

①9 BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑪ **DE 31 51 378 A1**

⑤1 Int. Cl. 3:
C07 F 9/09
C 07 F 9/10
A 61 K 9/00

⑳ Aktenzeichen: P 31 51 378.6
㉑ Anmeldetag: 24. 12. 81
㉒ Offenlegungstag: 14. 7. 83

DE 31 51 378 A1

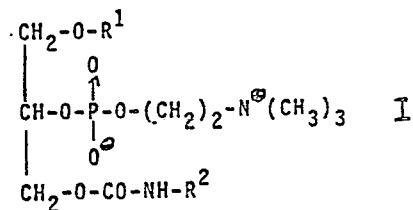
⑦1 Anmelder:
A. Nattermann & Cie GmbH, 5000 Köln, DE

⑦2 Erfinder:
Lautenschläger, Hans-Heiner, Dipl.-Chem. Dr., 5024
Pulheim, DE; Betzing, Hans, Dipl.-Chem. Dr., 5014
Kerpen, DE; Zierenberg, Ottfried, Dipl.-Chem. Dr.,
5000 Köln, DE

Behördeneigentum

⑤4 Neue O-Carbamoyl-glycero-2-phosphocholine und Verfahren zu ihrer Herstellung

Die Erfindung betrifft neue O-Carbamoyl-glycero-2-phosphocholine der allgemeinen Formel I

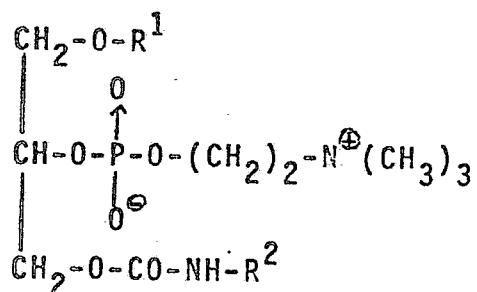


und Verfahren zu ihrer Herstellung sowie ihre Verwendung als hydrolysenbeständige Phospholipide in der Liposomentechnik.
(31 51 378)

DE 31 51 378 A1

Patentansprüche

1. Carbamoyl-glycero-2-phosphocholine der allgemeinen Formel I

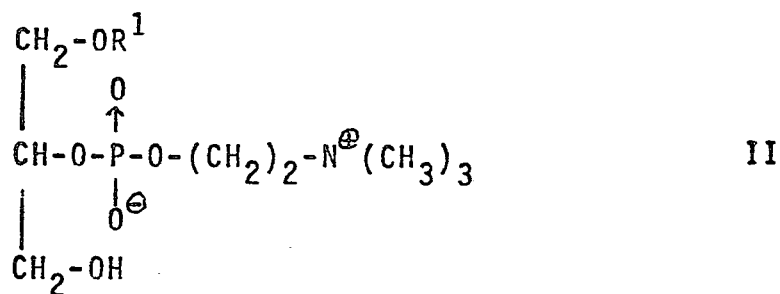


I

worin R_1 und R_2 einen geradkettigen gesättigten oder ungesättigten Kohlenwasserstoffrest mit 10-20 Kohlenstoffatomen bedeuten, wobei R_1 und R_2 gleich oder verschieden sein können.

2. Carbamoyl-glycero-2-phosphocholine der allgemeinen Formel I, worin R_1 und R_2 einen geradkettigen gesättigten oder ungesättigten Kohlenwasserstoffrest mit 16-18 Kohlenstoffatomen bedeuten, wobei R_1 und R_2 gleich oder verschieden sein können.

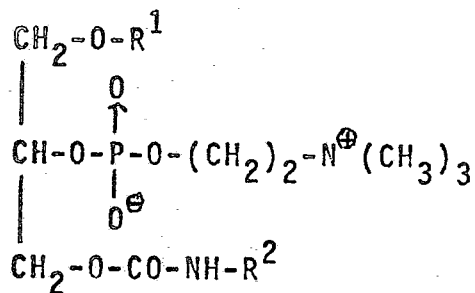
3. 1-0-Decylcarbamoyl-3-0-hexadecyl-glycero-2-phosphocholin.
4. 1-0-Hexadecyl-3-0-undecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
5. 1-0-Dodecylcarbamoyl-3-0-hexadecyl-glycero-2-phosphocholin.
6. 1-0-Hexadecyl-3-0-tetradecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
7. 1-0-Hexadecyl-3-0-hexadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
8. 1-0-Hexadecyl-3-0-octadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
9. 1-0-Hexadecyl-3-0-eicosylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
10. 1-0-Decylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin.
11. 1-0-Octadecyl-3-0-undecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
12. 1-0-Dodecylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin.
13. 1-0-Octadecyl-3-0-tetradecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
14. 1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin.
15. 1-0-Octadecyl-3-0-octadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.
16. 1-0-Eicosylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin.
17. 1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-oleyl-glycero-2-phosphocholin.
18. 1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-linolylyl-glycero-2-phosphocholin.
19. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel I gemäß den Ansprüchen 1-18, dadurch gekennzeichnet, daß man die Lysoverbindung der allgemeinen Formel II



in der R^1 die in Formel I angegebene Bedeutung besitzt, in einem aprotischen organischen Lösungsmittel, ggfs. unter Zusatz einer Lewis-Base als Katalysator, mit dem entsprechenden Alkylisocyanat oder dessen Imidazolid umgesetzt.

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Carbamoyl-glycero-2-phosphocholine, Verfahren zu ihrer Herstellung, sowie ihre Anwendung als hydrolysenbeständige Phospholipide in der Liposomentechnik. Die erfindungsgemäßen Carbamoyl-glycero-2-phosphocholine entsprechen der allgemeinen Formel I



worin R_1 und R_2 einen geradkettigen gesättigten oder ungesättigten Kohlenwasserstoffrest mit 10-20 Kohlenstoffatomen bedeuten, die gleich oder verschieden sein können. Für R_1 und R_2 kommen insbesondere in Betracht: Hexadecyl, Octadecyl.

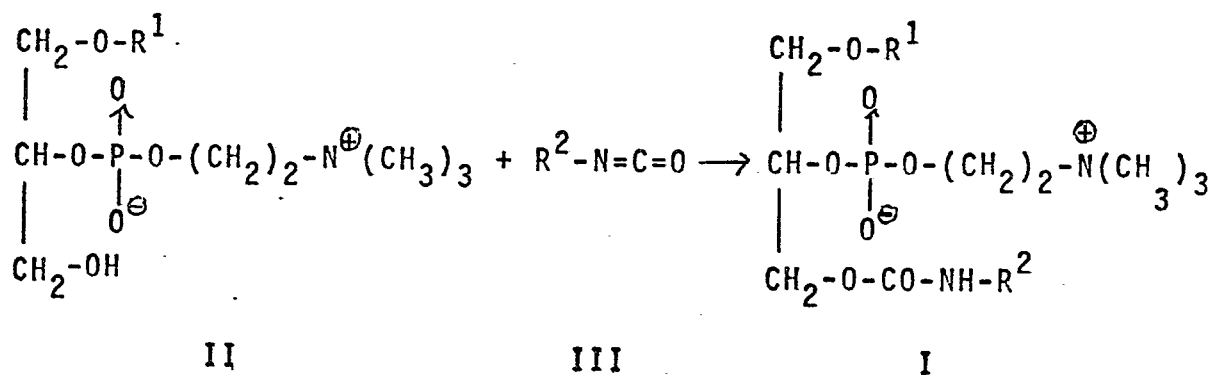
Verbindungen gemäß der Erfindung sind beispielsweise:

- 1-0-Decylcarbamoyl-3-0-hexadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Hexadecyl-3-0-undecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Dodecylcarbamoyl-3-0-hexadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Hexadecyl-3-0-tetradecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,

1-0-Hexadecyl-3-0-eicosylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Decylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Octadecyl-3-0-undecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Dodecylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Octadecyl-3-0-tetradecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Eicosylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-oleyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-linoly-l-glycero-2-phosphocholin,
 besonders bevorzugt sind:
 1-0-Hexadecyl-3-0-hexadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Hexadecyl-3-0-octadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Octadecyl-3-0-octadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen gegenüber den bisher in der Liposomentechnik verwendeten natürlichen oder synthetischen 1,2-Diacyl-glycero-3-phosphocholinen (z.B. DE-OS 27 12 031) deutliche Vorteile auf, da sie im Gegensatz zu diesen Phospholipiden gegen Phospholipasen A₁ und A₂ beständig sind und damit eine bessere Vermittlung des eingeschlossenen Wirkstoffes an den Wirkungsort ermöglichen.

Die erfindungsgemäßen Substanzen werden durch Reaktion der Lysoverbindungen II, worin R¹ die in Formel I genannte Bedeutung hat, mit Isocyanaten der Formel III, worin R² die in Formel I angegebene Bedeutung hat, nach folgender Gleichung hergestellt:



Die Reaktion wird zweckmäßig in organischen aprotischen Lösungsmitteln, wie z.B. Chloroform, Aceton, Dimethylformamid bzw. deren Mischungen, ggfs. unter Anwendung eines Katalysators, insbesondere einer Lewis-Base, wie z.B. Triethylamin,

Pyridin, 4-Dimethylaminopyridin, Dimethylformamid, bei Temperaturen zwischen 0° und 100°C, vorzugsweise bei 40 - 60°C, durchgeführt.

Die Isocyanate können auch in Form ihrer Imidazolide mit der allgemeinen Formel IV



worin R^2 die in Formel I angegebene Bedeutung hat, unter den obengenannten Bedingungen eingesetzt werden, da sich die Imidazolide wie freie Isocyanate verhalten (vergl. H.A. Staab und W. Rohr, in: Neuere Methoden der präparativen organischen Chemie, S. 79, Weinheim 1967).

Als Ausgangsverbindungen II kommen in Frage:

1-0-Decyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Undecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Dodecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Tridecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Tetradecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Pentadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Hexadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Heptadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Nonadecyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Eicosyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Oleyl-glycero-2-phosphocholin,
 1-0-Linolyl-glycero-2-phosphocholin,

wobei die Lysoverbindungen in der natürlichen sn-Form, in Form der Spiegelbildisomeren oder als Racemate eingesetzt werden können.

Als Ausgangsverbindungen der Formel III kommen z.B. in Frage: Decylisocyanat, 9-Decenylisocyanat, Undecylisocyanat, Dodecylisocyanat, Tridecylisocyanat, Tetradecylisocyanat, Pentadecylisocyanat, Hexadecylisocyanat, Eicosylisocyanat, Octadecylisocyanat, Nonadecylisocyanat.

Die als Ausgangsverbindungen verwendeten O-Alkyl-glycero-2-phosphocholine II können durch milde alkalische Hydrolyse aus O-Acyl-O-alkyl-glycero-2-phosphocholinen erhalten werden, die sich aus den Glycerinderivaten der Formel V



in der R^1 die in Formel I angegebene Bedeutung hat und R^4 einen geradkettigen oder verzweigten Kohlenwasserstoffrest mit 1-6 Kohlenstoffatomen bedeutet, nach bekannten Phosphorylierungsverfahren, wie z.B. durch Umsetzen mit β -Bromethylphosphorsäuredichlorid in Gegenwart einer Base und nachfolgendes Behandeln mit Trimethylamin herstellen lassen (vergl. z.B. T. Muramatsu et al., Chemistry and Physics of Lipids, 29, 121-127 (1981)).

Die Glycerinderivate V sind ihrerseits aus 2,3-Epoxypropyl-ethern durch Umsetzung mit den entsprechenden Säuren $R^4\text{COOH}$ analog dem von U. Zeidler, Fette, Seifen, Anstrichmittel, 83, (2), 57 (1981) für Esteralkohole beschriebenen Verfahren zugänglich. 2,3-Epoxyether erhält man aus Epichlorhydrinen und den entsprechenden Alkoholen $R^1\text{OH}$ am besten durch Phasentransferkatalyse nach literaturbekannten Verfahren. Andererseits lassen sich die Glycerinderivate V durch Isomerisierung aus den entsprechenden 2-O-Acyl-glycerinethern VI



z.B. durch einfaches Erwärmen gewinnen. Die Synthese der 2-O-Acyl-glycerinether wird von K. Mangold, Angew. Chemie 91,

550-560 (1979) beschrieben.

Die Lysoverbindungen II können auch aus 1-O-Alkyl-3-O-benzyl-glycerinen synthetisiert werden, indem man diese in Form der einzelnen Enantiomeren oder des Racemats durch Umsetzen mit β -Bromethylphosphorsäuredichlorid in Gegenwart einer Base und nachfolgendes Behandeln mit Trimethylamin in die 1-O-Alkyl-3-O-benzyl-glycero-2-phosphocholine überführt, die ihrerseits durch Hydrieren in Gegenwart eines Katalysators, wie z.B. Palladium/Aktivkohle, die Verbindungen II ergeben.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen wird durch die folgenden Beispiele näher erläutert. Da sich die Verbindungen der Formel I aufgrund ihrer wachsartigen Konsistenz nicht durch Schmelzpunkte charakterisieren lassen, sind die jeweiligen IR-Daten sowie die Rf-Werte der Substanzen aus Formel I angegeben. Die IR-Spektren wurden mit dem Gerät Perkin-Elmer 257 aufgenommen, wobei die Substanzen als Chloroformlösungen vermessen wurden.

Dünnschichtchromatographie: Kieselgel 60 F-254, Fa. Merck,
Art. 5719

Laufmittel: Chloroform/Methanol/Wasser = 65/25/4 (v/v/v)

3151378.

- 5 - 8.

Beispiel 1

1-0-Hexadecyl-3-0-hexadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin.

Eine Mischung aus 50 mg 1-0-Hexadecyl-glycero-2-phosphocholin, 107 mg Hexadecylisocyanat, 5 ml Chloroform und 0,1 ml Dimethylformamid wird bei 60°C gerührt (48 Stunden). Das überschüssige Alkylisocyanat wird durch Zugabe von wenig Wasser hydrolysiert und die Mischung im Vakuum weitgehend einneigt. Der Rückstand wird durch präparative Dünnschichtchromatographie (Kieselgel//Chloroform/Methanol/Wasser) gereinigt.

Ausbeute: 52 mg Wachs

Rf = 0,5 IR: $\nu(\text{C=O}) = 1712 \text{ cm}^{-1}$

Analog dieser Vorschrift werden hergestellt:

Beispiel 2

1-0-Hexadecyl-3-0-octadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin

aus 50 mg 1-0-Hexadecyl-glycero-2-phosphocholin

120 mg Octadecylisocyanat

in 5 ml Chloroform und 0,1 ml Dimethylformamid

Ausbeute: 61 mg, Rf = 0,5, $\nu(\text{C=O}) = 1715 \text{ cm}^{-1}$

Beispiel 3

1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin

aus 50 mg 1-0-Octadecyl-glycero-2-phosphocholin

100 mg Hexadecylisocyanat

in 5 ml Chloroform und 0,1 ml Dimethylformamid.

Ausbeute: 48 mg, Rf = 0,51, $\nu(\text{C=O}) = 1710 \text{ cm}^{-1}$

Beispiel 4

1-0-Octadecyl-3-0-octadecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin

aus 50 mg 1-0-Octadecyl-glycero-2-phosphocholin

120 mg Octadecylisocyanat

in 5 ml Chloroform und 0,1 ml Dimethylformamid

Analog den Beispielen 1-4 werden hergestellt:

- 1-0-Decylcarbamoyl-3-0-hexadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Hexadecyl-3-0-undecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Dodecylcarbamoyl-3-0-hexadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Hexadecyl-3-0-tetradecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Eicosylcarbamoyl-3-0-hexadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Decylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Octadecyl-3-0-undecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Dodecylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Octadecyl-3-0-tetradecylcarbamoyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Eicosylcarbamoyl-3-0-octadecyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Hexadecylcarbamoyl-3-0-oleyl-glycero-2-phosphocholin,
- 1-0-Hexadecylcarbamoyl-2-0-linölyl-glycero-2-phosphocholin,