7)</sup> hingewiesen, die

<sup>15)</sup> J. Am. Chem. Soc., 56, 1724 (1934).

einen zuverlässigen Eindruck macht und unmittelbar zum Ziele führt. Diese Forscher setzen nämlich das Monosilbersalz von  $\alpha\gamma$ -Dipalmitylglycerol- $\beta$ -phosphorsäure mit Hilfe von ( $\beta$ -Bromäthyl)trimethylammoniumpikrat, bezw.  $\beta$ -Bromäthylammoniumpikrat und zwar durch Erhitzen auf 85—90° während einiger Stunden in acetonisch-benzenischer Lösung um. Nach den von den genannten Forschern gemachten Angaben zu urteilen, würde hierbei in der Tat reine  $\beta$ -Phosphatide entstanden sein.

Es muss hier noch erwähnt werden, dass nach GRÜN und LIMPÄCHER <sup>16)</sup> auch  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phosphatidsäuren und ihre Salze sich wechselseitig umlagern. Unseres Erachtens enthalten die betreffenden Abhandlungen jedoch keine einzige Tatsache, die mit Recht als Beweis oder Stütze für diese Behauptung angeführt werden kann. Nähere Untersuchung wird lehren können, ob diese Isomerisierung in der Tat stattfindet und im bejahenden Falle, unter welchen Umständen und in welchem Masse. Es ist selbstverständlich, dass die Herstellung von wirklich reinen Phosphatiden aus den Phosphatidsäuren durch eine solche Isomerisierung, gesetzt, dass diese leicht vor sich ginge, erschwert werden könnte. Die Resultate der in einer Abhandlung von KARRER und BENZ <sup>11)</sup> beschriebenen Untersuchungen, diejenigen der schönen Arbeiten über Phosphatide aus der Schule von SUZUKI und auch die Stabilität der beiden Glycerolphosphorsäuren <sup>17)</sup> sind Fingerzeige dafür, dass diesbezügliche Schwierigkeiten nicht oder kaum zu erwarten sind.

Auch sei noch auf zwei von GRÜN <sup>18)</sup> sehr kurz angegebene Methoden hingewiesen, welche ebenfalls — nun neben den  $\alpha\gamma$ -Diglyceriden auch die  $\alpha\beta$ -Isomeren leicht zugänglich geworden sind — die Synthese von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Phosphatiden von unverdächtigter Konstitution gestatten sollen und wobei die korrespondierenden Phosphatidsäuren nicht als Zwischenprodukte auftreten. Nach der einen Methode wird das bei der Einwirkung von Phosphoroxchlorid auf ein Diglycerid in Gegenwart von Pyridin entstandene Produkt IX (R = Diglyceridrest) nicht hydrolysiert, sondern direkt mit  $\beta$ -Chloräthanol in Reaktion gebracht, wobei die Substanz X entstehen kann, worauf man dann Trimethylamin einwirken lässt. Nach der anderen



Methode — diese scheint schon von GRÜN angewandt worden zu sein, doch nähere Angaben hierüber fehlen — wird die Reihenfolge der Reaktionen einigermaßen verwechselt; die Substanz X wird hier dadurch erhalten, dass man Phosphoroxchlorid in Gegenwart von Pyridin mit

<sup>16)</sup> Ber., 60, 266 (1927); vgl. auch GRÜN und LIMPÄCHER, *ibid.*, 60, 255 (1927).

<sup>17)</sup> Siehe z.B., neben der schon zitierten Literatur, SUZUKI und MARUYAMA, *Proc. Imp. Acad. (Tokyo)*, 6, 67 (1930) und BAILLY und GAUMÉ, *C. r.*, 198, 2258 (Fussnote) (1934).

<sup>18)</sup> HEFTER-SCHÖNFELD, Band I, 485 (1936).

$\beta$ -Chloräthanol reagieren und erst danach ein Diglycerid einwirken lässt. Es hat keinen Zweck, diese Methoden, die sich möglicherweise noch etwas modifizieren lassen, hier bezüglich ihres eventuellen Wertes in experimenteller Hinsicht mit anderen, von Phosphatidsäuren ausgehenden Methoden zu vergleichen.

§ 4. Glycero-phosphatide (Lecithine und Kephaline) und zwar Repräsentanten der  $\alpha$ - und der  $\beta$ -Reihe, und sehr wahrscheinlich auch Glycero-phosphatidsäuren, spielen im Pflanzen- und Tierreich eine ausserordentlich wichtige Rolle. Namentlich SUZUKI und seine Mitarbeiter haben versucht, aus Naturprodukten (Sojabohnen, menschlichem Gehirn) individuelle Phosphatide zu isolieren und in der Tat mehrere solche Substanzen, durchweg in Form ihrer Bromadditionsprodukte, beschrieben. Wahrscheinlich müssen die Ergebnisse dieser Untersuchungen mit Vorbehalt akzeptiert werden. Indessen rechtfertigen sie unseres Erachtens wohl die Auffassung, dass im pflanzlichen und tierischen Organismus eine ausgesprochene Vorliebe für Bildung *dreisäuriger* Phosphatide vorhanden ist. Ein Analogon dieser Erscheinung finden wir bei den Fetten; man kann nämlich fast sagen, dass hier, wenn möglich, gemischte Triglyceride gebildet werden. In Anbetracht des Umstandes, dass zwischen beiden Klassen von Verbindungen genetischer Zusammenhang besteht, liegt eine solche Uebereinstimmung auf der Hand.

Im Hinblick auf die ausserordentliche Wichtigkeit dieser Substanzen kennzeichnet sich die Entwirrung natürlicher Phosphatidgemische zweifelsohne als ein Aufgabe von grosser Bedeutung. Wir brauchen uns hier nicht über die Möglichkeiten und Schwierigkeiten solcher Untersuchungen zu verbreiten. Sie werden selbstredend noch bedeutend an Wert gewinnen, wenn zugleich die Konstitution der isolierten individuellen Phosphatide vollständig bestimmt werden kann. Dies ist wohl allein durch Vergleichung der isolierten Substanzen — eventuell in Form von Bromadditions- oder Hydrierungsprodukten — mit auf synthetischem Wege erhaltenen Produkten möglich. Für soweit es sich hierbei um dreisäurige Phosphatide handelt, stehen für die Herstellung von diesem Vergleichungsmaterial zurzeit allein die oben besprochenen, von zweisäurigen Diglyceriden ausgehenden Wege zur Verfügung. Ausdrücklich sei nochmals hervorgehoben, dass diese leider noch nicht die Herstellung von jedem gewünschten dreisäurigen Phosphatid ermöglichen; z.B. ist dies nicht der Fall für  $\alpha$ -Phosphatide mit ungesättigten Säurekomponenten. Zweisäurige Phosphatide sind nicht nur ausgehend von einsäurigen Diglyceriden, sondern auch, und dann ohne Ausnahme, ausgehend von den Glycerolphosphorsäuren zugänglich.

Die Konstitution eventuell isolierter Phosphatidsäuren wird in analoger Weise bestimmt werden müssen.

Ferner ist es als höchst wichtig zu erachten, Phosphatidsäuren und vor allem Phosphatide von beiden Reihen in reicher Auswahl in reinem

Zustände herzustellen, — wobei natürlich die Säurekomponenten auch mit Berücksichtigung derjenigen der Naturprodukte gewählt werden müssen —, ihre chemischen, physikalischen und physiologischen Eigenschaften zu untersuchen und die Eigenschaften isomerer Repräsentanten der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Reihe zu vergleichen. Es ist wohl kaum zweifelhaft, dass derartige Untersuchungen in physiologisch-chemischer Hinsicht zu interessanten Resultaten führen werden, umso mehr, da auch von anderen Basen als Cholin oder Colamin abgeleitete Phosphatide in die Untersuchungen einbezogen werden können.

Diese Abhandlung bezweckt nur auf dies alles die Aufmerksamkeit hinzulenken, auf neue Möglichkeiten für die Synthese der hier in Frage stehenden Substanzen hinzuweisen und — für soweit dies tunlich ist — das betreffende Gebiet für uns zu reservieren.

§ 5. Selbstverständlich wird der Wunsch rege, auch *Lysophosphatid-säuren* und *Lysophosphatide* von völlig bekannter Konstitution in die soeben angedeuteten mehr allgemeinen Untersuchungen einbeziehen zu können. Bei Verwendung tritylierter Glycerolderivate als Ausgangsmaterialien liegen in dieser Richtung fraglos Möglichkeiten vor. Wir hoffen, hierauf später zurückzukommen.

Rotterdam, Dezember 1937.

*Laboratorium der Niederländischen Handels-Hochschule.*

---

**Anatomy.** — *The osteone arrangement of the thigh-bone compacta of Man identical with that, first found, of Pithecanthropus.* By EUG. DUBOIS.

(Communicated at the meeting of November 27, 1937.)

The evidence of the existence, on the six hitherto acquired thigh-bones of *Pithecanthropus*, of certain distinctly deviating external features, common to all of them, in so far as these features fall within the limits of the preserved parts, "firmly established that "the Trinil femur" was not quite of the human, but of a different type and belonged to a different organism". This is a conclusion which harmonizes with the result, in this respect, of my researches on the cephalization.

Further evidence of difference from the human femur appeared to be given, seemingly, by the Fifth fossil Trinil femur, clearly showing an osteone arrangement of the compact bone substance, which strikingly deviates from that generally believed, though erroneously as now turns out, to exist in Man. I may here refer to the description, the plates and