

(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **279 249 A1**

4(51) C 07 H 19/10

PATENTAMT der DDR

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 07 H / 324 780 1

(22) 01.01.89

(44) 30.05.90

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Otto-Nuschke-Straße 22/23, Berlin, 1080, DD

(72) Brachwitz, Hans, Dr. sc. nat. Dipl.-Chem.; Janta Lipinski, Martin, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem., DD

(54) **Verfahren zur Herstellung von 2',3'-Didesoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-O-alkylglycerolen und deren Salzen**

(55) Verfahren; chemische und pharmazeutische Industrie; 2',3'-Didesoxythymidin-5'-monophosphat; 1,2-Di-O-alkylglycero-3-amidophosphat; 2',3'-Didesoxythymidindiphosphat-1,2-di-O-alkylglycerol; Kondensation

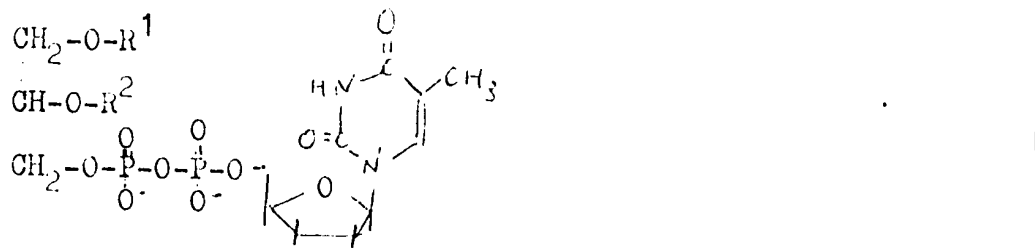
(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 2',3'-Didesoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-O-alkylglycerolen und deren Salzen. Anwendungsgebiet der Erfindung ist die chemische und pharmazeutische Industrie. Erfindungsgemäß werden die Verbindungen hergestellt, indem man 2',3'-Didesoxythymidin-5'-monophosphat mit 1,2-Di-O-alkylglyceroamidophosphaten kondensiert.

IS: 433-6461

4 Seiten

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von 2',3'-Didesoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-0-alkylglycerolen der allgemeinen Formel I,



in der R¹ einen verzweigten oder unverzweigten aliphatischen Kohlenwasserstoffrest mit 8 bis 22 C-Atomen, R² einen Methyl-, Etnyl- oder einen verzweigten oder unverzweigten aliphatischen Kohlenwasserstoffrest mit 3 bis 22 C-Atomen bedeuten, und deren Salzen, **dadurch gekennzeichnet**, daß man 1,2-Di-0-alkylglycero-3-amidophosphate der allgemeinen Formel II,



in der R¹ und R² die bereits genannten Bedeutungen besitzen und X eine Morpholino-, Amino- oder Alkylaminogruppe darstellt, mit 2',3'-Dideoxythymidin-5'-monophosphat kondensiert, das entstandene Diphosphat I reinigt und gegebenenfalls in ein einheitliches Salz überführt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man das 2',3'-Dideoxythymidin-5'-monophosphat als Salz mit dem 1,2-Di-0-alkylglycero-3-amidophosphat im Molverhältnis 1:0,5 bis 1,5 in Gegenwart einer inerten organischen Base unter Feuchtigkeitsausschluß bei Temperaturen zwischen 20°C und 50°C umsetzt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 und 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß man das 2',3'-Dideoxythymidin-5'-monophosphat als Pyridiniumsalz mit 1,2-Di-0-hexadecylglycero-3-morpholidophosphat in Pyridin bei 35°C–40°C umsetzt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 2',3'-Dideoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-0-alkylglycerolen der allgemeinen Formel I (s. Formelblatt) und deren Salzen. Anwendungsgebiet der Erfindung sind die chemische und pharmazeutische Industrie.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Es ist bekannt, daß die in der Zelle natürlich vorkommenden Cytidindiphosphat-dialkylglycerole sich auch synthetisch herstellen lassen, indem man Cytidinmonophosphatmorpholidat (Cytidinmorpholidophosphat) mit Phosphatidsäuren umsetzt (B. W. Agranoff et al., Biochem. Prep., 10 [1963] 47).

In ähnlicher Weise sind auch die entsprechenden Cytidindiphosphat-dialkylglycerole (M. Kates et al., Can. J. Biochem., 49 [1971] 275) sowie auch Cytosinarabinosiddiphosphat-alkyl(acyl)-glycerol-Derivate synthetisiert worden (Chung Il Hong et al., J. Med. Chem. 29 [1986] 2038).

2',3'-Dideoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-0-alkylglycerole der Formel I, die sich von den natürlich vorkommenden Cytidindiphosphat-dialkylglycerolen durch die Anwesenheit einer Dideoxythymidin-Gruppierung unterscheiden, sind bisher nicht bekannt.

Ziel der Erfindung

Es ist das Ziel der Erfindung, ein neues Verfahren zur Herstellung von Nucleosiddiphosphat-alkylglycerol-Addukten zu entwickeln und die Verbindungen der allgemeinen Formel I bereitzustellen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Erfindungsgemäß werden 2',3'-Didesoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-0-alkylglycerole der allgemeinen Formel I (s. Formelblatt), in der R¹ und R² die bereits genannten Bedeutungen besitzen, hergestellt, indem man 1,2-Di-0-alkylglycero-3-amidophosphate der allgemeinen Formel II (s. Formelblatt), in der R¹ und R² und X die bereits genannten Bedeutungen besitzen, mit 2',3'-Didesoxythymidin-5'-monophosphat umsetzt.

Die erfindungsgemäße Umsetzung erfolgt bevorzugt im allgemeinen in der Weise, daß man das 2',3'-Didesoxythymidin-5'-monophosphat, vorzugsweise als Pyridiniumsalz, mit einem 1,2-Di-0-alkylglycero-3-amidophosphat, vorzugsweise mit einem Morpholidophosphat, welches aufgrund seiner Herstellung z. B. als 4-Morpholin-N,N'-dicyclohexylcarboxamidin-Salz Verwendung findet, im Molverhältnis 1:0,5 bis 1,5 in Gegenwart einer für die Reaktion inerten organischen Base, z. B. Pyridin, umsetzt. Die Reaktion erfolgt unter Ausschluß von Feuchtigkeit und unter ständigem Rühren bei Temperaturen zwischen 20°C und 50°C, vorzugsweise bei 35°C-40°C.

Es ist zweckmäßig, die Umsetzung dünnenschichtchromatographisch zu kontrollieren. Nach der Umsetzung, die nach etwa 60 bis 80 Stunden beendet ist, wird das Reaktionsgemisch in üblicher Weise aufgearbeitet. Die Verbindung wird z. B. zunächst in die freie Säure übergeführt und durch Säulenchromatographie an DEAE-Cellulose (Acetat-Form) gereinigt.

Durch Behandlung mit einer methanolischen NH₃-Lösung wird das Diammonium-Salz der Verbindung erhalten.

Die Synthese unterscheidet sich grundlegend von der bisher zur Herstellung der bekannten Nukleosiddiphosphat-acyl(alkyl)-glycerol-Derivate benutzten dadurch, daß zur Knüpfung der Diphosphatgruppierung kein aktiviertes Nukleosidphosphat verwendet wird, sondern daß das Dialkylglyceroamidophosphat das reaktive Phosphorylierungsreagenz darstellt.

Das hat den Vorteil, daß sich nach dieser Methode auch Nukleosiddiphosphat-acyl(alkyl)-glycerol-Addukte herstellen lassen, deren Nukleosidkomponente sich aus Stabilitätsgründen nicht in ein aktiviertes Phosphat überführen läßt.

Die neuen Verbindungen vom Typ I stellen eine neue Wirk- und Transportform des Didesoxythymidins dar. Sie besitzen als potentielle Cytostatica und Virostatica Bedeutung.

Die Erfindung wird an nachstehendem Beispiel erläutert:

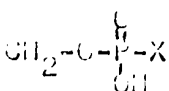
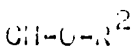
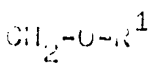
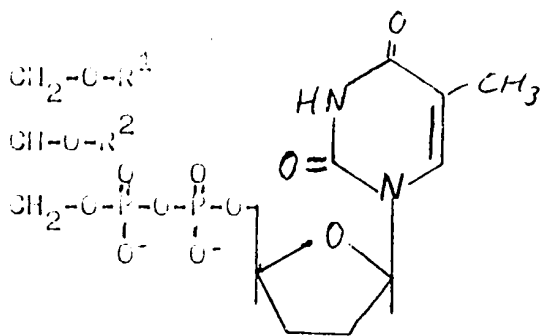
Beispiel 1

2',3'-Didesoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-0-hexadecylglycerol

148,8mg (0,321 mmol) 2',3'-Didesoxythymidin-5'-monophosphat (Dipyridinium-Salz), erhalten durch Umsetzung von 2',3'-Didesoxythymidin mit POCl₃ in Gegenwart von Pyridin, sowie das aus 139mg (0,23 mmol) 1,2-Di-0-hexadecylglycerol erhaltene 1,2-Di-0-hexadecylglycero-3-morpholidophosphat (4-Morpholin-N,N'-dicyclohexylcarboxamidin-Salz) werden viermal mit je 5ml Pyridin (über CaH₂ getrocknet) gelöst und die Lösungen im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Die Reaktionskomponenten werden erneut in Pyridin gelöst, die Lösungen vereinigt (Gesamtmenge 12 ml). Das Reaktionsgemisch wird unter Ausschluß von Wasser solange bei 38°C gerührt, bis das Dialkylglycero-morpholidophosphat chromatographisch (R_f 0,73, n-Propanol/25%ig. wäßr. NH₃/H₂O, 8:2:1, v/v/v) nicht mehr nachweisbar ist (etwa 80 Stunden). Nach dieser Zeit wird das Reaktionsgemisch für 24 Stunden auf 4°C gehalten, danach wird vom entstandenen Rückstand abfiltriert und dieser dreimal mit je 3ml Pyridin ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird zweimal mit je 5ml Toluol zur Trockne einrotiert, und anschließend in 12 ml CHCl₃/CH₃OH/H₂O (2:3:1, v/v/v) aufgenommen. Das Gemisch wird mit 0,01 N HCl auf pH 3,5 eingestellt, die untere Phase abgetrennt und die wäßrige Phase dreimal mit je 5ml CHCl₃ extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 6ml H₂O gewaschen und im Vakuum zur Trockne eingeeengt. Die erhaltene Substanz wird in etwa 5ml eines Gemisches auf CHCl₃/CH₃OH/H₂O (2:3:1, v/v/v) gelöst und auf eine DEAE-Cellulose-Säule (Serva 23 SS, Acetat-Form, Säule 2 x 26cm) aufgetragen. Zur Elution wird das gleiche Lösungsmittel verwendet. Die durch Einengen der Fraktionen 41-48 (Fraktionsgröße 10ml) erhaltene Substanz wird in 35ml CHCl₃ aufgenommen. Die Lösung wird mit 8ml Wasser gewaschen und die wäßrige Phase mit CHCl₃/CH₃OH (1:1, v/v) reextrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 3ml 1 N methanolische NH₃-Lösung versetzt und bis auf 2ml konzentriert. Nach Zugabe des dreifachen Volumens an getrocknetem Aceton wird das 2',3'-Didesoxythymidin-5'-diphosphat-1,2-di-0-hexadecylglycerol als Diammonium-Salz (39mg) erhalten. Dünnschichtchromatographie: R_f 0,56 (n-Propanol/25%ig. wäßrig. NH₃/H₂O, v/v/v); R_f 0,73 (CHCl₃/CH₃OH/25%ig. wäßrig. NH₃/H₂O, 12:10:2:1, v/v/v/v).

UV-Spektroskopie: λ_{max} 268 nm (Wasser, beschallt).

Formeln



I
II

- R¹ = verzweigter oder unverzweigter aliphatischer Kohlenwasserstoffrest mit 8 bis 22 C-Atomen,
- R² = ein Methyl-, Ethyl- oder ein verzweigter oder unverzweigter aliphatischer Kohlenwasserstoffrest mit 3 bis 22 C-Atomen
- X = eine Morpholino-, Amino- oder Alkylaminogruppe