1,2-双十六烷基-3-甘油-磷酸乙醇胺的合成研究

张 越 张鹏涛 于广利 李春霞*

(中国海洋大学医药学院 海洋药物教育部重点实验室 山东省糖科学与糖工程重点实验室 青岛 266003)

摘要 1,2-双十六烷基-3-甘油-磷酸乙醇胺(DHPE)属于甘油磷脂的一种,在生物学方面具有广泛的应用.报道了化合物 DHPE 的合成,合成路线以(S)-(+)-甘油醇缩丙酮、十六醇、乙醇胺为起始原料,得到了关键中间体 1,2-双十六烷基甘油醇和 Boc 保护乙醇胺,然后通过 Still-Gennari 试剂将二者进行偶联,随后利用 Horner-Wadsworth-Emmons 反应高效的脱去磷脂上的乙酸甲酯基团,最终经过 8 步反应,以 32%的总收率得到目标化合物 DHPE.

关键词 DHPE; 甘油磷脂; 合成; Horner-Wadsworth-Emmons 反应

Synthesis of 1,2-Dihexadecyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine

Zhang, Yue Zhang, Pengtao Yu, Guangli Li, Chunxia*

(Key Laboratory of Glycoscience and Glycotechnology of Shandong Province, Key Laboratory of Marine Drugs, Ministry of Education, School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003)

Abstract 1,2-Dihexadecyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine (DHPE) is one type of glycerophospholipids, and it has a wide range of application in biology. A new and efficient method was developed to synthesis DHPE using (S)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolane-4-methanol, hexadecanol and ethanolamine as starting materials. 1,2-Dihexadecyl-*sn*-glycerol and *N*-Boc-ethanolamine were synthesized as two key intermediates, which were coupled under condition of Still-Gennari reagent. Then Horner-Wadsworth-Emmons reaction condition was applied to deprotect methyl acetate group of glycerophospholipid efficiently. The target compound DHPE was obtained in 32% overall yield by 8 steps.

Keywords DHPE; glycerophospholipids; synthesis; Horner-Wadsworth-Emmons reactions

磷脂是普遍存在于生物界中的含磷脂类,是生物细胞膜的构成物质,也是生命的基础物质之一^[1]. 20 世纪 70 年代以来,随着分子生物学发展,逐步发现磷脂是众多信息分子前体的储备形式,同时也是细胞传递信息、合成脂蛋白、代谢脂肪的活性物质,亦是产生心、脑疾病以及循环、呼吸、生殖等系统疾病的化学媒介^[2,3]. 磷脂代谢与化学信息分子已成为当今分子生物学、生物医学的前沿研究领域.

磷脂主要包括含甘油的甘油磷脂和含鞘氨醇的鞘磷脂两大类,其中甘油磷脂根据分子中脂肪链和甘油的结合形式,可分为酯型甘油磷脂和醚型甘油磷脂^[1],广泛分布于动物、植物及微生物体内. 1,2-双十六烷基-3-甘油-磷酸乙醇胺(DHPE)属于醚型甘油磷脂,由烷基脂

肪链、手性甘油骨架和磷酸极性头三部分组成,其中烷基脂链通过醚键与甘油骨架连接. DHPE 类的磷脂多见于细菌膜^[4]、心肌质膜^[5]、免疫细胞^[6]和一些肿瘤细胞中^[7].

近年来,随着糖芯片技术的蓬勃发展, DHPE 及其衍生物广泛应用于拟糖脂糖芯片的制备和糖生物学的研究. Feizi 小组^[8]利用还原胺化反应将寡糖与 DHPE 进行偶联制备拟糖脂糖探针(Neoglycolipid),通过脂链与固体基质之间的疏水作用将寡糖固定在基质表面,使寡糖以簇的形式展示在基质上,从而模拟生物体内的糖与蛋白质之间的相互作用. 2000 年, Stoll 等^[9]以 DHPE 为原料合成了一种带有荧光基团的磷脂 *N*-氨乙酰基-*N*-(9-蒎甲基)-1,2-双十六烷基-3-甘油-磷酸乙醇胺(ADHP),用

* Corresponding author. E-mail: lchunxia@ouc.edu.cn

Received December 9, 2016; revised February 13, 2017; published online February 2017.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China-Shandong Joint Fund for Marine Science Research Centers (No. U1406402), the Taishan Scholar Project Special Funds, and the Special Fund for Marine Scientific Research in the Public Interest (No. 201405038).

国家自然科学基金委员会-山东省人民政府海洋科学研究中心联合(No. U1406402)、山东省泰山学者项目、海洋公益性行业科研专项(No. 201405038)资助项目.

于与寡糖形成荧光拟糖脂糖探针. 2007 年, Liu 等^[10]以 DHPE 为原料制备了含有胺氧基团的脂试剂 AOPE, 通过与寡糖的还原端以脞的形式连接, 能使部分寡糖的还原端单糖残基保持闭环状态. 综上所述, DHPE 不仅是一些生物膜的重要组成成分, 而且还是糖生物学研究中拟糖脂糖探针以及相关衍生物制备的关键原料. 本文对 DHPE 的合成进行了探索, 建立了一种高效制备 DHPE 及其相关磷脂的方法.

1 结果与讨论

DHPE 逆合成分析如 Scheme 1 所示. DHPE 可分为磷脂极性端和长链烷基甘油醇两个部分, 长链烷基甘油醇又可以分为烷基长链部分和甘油骨架部分. 利用 (S)-(+)-甘油醇缩丙酮 **1** 提供手性甘油骨架, 十六烷基醇 **6** 提供烷基长链部分, 乙醇胺 **5** 提供极性端部分, 通过合适的磷试剂和方法将长链烷基甘油醇 **9** 与化合物 **5** 两个部分偶联起来即可得到目标化合物 DHPE. DHPE 合成的难点主要在于如何高效的将这两部分连接起来 (Scheme 1).

图式 1 DHPE 的逆合成分析
Scheme 1 Retrosynthesis of DHPE

1989 年, Abdelmageed 小组^[11]采用 POCl_3 为偶联试剂以较高的产率得到了 DHPE, 但是文中关于磷脂偶联的两步关键反应的产率并未提及和计算到总产率中. 1996 年, Alcaraz 等^[12]用 POCl_3 作为偶联剂, 完成了酯型甘油磷脂 DPPE 的合成, 其中偶联的收率只有 50%. 当我们尝试采用三氯氧磷试剂将化合物 **9** 与 **5** 进行偶联时 (Eq. 1), 发现由于三氯氧磷与羟基的反应活性较高, 使得该反应的选择性较差, 会发生磷酸酐同时与多个醇偶联的情况, 导致反应的产率较低, 因此以 POCl_3 为偶联剂通过逐步取代其分子中氯来合成磷酸二酯的方法, 并

不是一种行之有效的方法.

2012 年, Song 等^[13]以 2-氯-2-氧-1,3,2-二氧磷杂环戊烷为偶联试剂, 与甘油二酯反应生成环磷酸盐中间体, 然后利用 NaN_3 进行开环, 得到相应的酯型甘油磷脂 DPPE. 但当我们将此法应用于底物 **9** 时, 并未能生成相应的环磷酸盐中间体, 推测由于底物的不同, 中间体不稳定, 使此反应未能顺利进行.

2015 年, Sano 小组^[14]利用 Still-Gennari 试剂 *O,O'*-双(2,2,2-三氟乙基)磷乙酸甲酯通过 Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) 反应高效构建酯型甘油磷脂酸(PA)、磷脂酰乙醇胺(PE)和磷脂酰胆碱(PC). HWE 反应是 Wittig 反应的改进, 反应应用稳定的磷酯碳负离子, 代替磷叶立德, 与醛、酮反应生成烯烃, 产物主要为 *E*-型烯烃^[15,16], 该反应中产生的二烃磷酸盐通常是作为副产物处理, 但在用于磷脂类化合物的合成中, 则是主要的目标产物. 根据此文献, 我们采用 HWE 反应高效地实现了化合物 **9** 与 **5** 偶联, 顺利地制备了目标化合物 DHPE.

我们首先构建 DHPE 的长链烷基甘油醇 **9** 和磷脂的极性头 **5** 这两部分. 选用商业易得的 (S)-(+)-甘油醇缩丙酮(**1**)作为 DHPE 的手性甘油骨架 (Scheme 2).

以化合物 (S)-(+)-甘油醇缩丙酮(**1**)为原料, 苄基保护羟基得到化合物 **2**, 然后脱除 **2** 的丙酮叉得到化合物 **3**. 当脱丙酮叉反应温度为 80 °C, 溶剂为 $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ ($V:V=8:1$) 时, 始终有部分原料未反应. 于是对反应的温度, 溶剂 $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ 的比例进行了摸索 (表 1), 发现在相同的温度下, 醋酸浓度的降低可以提高反应效率和产率. 通过降低酸浓度, 可以在相对低的温度下以较高的产率得到产物. 最终确定反应条件为: 温度 65 °C, $\text{AcOH}/\text{H}_2\text{O}$ ($V:V=7:3$), 反应时间为 2 h, 产率可以达到 92%.

十六烷基醇(**6**)为 DHPE 提供烷基侧链部分, 十六烷基与手性甘油骨架以醚键的形式连接. 用甲磺酰基活化十六烷基醇的羟基, 以 95% 的收率得到化合物 **7**. **7** 与 **3** 通过成醚反应以 70% 的收率顺利得到化合物 **8**, 然后脱除苄基得到 **9**.

Reagents and conditions: (a) BnBr, NaH, DMF, 0 °C ~ r.t., 95%; (b) AcOH, H₂O, 65 °C, 92%; (c) MsCl, Et₃N, DMAP, 0 °C ~ r.t., 95%; (d) NaH, DMF, 0 °C ~ r.t., 65%; (e) 10% Pd/C, H₂, CH₂Cl₂/CH₃OH (V : V = 1 : 1), 92%; (f) Boc₂O, 0 °C ~ r.t., 93%.

图式 2 化合物 9 和 5 的合成

Scheme 2 Synthesis of compounds 9 and 5

表 1 脱丙酮叉反应条件优化

Table 1 Optimization of reaction conditions for removal of acetonide group

Entry	Temp./°C	V(AcOH) : V(H ₂ O)	Time/h	Yield/%
1	80	8 : 1	5	79
2	80	4 : 1	4	83
3	65	7 : 3	2	92

对磷脂的极性头部分 5 进行合成, 直接使用乙醇胺 4 通过 Boc₂O 保护氨基得到化合物 5 (Scheme 2).

在顺利地制备了化合物 9 和 5 之后, 通过磷脂试剂将长链烷基甘油醇 9 与极性端 5 两个部分偶联起来即可得到目标化合物 DHPE. 首先将 Still-Gennari 试剂^[17]依次与长链烷基甘油醇 9、Boc 保护乙醇胺 5 分步偶联进行醚型甘油磷脂 DHPE 的合成尝试(Scheme 3).

图式 3 DHPE 的合成策略一

Scheme 3 One strategy of synthesizing DHPE

化合物 9 中的羟基在三乙胺或 DBU^[18,19]存在的条件下作为亲核试剂与 *O,O'*-双(2,2,2-三氟乙基)磷乙酸甲酯反应, 室温下搅拌 2 h 后生成产物 10-1 (产率 66%), 核磁共振检测结构正确. 接着再用 10-1 与 5 反应 20 h, 薄

层色谱(TLC)检测发现产物点复杂, 有较多的副产物生成, 用硅胶色谱柱分离纯化后, 质谱检测发现目标化合物 11-1 的分子离子峰, 但核磁共振检测分析发现产物仍含有杂质峰. 进一步用凝胶 SephadexLH20 柱色谱分离纯化样品, 得到了目标产物, 产率只有 64%.

考虑到 11-1 的合成过程中副产物多产率低, 且不容易分离的问题, 我们又尝试了先用乙醇胺 5 与 Still-Gennari 试剂反应生成 10-2, 然后再与 9 反应的策略 (Scheme 4).

将化合物 5 与 Still-Gennari 试剂在室温条件下反应得到 10-2, 但发现有双取代的副产物生成(表 2), 导致反应产率不高, 针对这一问题我们对反应的温度和溶剂进行了摸索. 发现当反应液中加入分子筛时可以有效提高反应效率, 当反应在 0 °C 下进行时可以抑制双取代副产物的生成, 进一步提高反应的产率, 最终以 93% 的收率得到化合物 10-2.

表 2 10-2 的合成条件优化^a

Table 2 Optimization of reaction conditions for 10-2

Entry	5/equiv.	Still-R/ equiv.	Temp./ °C	Solvent	4 Å MS	Yield/%
1	1.1	1	20	THF	—	52
2	1	1	20	THF	+	70
3	1	1.2	20	Toluene	+	80
4	1	1.2	0	Toluene	+	93

^a 1 equiv. DBU.

随后将化合物 10-2 与 9 偶联, 以 70% 的产率得到化合物 11-2. 接着在碱性条件下, 将 11-2 与苯甲醛反应, 利用 HWE 反应高效的脱去磷脂头上的乙酸甲酯部分, 得到一个羟基裸露的化合物 12, 产率为 92%, 最后用三

氟乙酸(TFA)脱去 Boc 基团即得到目标化合物 DHPE (13), 产率为 96% (Scheme 4).

Reagents and conditions: (a) DBU, 4 Å MS, toluene, 0 °C, 93%; (b) DBU, 4 Å MS, toluene, 60 °C, 70%; (c) (i) LHMDS, THF, 0 °C, 30 min; (ii) PhCHO, THF, r.t., 92% for two steps; (d) TFA, DCM, r.t., 0.5 h, 96%

图式 4 DHPE 的合成策略二

Scheme 4 Another strategy of synthesizing DHPE

与采用 POCl₃ 策略合成磷脂化合物的方法相比, HWE 方法避免了使用剧毒物质 POCl₃, 同时 Still-Gennari 试剂与醇反应选择性好, 可以实现与不同的醇逐步进行偶联, 操作简单, 且产率较高。

2 结论

本文以(S)-(+)-甘油醇缩丙酮、十六醇、乙醇胺为起始原料, 合成了中间体 1,2-双十六烷基甘油醇和 Boc 保护乙醇胺, 随后用 Still-Gennari 试剂将这两部分偶联, 再经过 HWE 反应脱去羧酸甲酯基团, 脱 Boc 保护, 通过 8 步的主线反应, 以 32%总收率完成了目标化合物 DHPE 的全合成。本文利用 Still-Gennari 试剂和 HWE 反应建立了一种高效制备 DHPE 及其相关磷脂的方法, 相较于采用 POCl₃ 策略合成磷脂, 本方法具有毒性低, 操

作简单, 产率高的优点。同时该方法对于其他磷脂生物分子的合成也具有一定的应用价值。

3 实验部分

3.1 仪器与试剂

电子天平(BSA124S, 赛多利斯科学仪器有限公司); 紫外透射反射分析仪(ZF, 上海康华生化仪器制造有限公司); 旋光值由 JASCO-P1020 型自动比旋光仪测定; 核磁共振氢谱(¹H NMR)和碳谱(¹³C NMR)在安捷伦 DD2-500 (500/125 MHz)核磁共振仪上测定; 质谱采用 Micromass EI-4000 (Autospec-Ultima-TOF)或 Mariner API-TOF 质谱仪测定; 红外光谱由 NEXUE470 红外光谱仪测定; 熔点由 WRS-1B 数字熔点仪测定。

实验所用的试剂均为国产分析纯试剂。实验所用的二氯甲烷溶剂使用前经氢化钙回流重蒸处理; 四氢呋喃在钠丝和二苯甲酮存在下, 回流至体系变为蓝色后蒸出使用; 薄层硅胶板(HSGF 254, 烟台市化学工业研究所); 硅胶(200~300 目, 青岛海洋化工厂)。

3.2 实验方法

3.2.1 (S)-4-苄氧基甲基-2,2-二甲基-1,3-二氧戊环(2)的合成

化合物 1 (10.00 g, 75.7 mmol)溶于 80 mL *N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)中, 氮气保护, 冰浴条件下加入 NaH (60%, 4.5 g, 113 mmol), 0 °C 搅拌 10 min, 室温下搅拌 30 min, 冰浴条件下加入 BnBr (9.9 mL, 83.2 mmol), 0 °C 反应 30 min 后, 室温下搅拌反应 8 h。TLC 检测反应完全, 加入甲醇淬灭反应。减压蒸出大部分 DMF, 100 mL 水稀释浓缩物, CH₂Cl₂ 萃取(60 mL × 2), 合并有机相, 饱和食盐水洗 1 次, 无水硫酸钠干燥有机相。过滤, 浓缩, 硅胶柱层析[V(乙酸乙酯): V(石油醚)=1:20~1:10]得黄色油状物 14.85 g, 产率 88%。[α]_D²⁵+18.1 (*c* 0.85, CHCl₃)[文献值^[20] [α]_D²⁰+21.9 (*c* 1, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.38~7.25 (m, 5H, ArH), 4.54~4.61 (m, 2H, PhCH₂O), 4.27~4.33 (m, 1H, OCH), 4.06 (dd, *J*=8.3, 6.4 Hz, 1H, CHCH_aO), 3.75 (dd, *J*=8.3, 6.3 Hz, 1H, CHCH_bO), 3.56 (dd, *J*=9.8, 5.7 Hz, 1H, CHCH_aOBn), 3.48 (dd, *J*=9.7, 5.6 Hz, 1H, CHCH_bOBn), 1.42 (s, 3H, CH₃), 1.37 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 137.95, 128.39, 127.72 (2C), 127.70 (2C), 109.39, 74.73, 73.51, 71.08, 66.87, 26.76, 25.38; ESI-MS *m/z*: 245.2 [M+Na]⁺。

3.2.2 (R)-3-(苄氧基)丙烷-1,2-二醇(3)的合成

化合物 2 (2.0 g, 9.0 mmol)溶于 20 mL 乙酸/水(*V*:*V*=7:3)溶液中, 65 °C 反应 2 h, TLC 检测反应完全, 减

压蒸出溶剂, 硅胶柱层析[*V*(乙酸乙酯):*V*(石油醚)=1:2~1:1], 得无色油状物 1.51 g, 收率 92%. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 1.39$ (*c* 0.38, CHCl_3) [文献值^[20] $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 5.9$ (*c* 1, CHCl_3)]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.38~7.24 (m, 5H, ArH), 4.53 (s, 2H, PhCH_2O), 3.91~3.85 (m, 1H, OCH), 3.70~3.58 (m, 2H, OCH_2), 3.57~3.47 (m, 2H, OCH_2), 2.72 (s, 2H, OH); ESI-MS m/z : 205.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.2.3 十六烷基甲磺酸酯(7)的合成

化合物 6 (5.00 g, 20.6 mmol) 溶于 100 mL CH_2Cl_2 中, 氮气保护下加入三乙胺 (4.3 mL, 30.9 mmol), 4-二甲氨基吡啶(DMAP) (cat.), 冰浴条件下加入 MsCl (1.9 mL, 24.7 mmol), 0 °C 反应 30 min 后, 室温反应 3 h, TLC 检测反应完全. 100 mL 二氯甲烷稀释反应液, 依次用饱和碳酸氢钠溶液 (60 mL $\times$ 2), 饱和食盐水 (60 mL $\times$ 2) 洗, 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 减压蒸干, 得到粗品. 用石油醚重结晶后得到白色鳞片状结晶 6.27 g, 收率 95%. m.p. 52~52.5 °C (文献值^[21] 54~55 °C); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 4.22 (t, $J=6.6$ Hz, 2H, OCH_2), 3.00 (s, 3H, OSO_2CH_3), 1.71~1.78 (m, 2H, OCH_2CH_2), 1.44~1.34 (m, 2H, CH_2), 1.25 (s, 24H, 12CH_2), 0.88 (t, $J=6.6$ Hz, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 70.18, 37.36, 31.91, 29.67~29.63 (5C), 29.59, 29.50, 29.40, 29.34, 29.12, 29.02, 25.41, 22.67, 14.10.

3.2.4 (*R*)-1,2-双十六烷基-3-*O*-苯基甘油醇(8)的合成

化合物 3 (400 mg, 2.20 mmol) 溶于 10 mL 干燥的 DMF 中, 氮气保护, 冰浴条件下加入 NaH (60%, 263 mg, 6.60 mmol) 冰浴搅拌 30 min 后, 室温反应 30 min, 冰浴条件下加入化合物 7 (1.55 g, 4.84 mmol), 0 °C 搅拌 1 h 后, 室温反应 10 h, TLC 检测反应完全. 冰浴条件下加水淬灭反应, 减压蒸出大部分溶剂, 浓缩物中加 10 mL 水, 用二氯甲烷萃取 (3 mL $\times$ 3), 合并有机相, 饱和食盐水洗 (5 mL $\times$ 2), 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 浓缩, 硅胶柱层析 (石油醚洗脱), 得到白色固体 893 mg, 收率 65%. m.p. 27.6~28.4 °C; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 0.09$ (*c* 0.53, CHCl_3) [文献值^[11] $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 0.088$ (*c* 5.7, CHCl_3)]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.27~7.34 (m, 5H, ArH), 4.55 (s, 2H, PhCH_2O), 3.40~3.60 (m, 9H, $4\times\text{OCH}_2$, OCH), 1.20~1.36 (m, 56H, 28CH_2), 0.88 (t, $J=6.7$ Hz, 6H, 2CH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 138.43, 128.27 (2C), 127.55 (2C), 127.43, 77.91, 73.34, 71.65, 70.73, 70.60, 70.30, 31.91 (2C), 30.09 (2C), 29.63~29.64 (16C), 29.49 (2C), 29.35 (2C), 26.12 (2C), 22.67 (2C), 14.10 (2C). HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{42}\text{H}_{82}\text{O}_3\text{N}$ $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 648.6289, found 648.6282.

3.2.5 叔丁基(2-羟乙基)氨基甲酸酯(5)的合成

化合物 4 (2.00 g, 32.7 mmol) 溶于 25 mL 二氯甲烷中, 氮气保护, 冰浴条件下加入二碳酸二叔丁酯 (Boc_2O) (7.80 g, 36.0 mmol), 0 °C 反应 2 h, 室温反应 2 h. TLC 检测反应完全, 二氯甲烷稀释反应液, 依次用饱和碳酸氢钠洗 (10 mL $\times$ 2), 饱和食盐水洗 (10 mL $\times$ 2), 无水硫酸钠干燥有机相, 过滤, 减压蒸干, 干燥, 得到淡黄色油状物 4.89 g, 收率 93%. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.06~4.87 (m, 1H, NH), 3.76~3.63 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3.35~3.21 (m, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2.49 (s, 1H, OH), 1.44 (s, 9H, 3CH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 156.83, 79.69, 62.70, 43.17, 31.19, 28.35; ESI-MS m/z : 184.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

3.2.6 (*R*)-1,2-双十六烷基甘油醇(9)的合成

化合物 8 (60 mg, 95 μmol) 溶于 10 mL CH_2Cl_2 / CH_3OH (*V*:*V*=1:1) 溶液中, 加入 10% 钨碳 (6 mg, 10% 8 in weight), 氢气氛围下室温反应 12 h. TLC 检测反应完全, 硅藻土助滤, 滤液浓缩后, 硅胶柱层析 [*V*(乙酸乙酯):*V*(石油醚)=1:20~1:10 洗脱], 得到白色固体 47 mg, 收率 92%. m.p. 48.5~49.6 °C (文献值^[11] 48.7~49.4 °C); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 6.72$ (*c* 0.69, CHCl_3) [文献值^[11] $[\alpha]_{\text{D}}^{25} - 8.0$ (*c* 7.5, CHCl_3)]; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 3.76~3.68 (m, 1H, CH), 3.65~3.39 (m, 8H, $4\times\text{OCH}_2$), 2.19 (s, 1H, OH), 1.62~1.49 (m, 4H, 2CH_2), 1.36~1.21 (m, 52H, 26CH_2), 0.88 (t, $J=6.8$ Hz, 6H, 2CH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ : 78.23, 71.85, 70.91, 70.39, 63.11, 31.92, 30.07, 29.69, 29.68, 29.67, 29.65, 29.61, 29.60, 29.47, 29.35, 26.09, 22.68, 14.10. HR-ESI-MS calcd for $\text{C}_{35}\text{H}_{72}\text{O}_3\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 563.5374, found 563.5364.

3.2.7 甲基 2-(((*R*)-2,3-(十六烷氧基)丙氧基)(2,2,2-三氟乙氧基)磷酸基)醋酸盐(10-1)的合成

取干燥的甲苯试剂 2 mL 置于反应瓶中, 加入 Still-Gennari 试剂 (64.57 mg, 0.203 mmol), 再加入化合物 9 (100 mg, 0.184 mmol) 和 100 mg 的 4 Å 分子筛, 最后加入 DBU (30.88 mg, 0.203 mmol), 室温下搅拌反应 2 h 后 TLC 检测, 原料基本反应完全. 滤去分子筛, 加入 5 mL 的 DCM 稀释反应液后再加入 1 mol/L HCl 1 mL, 然后用 DCM (5 mL $\times$ 3) 萃取, 无水 Na_2SO_4 干燥, 减压蒸除溶剂, 硅胶柱层析 [*V*(乙酸乙酯):*V*(石油醚)=1:7], 得到透明粘稠液 90 mg, 产率 66%. ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 4.54~4.39 (m, 2H, OCH_2CF_3), 4.32~4.23 (m, 1H, OCH_a), 4.18~4.09 (m, 1H, OCH_b), 3.75 (s, 3H, OCH_3), 3.61~3.50 (m, 3H, OCH_2 , OCH), 3.47 (t, $J=5.5$ Hz, 2H, OCH_2), 3.42 (t, $J=6.7$ Hz, 2H, OCH_2), 3.08 (d, $J=21.5$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{P}=\text{O}$), 1.57~1.50 (m, 4H, 2CH_2),

1.34~1.21 (m, 52H, 26CH₂), 0.87 (t, $J=6.9$ Hz, 6H, 2CH₃).

3.2.8 甲基 2-((2-((二碳酸二叔丁酯)氨基)乙氧基)(2,2,2-三氟乙氧基)磷酸基)醋酸盐(**10-2**)的合成

取化合物 **5** (60 mg, 0.372 mmol)溶于 4 mL 甲苯溶剂中, 冰浴条件下将 Still-Gennari 试剂(141 mg, 0.446 mmol)加入到反应液中, 最后加入 4 Å 分子筛和 DBU (56.6 mg, 0.372 mmol)加到反应液中, 0 °C 下反应 4 h, 原料基本反应完全. 加入 1 mL 的 1 mol/L HCl 溶液, 用乙酸乙酯萃取(5 mL×3), 合并有机相, 饱和 NaCl 溶液洗(5 mL), 无水 Na₂SO₄ 干燥, 减压蒸除溶剂, 硅胶柱层析 [V ((乙酸乙酯): V (石油醚))=1:2], 得到透明粘稠液 130 mg, 产率为 93%. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.07 (brs, 1H, NH), 4.51~4.40 (m, 2H, OCH₂CF₃), 4.26~4.10 (m, 2H, OCH₂), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.48~3.36 (m, 2H, NHCH₂), 3.08 (dd, $J=21.4, 1.4$ Hz, 2H, CH₂P=O), 1.44 (s, 9H, 3CH₃). ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 165.5 (d, $J=5.2$ Hz, C=O), 155.7 (NHC=O), 122.6 (dd, $J=277.4, 8.0$ Hz, CF₃), 79.7 (OC(CH₃)), 66.5 (OCH₂), 62.8 (qd, $J=37.7, 5.1$ Hz, CF₃CH₂), 52.8 (OCH₃), 40.8 (NHCH₂), 33.7 (d, $J=141.2$ Hz, CH₂P=O), 28.3 (OC(CH₃)); IR (KBr) ν : 3342, 2978, 2934, 1743, 1712, 1521, 1274, 1174, 1093, 1038 cm⁻¹; HR-ESI-MS calcd for C₁₂H₂₂F₃NO₇P [M+H]⁺ 380.1080, found 380.1091.

3.2.9 甲基 2-(((R)-2,3-(十六烷氧基)丙氧基)(2-((二碳酸二叔丁酯)氨基)乙氧基)磷酸基)醋酸盐(**11-2**)的合成

取化合物 **10-2** (130 mg, 0.343 mmol)溶于 4 mL 甲苯溶液中, 再将化合物 **9** (204 mg, 0.377 mmol)加入到反应液中, 最后加入 4 Å 分子筛和 DBU (52 mg, 0.343 mmol), 60 °C 下反应 48 h, TLC [V (乙酸乙酯): V (石油醚))=1:1]检测原料基本反应完全. 用硅藻土滤去分子筛, 向反应液中加入 2 mL 1 mol/L HCl 溶液, 用二氯甲烷萃取(5 mL×3), 合并有机相, 饱和 NaCl 溶液洗(5 mL), 无水 Na₂SO₄ 干燥, 硅胶柱层析 [V (乙酸乙酯): V (石油醚))=1:2], 得到透明粘稠状液体 198 mg, 产率为 70%. [α]_D²⁵ -2.24 (c 0.49, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.29 (brs, 1H, NH), 4.31~4.05 (m, 4H, OCH₂CH₂NH, OCH₂CH), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 3.63~3.50 (m, 3H, OCH₂, OCH), 3.51~3.45 (m, 2H, OCH₂), 3.43~3.41 (m, 4H, NHCH₂, OCH₂), 3.04 (dd, $J=21.7, 15.0$ Hz, 2H, CH₂P=O), 1.55 (s, 4H, 2CH₂), 1.45 (s, 9H, 3CH₃), 1.32~1.19 (m, 52H, 26CH₂), 0.88 (t, $J=6.9$ Hz, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 166.1 (d, $J=5.7$ Hz, C=O), 155.8 (NHC=O), 79.4, 77.1, 71.8, 70.6, 69.3,

66.1, 52.6, 41.0, 33.8 (d, $J=137.0$ Hz, CH₂P=O), 31.9, 29.9, 29.7~29.5 (m), 29.4, 29.3, 28.3, 26.0, 22.6, 14.0; IR (KBr) ν : 3367, 2928, 2853, 1745, 1716, 1510, 1460, 1269, 1173, 1116, 1022 cm⁻¹; HR-ESI-MS calcd for C₄₅H₉₁NO₉P [M+H]⁺ 820.6426, found 820.6443.

3.2.10 叔丁基 2-(((R)-2,3-(十六烷氧基)丙氧基)(羟基)磷酸基)氧)乙基)氨基甲酸酯(**12**)的合成

取化合物 **11-2** (70 mg, 0.085 mmol)溶于 1.5 mL 的 THF 中, 冰浴条件下加入六甲基二硅基胺基锂 (LHMDS) (102 μ L, 0.102 mmol), 搅拌 30 min 后再加入苯甲醛(10.8 mg, 0.102 mmol), 室温下反应, 反应 2 h 后 TLC 检测反应完全, 向反应液中加入 1 mL 的 1 mol/L HCl 溶液, 然后用二氯甲烷萃取(5 mL×3), 合并有机相, 饱和 NaCl 溶液洗(5 mL), 无水 Na₂SO₄ 干燥, 硅胶柱层析 [V (二氯甲烷): V (甲醇))=12:1], 得到淡黄色粘稠液 60 mg, 产率 92%. [α]_D²⁵ +2.12 (c 0.57, CHCl₃); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 3.95 (s, 4H, OCH₂CH₂NH, OCH₂CH), 3.64~3.46 (m, 5H, OCH₂, OCH), 3.42~3.38 (m, 2H, 2×OCH₂), 3.36 (s, 2H, NHCH₂), 1.54 (s, 4H, 2CH₂), 1.43 (s, 9H, 3CH₃), 1.34~1.21 (m, 52H, 26CH₂), 0.88 (t, $J=6.8$ Hz, 2CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 77.8, 71.7, 70.5, 65.0, 41.1, 31.9, 30.0, 29.7, 29.7, 29.7, 29.6, 29.3, 28.4, 26.1, 22.6, 14.09; IR (KBr) ν : 3389, 2923, 2853, 1716, 1518, 1466, 1243, 1175, 1111, 1063 cm⁻¹; HR-ESI-MS calcd for C₄₂H₈₅NO₈P [M-H]⁻ 762.6018, found 762.5997.

3.2.11 2-氨基乙基((R)-2,3-(十六烷氧基)丙基)磷酸氢盐(**13**)的合成

取化合物 **12** (30 mg, 0.039 mmol)溶于 1 mL 干燥的二氯甲烷溶液中, 冰浴条件下加入 0.5 mL 的 TFA, 室温下反应 0.5 h, TLC 检测原料基本反应完全, 加入饱和 NaHCO₃ 溶液, 氯仿萃取(5 mL×3), 合并有机相, 无水 Na₂SO₄ 干燥, 硅胶柱层析 [V (二氯甲烷): V (甲醇): V (水))=60:30:4], 得到白色固体 25 mg, 产率 96%. m.p. 182.5~184 °C(文献值^[11] 182~184 °C); [α]_D²⁶ +1.68 [c 0.37, V (CHCl₃): V (MeOH))=1:1] [文献值^[11] [α]_D²⁵ +2.2 (c 0.58, V (CHCl₃): V (MeOH): V (H₂O))=60:30:4)]; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃/CD₃OD) δ : 4.10~4.02 (m, 2H, OCH₂), 3.96~3.86 (m, 2H, OCH₂), 3.69~3.55 (m, 4H, 2OCH₂), 3.53~3.43 (m, 3H, OCH, OCH₂), 3.13~3.04 (m, 2H, NH₂CH₂), 1.62~1.52 (m, 4H, 2CH₂), 1.37~1.24 (m, 52H, 26CH₂), 0.89 (t, $J=6.8$ Hz, 6H, 2CH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃/CD₃OD) δ : 77.8, 71.7, 70.5, 70.3, 65.0, 61.4, 40.4, 31.7, 29.8, 29.5, 29.4, 29.4, 29.3, 29.1, 25.9, 25.8, 22.4, 13.57. HR-ESI-MS calcd

for $C_{37}H_{77}NO_6P$ $[M-H]^-$ 662.5494, found 662.5495.

辅助材料(Supporting Information) 化合物 **3**, **10-1** 的 1H NMR 谱图, 以及化合物 **2**, **5**, **7~13** 的 1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱图. 这些材料可以免费从本刊网站(<http://sioc-journal.cn/>)上下载.

References

- [1] Han, L.; Li, Z. M.; Guo, W. M. *Chem Bull.* **2005**, 68, 408 (in Chinese). (韩亮, 李正名, 郭维明, 化学通报, **2005**, 68, 408.)
- [2] Caputto, B. L.; Guido, M. E. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, 1583, 1.
- [3] Navab, M. *J. Lipid. R.* **2004**, 45, 993.
- [4] Snyder, F. *Biochem. Lipids. Membr.* **1991**, 20, 271.
- [5] Diagne, A.; Fauvel, J.; Record, M.; Chap, H.; Douste-Blazy, L. *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, 793, 221.
- [6] Mueller, H. W.; O' Flaherty, J. T.; Wykle, R. L. *Lipids* **1982**, 17, 72.
- [7] Record, M.; Tamer, A.; Chap, H.; Douste-Blazy, L. *Biochim. Biophys. Acta* **1984**, 778, 449.
- [8] Fukui, S.; Feizi, T.; Galustian, C.; Lawson, A. M.; Chai, W. *Nat. Biotechnol.* **2002**, 20, 1011.
- [9] Stoll, M. S.; Feizi, T.; Loveless, R. W.; Chai, W.; Lawson, A. M.; Yuen, C. T. *Eur. J. Biochem.* **2000**, 267, 1795.
- [10] Liu, Y.; Feizi, T.; Campanero-Rhodes, M. A.; Childs, R. A.; Zhang, Y. *Chem. Biol.* **2007**, 14, 847.
- [11] Abdelmageed, O. H.; Duclos, R. I.; Griffin, R. G.; Siminovitch, D. J.; Ruocco, M. J.; Makriyannis, A. *Chem. Phys. Lipids* **1989**, 50, 163.
- [12] Alcaraz, M.; Peng, L.; Klotz, P.; Goeldner, M. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 192.
- [13] Song, Y.; Yuan, W.; Luo, Y.; Lu, W. *Chin. Chem. Lett.* **2012**, 23, 154.
- [14] Sano, S.; Sumiyoshi, H.; Handa, A.; Tokizane, R.; Nakao, M. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 4686.
- [15] Bisceglia, A. R.; Orelli, L. *Curr. Org. Chem.* **2012**, 16, 2206.
- [16] Al Jasem, Y.; El-Esawi, R.; Thiemann, T. J. *Chem. Res.* **2014**, 38, 453.
- [17] Messik, F.; Oberthür, M. *Synthesis.* **2013**, 45, 167.
- [18] Sano, S.; Kujime, E.; Takemoto, Y.; Shiro, M.; Nagao, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, 53, 131.
- [19] Sano, S.; Takemoto, Y.; Nagao, Y. *ARKIVOC* **2003**, 8, 93.
- [20] Casati, S.; Ciuffreda, P.; Santaniello, E. *Tetrahedron* **2011**, 22, 658.
- [21] Wawzonek, S.; Klimstra, P. D.; Kallio, R. E. *J. Org. Chem.* **1960**, 25, 621.

(Zhao, X.)