



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103864842 A

(43) 申请公布日 2014. 06. 18

(21) 申请号 201410145506. 1

(22) 申请日 2008. 01. 02

(30) 优先权数据

11/650, 973 2007. 01. 09 US

(62) 分案原申请数据

200880006707. 6 2008. 01. 02

(71) 申请人 脉管生物生长有限公司

地址 以色列耶胡达

(72) 发明人 G·哈尔佩林

E·科瓦莱夫斯基-伊谢

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专

利商标事务所 11038

代理人 韩威威

(51) Int. Cl.

C07F 9/10 (2006. 01)

C07F 9/09 (2006. 01)

权利要求书4页 说明书43页

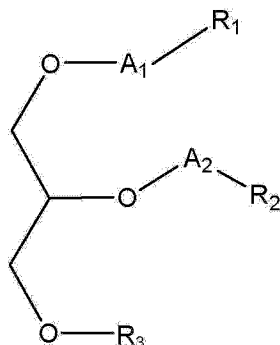
(54) 发明名称

制备氧化磷脂的改进方法

(57) 摘要

本发明公开了制备氧化磷脂的改进方法。具体地,公开了新型合成路线,其很适用于在治疗上有益的氧化磷脂的工业制备。尤其是,公开了有效制备含甘油骨架和与甘油骨架连接的一个或多个氧化部分的化合物的新方法,其不含柱色谱法。因此,进一步公开了将含磷部分如磷酸盐部分引入含甘油骨架的化合物中及形成的中间体中的新方法。

1. 一种具有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架连接的氧化部分的化合物,所述化合物具有通式 II:



式 II

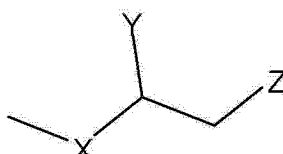
其中:

A_1 选自 CH_2 和 $C=O$;

A_2 是 CH_2 ;

R_1 是含 1-30 个碳原子的烷基;

R_2 是

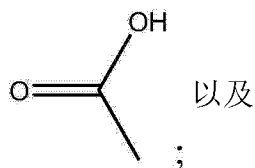


而:

X 是含 1-24 个碳原子的烷基链;

Y 选自氢、羟基、烷基、烷氧基、卤化物、乙酰氧基和芳香族官能团;和

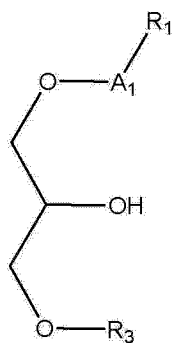
Z 是



R_3 含磷部分,其选自磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸酯、磷酸肌醇-4,5-双磷酸酯、焦磷酸酯、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊醋酸酯、二硝基苯基-磷酸乙醇胺和磷酸甘油,

所述化合物可通过以下方法获得,所述方法包含:

提供具有甘油骨架和至少一个游离羟基基团的第一个化合物,所述第一个化合物具有通式 I:



式 I;

其中 A_1 和 R_1 如针对式 II 所定义, 并且 R_3 选自氢、烷基和芳基;

提供第二个化合物, 其具有至少一个能进行氧化裂解的不饱和键和至少一个能与所述游离羟基基团形成醚键的活性基团;

所述第一个化合物与所述第二个化合物反应, 从而得到第三个化合物, 所述第三个化合物具有所述甘油骨架和通过醚键在 sn-2 位与所述甘油骨架连接的含不饱和键的残基;

其中当所述第一个化合物的 R_3 是氢时, 所述方法进一步包含, 在所述第一个化合物和所述第二个化合物反应之前, 用保护基团保护所述甘油骨架 sn-3 位的游离羟基基团, 使得所述第三个化合物包含在所述 sn-3 位的所述保护基团;

收集所述第三个化合物;

提供在非极性溶剂中的所述第三个化合物的溶液, 所述溶剂是经选择的, 以便所述第三个化合物在其中是可溶的, 而所述反应期间形成的杂质在其中不可溶, 从而提供包括所述溶剂中的所述第三个化合物的所述溶液和不溶性杂质的混合物;

除去所述不溶性杂质; 以及

除去所述溶剂, 从而得到纯化的第三个化合物。

使所述纯化的第三个化合物与氧化剂反应, 以氧化所述不饱和键形成所述 Z, 从而得到第四个化合物, 所述第四个化合物具有所述甘油骨架和通过醚键在 sn-2 位与所述甘油骨架连接的含氧化部分的残基, 其中所述氧化剂包含高碘酸盐和高锰酸盐的混合物;

使用相分离来分离所述第四个化合物, 从而得到纯化的第四个化合物,

所述方法进一步包含, 继分离所述第四个化合物之后:

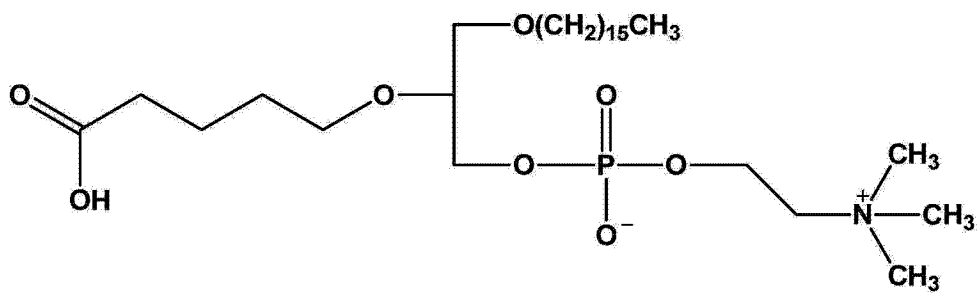
提供具有游离羟基基团的所述纯化的第四个化合物;

使所述纯化的第四个化合物与具有第二活性基团和第三活性基团的活性含磷化合物反应, 所述第二活性基团能与所述游离羟基基团反应, 从而提供具有与甘油骨架连接的活性含磷基团的所述纯化的第四个化合物; 以及

转化所述活性含磷基团为所述含磷部分,

从而获得具有通式 II 的化合物。

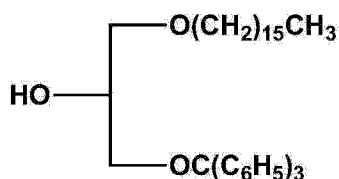
2. 权利要求 1 的化合物, 其是 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油-3-磷酸胆碱, 其具有下式:



3. 权利要求 2 的化合物,其可通过以下方法获得,所述方法包含:

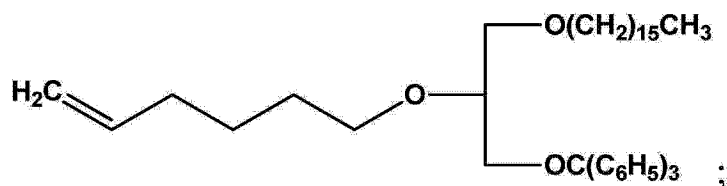
(i) 使包含甘油骨架的第一个化合物与具有不饱和键的第二个化合物反应,以获得第三个化合物,其中,

所述第一个化合物具有下式:



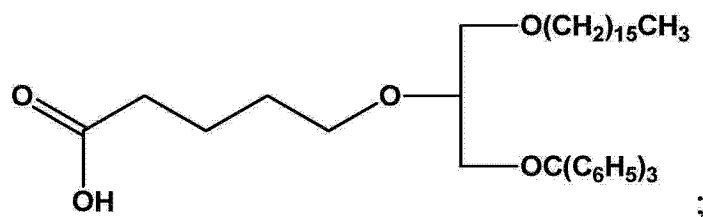
所述第二个化合物具有式 $\text{Br}(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}_2$;

所述第三个化合物具有下式:

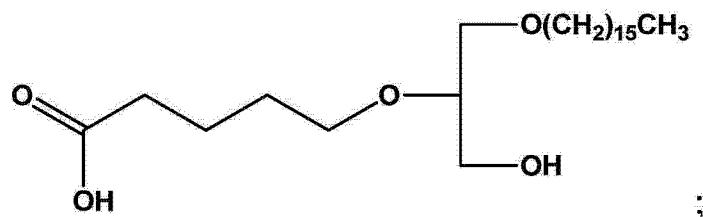


(ii) 在溶剂中形成所述第三个化合物的溶液,并从所述溶液除去不溶性杂质,以获得纯化的第三个化合物;

(iii) 使所述纯化的第三个化合物与高碘酸盐和高锰酸盐的混合物反应,从而氧化所述不饱和键,以形成具有下式的中间化合物:

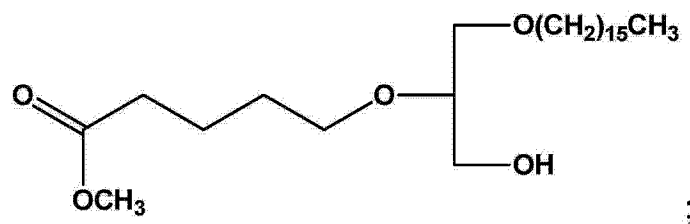


(iv) 从所述中间化合物除去三苯甲基,从而形成具有下式的 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油:



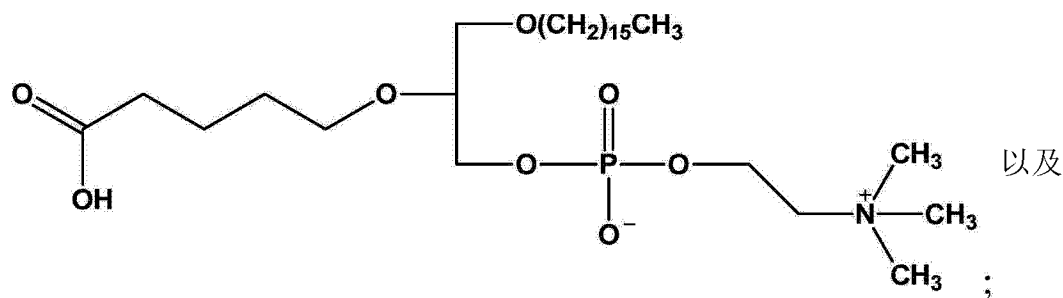
(v) 使用相分离来分离所述 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油,以获得分离的 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油;

(vi) 将所述分离的 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油转化为具有下式的包含甲酯部分的化合物：



(vii) 使所述包含甲酯部分的化合物与 POCl_3 反应, 从而形成具有与甘油骨架连接的活性含磷基团的化合物；

(viii) 将所述活性含磷基团转化为磷酸胆碱部分, 以形成包含胆碱部分的化合物, 所述化合物具有下式：



(ix) 水解所述包含磷酸胆碱部分的化合物的甲酯部分, 从而形成 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油-3-磷酸胆碱。

4. 权利要求 3 的 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油-3-磷酸胆碱, 其中步骤 (ii) 中的所述溶剂为己烷。

5. 权利要求 3 的 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油-3-磷酸胆碱, 其中步骤 (viii) 的所述将所述活性含磷基团转化为磷酸胆碱部分包括使所述具有与甘油骨架连接的活性含磷基团的化合物与乙醇胺和甲苯磺酸甲酯反应。

6. 权利要求 3 的 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-甘油-3-磷酸胆碱, 其中步骤 (ix) 的所述水解使用 LiOH 完成。

制备氧化磷脂的改进方法

[0001] 本申请是专利申请号为 200880006707.6 (国际申请号为 PCT/IL2008/000013)、申请日为 2008 年 1 月 2 日、发明名称为“制备氧化磷脂的改进方法”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 发明领域和背景

[0003] 本发明涉及合成化学领域,且更具体而言,涉及用于制备氧化磷脂、其衍生物、类似物及盐的新合成方法。

[0004] 药理学领域中,修饰的磷脂在许多应用中是已知的。在美国专利 5,985,292 中,公开了经皮和经膜应用的组合物,其混合了含脂溶性活性化合物的磷脂。在美国专利 6,261,597、6,017,513 和 4,614,796 中,公开了混合了用于药物递送的脂质体和生物载体的磷脂衍生物。在美国专利 5,660,855 中,公开了氨基甘露糖衍生化的胆固醇的类脂结构,其适于以平滑肌细胞和组织为靶标,在脂质体中制成制剂。这些制剂的目标是使用 PTCA 操作以减少动脉中的再狭窄。

[0005] 脂质体治疗动脉粥样硬化的用途已进一步公开于 PCT 专利申请公布如 W095/23592 中。其中公开了单室脂质体的药物组合物,其可以包含磷脂。在 W095/23592 中公开的磷脂最佳地针对于从动脉粥样化斑块中溢出的胆固醇,且通常是非氧化磷脂。

[0006] 已知模仿血小板激活因子 (PAF) 结构的修饰的磷脂衍生物是具有药学活性的,发挥例如血管渗透性、血压和心脏功能抑制的功能。在美国专利 4,778,912 中,显示一组这类衍生物具有抗癌活性。

[0007] 在美国专利 4,329,302 中,公开了合成的 1-O-烷基醚或 1-O-脂肪酰基磷酸甘油化合物,其为可用于调节血小板激活的溶血卵磷脂衍生物。在美国专利 4,329,302 中,公开了溶血卵磷脂的短链酰化作用,其产生带血小板激活生物载体的化合物,与长链的酰化作用相反,并公开了在模仿 PAF 方面,1-O-烷基醚在生物学上优于相应的 1-O-脂肪酰基衍生物。

[0008] 关于高血压,各种磷脂的生物活性的结构效应已被 Tokumura 等研究 (Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, July 1981, Vol. 219, No. 1) 及在美国专利 4,827,011 中研究。

[0009] 在瑞士专利 CH642,665 中,公开了有一定生理效应的修饰的磷脂醚衍生物。

[0010] Davies 等人 (J. Biol. Chem. 2001, 276:16015) 教导了氧化磷脂作为过氧化物酶体增生物激活受体激动剂的用途。

[0011] 在美国专利 6,838,452 和 W004/106486 中 (其作为参考引入,如同完全阐述于此),通过本代理人,公开了定义明确的氧化磷脂以及其它合成的氧化 LDL (低密度脂蛋白) 组分的制备。据报道,该公开的化合物在治疗动脉粥样硬化和相关疾病,以及自身免疫疾病和炎性病症中是非常有效的。有进一步报道,氧化磷脂调节了对氧化 LDL 的免疫应答。有进一步报道,作为治疗剂,醚化的氧化磷脂通常优于对应的酯化的氧化磷脂。

[0012] 通过动脉粥样化斑块中丰富的自由基作用和酶促反应而在体内发生磷脂氧化。在体外,氧化磷脂的制备通常包括天然 LDL 或 LDL 磷脂组分的简单化学氧化作用。

研究氧化 LDL 作用的研究者使用了例如亚铁离子和抗坏血酸 (Itabe, H. 等, J. Biol. Chem. 1996; 271: 33208-217) 以及硫酸铜 (George, J. 等, Atherosclerosis. 1998; 138: 147-152; Ameli, S. 等, Arteriosclerosis Thromb Vase Biol 1996; 16: 1074-79) 以产生氧化的, 或轻度氧化的磷脂分子, 其与那些与斑块组分相关的分子相似。同样地, 在小鼠中已显示制备的分子与动脉粥样化形成相关的自动抗原相同 (Watson A. D. 等, J. Biol. Chem. 1997; 272: 13597-607), 并能诱发保护性的抗动脉粥样硬化的免疫耐受 (1999 年 9 月 30 日提交的 Shoenfeld 等的美国专利申请号 09/806, 400)。同样地, 在美国专利 5, 561, 052 中, 公开了制备氧化类脂和磷脂的方法, 其使用磷酸铜和超氧化物歧化酶以制备氧化精氨基琥珀酸或亚油酸和氧化 LDL, 作为诊断用途。

[0013] 上述用于制备氧化磷脂的氧化技术涉及非特异性反应并产生氧化产物的混合物。当该产物合并于药物组合物中时, 非特异性反应降低了收率, 需要进一步的分离步骤, 并增加了不期望的副反应的担忧。

[0014] 1-棕榈酰-2-(5-氧戊酰基)-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (POVPC) 及其衍生物如 1-棕榈酰-2-戊二酰-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (PGPC) 是轻度氧化酯化磷脂的典型实例, 其关于动脉粥样化形成已被研究 (见, 例如, Boullier 等, J. Biol. Chem. . 2000, 275: 9163; Subbanagounder 等, Circulation Research, 1999, pp. 311)。已经研究了属于这类氧化磷脂的不同结构类似物的作用 (见, 例如, Subbanagounder 等, Arterioscler. Thromb. Nasc. Biol. 2000, pp. 2248; Leitinger 等, Proc. Nat. Ac. Sci. 1999, 96: 12010)。

[0015] 通常制备 POVPC 是通过提供含不饱和脂肪酸的磷脂酰胆碱, 以及例如通过臭氧分解 (氧化裂解) 或使用高碘酸作为氧化剂的氧化该脂肪酸的不饱和键。该合成途径通常包含多步合成, 并需要通过柱色谱法的方式分离大多数已形成的中间体。

[0016] 如上面引用的美国专利 6, 838, 452 所述, 醚化的氧化磷脂已同样通过氧化与磷脂主链连接的脂肪酸不饱和键而制备。更具体而言, 根据本发明教导的技术, 醚化的氧化磷脂是通过将不饱和短链脂肪酸引入甘油酯, 将磷酸盐部分引入得到的中间体, 以及通过以下方法氧化脂肪酸链中的不饱和键而制备: (i) 过氧化氢和甲酸, 以便获得二醇, 接着用高碘酸钾, 以便得到醛; 或 (ii) 臭氧分解。当不饱和键氧化裂解产生醛部分时, 其它氧化的部分 (例如羧酸、缩醛等) 是通过进一步氧化醛部分而获得。该多步合成途径时常具有相对较低的总收率的特征, 此外, 需要通过柱色谱法的方式分离大多数已形成的中间体。

[0017] 研究已证明, 在体内使用如上制备的酯化氧化磷脂具有对体内活性成分的识别、结合和代谢敏感的缺点, 使施用后的剂量和稳定性成为重点考虑的因素。醚化的氧化磷脂, 如那些在美国专利 6, 838, 452 和在 W004/106486 中描述的, 显示出较高的生物稳定性和高度的治疗活性。

[0018] 因此, 当前已知的制备醚化的以及酯化的氧化磷脂的方法包括复杂的多步骤操作, 其适于实验室制备, 然而在工业化规模的制备中显示出低效性和复杂性。特别地, 这些多步骤操作在合成方法的不同阶段, 需要工业上不适用的分离技术如柱色谱法。

[0019] 考虑到通常氧化磷脂而且特别是醚化氧化磷脂的有益的治疗活性, 拥有制备醚化的氧化磷脂的改进方法而没有至少本领域内已知方法中的某些缺点, 这是广泛认为有必要而且是非常有利的。

[0020] 发明概述

[0021] 根据本发明的一方面,提供了一种制备含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基的化合物的方法,其包含:提供第一个化合物,其具有甘油骨架和至少一个游离羟基基团;提供第二个化合物,其含有至少一个不饱和键和至少一个能与游离羟基基团形成醚键的反应基团;第一个化合物和第二个化合物反应从而获得第三个化合物,此第三个化合物含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含不饱和键的残基,从而获得纯化的第三个化合物;所述纯化的第三个化合物与氧化剂反应,从而得到第四个化合物,此第四个化合物含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基;并且分离所述第四个化合物以获得纯化的第四个化合物,从而获得所述化合物,其含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基,该方法不含柱色谱法。

[0022] 根据下述的在本发明优选的实施方案中的另一个特征,第一个化合物与第二个化合物的反应在碱存在下进行。

[0023] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述的碱选自氢氧化钠、氢氧化锂、氢氧化钙、氢氧化钡和氢氧化钾。

[0024] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,反应基团是卤化物。

[0025] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,分离第三个化合物包含:收集第三个化合物;提供第三个化合物在溶剂中的溶液,该溶剂是经选择的,以便第三个化合物在其中是可溶的,而反应期间形成的杂质在其中不溶,从而提供包括在溶剂中的此第三个化合物溶液和不溶性杂质的混合物;除去不溶性杂质;并除去溶剂,从而得到纯化的第三个化合物。

[0026] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,溶剂选自汽油醚、己烷和苯。

[0027] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,氧化剂选自甲酸、过氧化氢、高碘酸盐、高氯酸、铋酸盐、高锰酸盐、亚氯酸盐、臭氧、氧化银、四氧化钨及其任意组合。

[0028] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,氧化部分选自羧酸、酯、醛、缩醛、缩酮和二醇。

[0029] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,氧化部分是醛,并且纯化的第三个化合物和氧化剂的反应包含:将纯化的第三个化合物转化为含甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含二醇残基的化合物;并氧化该含有甘油骨架和与甘油骨架相连的含二醇残基的化合物,从而获得第四个化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛的残基。

[0030] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述的转化通过纯化的第三个化合物和第一个氧化剂反应进行,此氧化剂选自高碘酸盐、铋酸盐、高锰酸盐和其任意组合。

[0031] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述的转化通过所述化合物,其含有甘油骨架和与甘油骨架相连的含二醇的残基,与选自高碘酸盐、铋酸盐、高锰酸盐和亚氯酸的第二个氧化剂的反应进行。

[0032] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,分离第四个化合物包含:收集第四个化合物;提供第四个化合物的水溶性加合物;将水溶性加合物置于两相系统中,从而提供包含加合物的水相和含有在与氧化剂反应期间形成的水不溶性杂质的有机相;收集水相;分解加合物;并收集第四个化合物,从而获得纯化的第四个化合物。

[0033] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,提供的水溶性加合物包含:第四个化

合物与纪腊德试剂反应。

[0034] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,氧化部分是羧酸,并且纯化的第三个化合物与氧化剂的反应包含:将纯化的第三个化合物转化为含甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛残基的化合物;氧化含有甘油骨架和与甘油骨架相连的含醛残基的化合物,从而得到含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含羧酸残基的化合物。

[0035] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,转化纯化的第三个化合物为所述化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛残基,包含:转化纯化的第三个化合物为含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含二醇残基的化合物;并且氧化所述化合物,其含有甘油骨架和与甘油骨架相连的含二醇的残基,从而获得含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛残基的化合物。

[0036] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述方法进一步包含分离该化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛的残基,从而获得纯化的化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛的残基。

[0037] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,分离包含:收集所述化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛的残基;提供所述化合物的水溶性加合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛的残基,其如上文所述;将水溶性加合物置于两相系统中,从而提供含复合物的水相和含在转化和/或氧化期间形成的水不溶性杂质的有机相;收集水相;分解加合物;并收集所述化合物,其含甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛的残基,从而得到纯化的化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含醛的残基。

[0038] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,氧化部分是羧酸,且纯化的第三个化合物与氧化剂反应,包含:转化纯化的第三个化合物为化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含环氧化物的残基;并氧化上述化合物,其含有甘油骨架和与甘油骨架相连的含环氧化物的残基,从而获得一种化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含羧酸的残基。

[0039] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述转化包含第三个化合物与过氧化物反应。

[0040] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,氧化部分是羧酸且纯化的第三个化合物与氧化剂的反应包含纯化的第三个化合物与高锰酸盐和高碘酸盐的混合物反应。

[0041] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述反应在碱存在下进行。

[0042] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,第一个化合物含有至少两个游离的羟基基团,所述方法进一步包含,第一个化合物与第二个化合物反应之前:用保护基团保护至少两个基团中的至少一个。

[0043] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,保护基团是三苯甲基。

[0044] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,第一个化合物含有至少两个游离羟基基团,所述方法进一步包含,第一个化合物与第二个化合物反应之前:用保护基团,优选三苯甲基,保护至少两个基团中的至少一个。

[0045] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,当所述方法包括形成含环氧化物的如上文所述化合物时,所述方法进一步包含,在第三个化合物和氧化剂反应之前:用选自醋酸

盐、特戊酸盐或苯甲酸盐的保护基团取代三苯甲基。

[0046] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述化合物含有甘油骨架和至少一个与甘油骨架相连的含氧化部分的残基,进一步包含与甘油骨架相连的含磷的部分,并且所述方法进一步包含,在第一个化合物与第二个化合物反应之前,在分离第三个化合物之前,在第三个化合物与氧化剂反应之前,在分离第四个化合物之前或在分离第四个化合物之后:

[0047] 第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物与含磷的部分反应,从而获得所述化合物,其含有甘油骨架和至少一个与甘油骨架相连的含氧化部分的残基,并且进一步含有与甘油骨架相连的含磷的部分。

[0048] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,至少一个含磷部分是通过磷酸二酯键与甘油骨架相连的磷酸盐部分。

[0049] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,至少一个含磷的部分选自磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊醋酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺和磷酸甘油。

[0050] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述的含磷部分连接于化合物的甘油骨架的 sn-3 位。

[0051] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物与含磷的部分反应包含:提供具有游离羟基基团的第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物;第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物与含磷的活性化合物反应,该化合物含有第二个反应基团和第三个反应基团,所述第二个反应基团能与游离羟基基团和第二个反应基团反应,从而提供第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物,其含有与甘油骨架相连的含磷的基团;并且将含磷的反应基团转化为含磷的部分。

[0052] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,含磷的活性化合物是氧氯化磷(POCl_3)。

[0053] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述反应在碱存在下进行。

[0054] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述的含磷部分是磷酸,且所述的转化包含水解含磷的反应基团。

[0055] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述的含磷部分包含氨基烷基基团,且所述的转化包含含磷的反应基团与氨基烷基基团的衍生物反应,此衍生物是经选择的能与第三个反应基团反应。

[0056] 根据本发明的另一方面,提供了制备含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分残基的化合物的另一种方法,该方法包含:提供第一个化合物,其含有甘油骨架和至少一个游离羟基;提供第五个化合物,其含有至少一个氧化的部分和至少一个第四个反应基团;第一个化合物和第五个化合物反应从而获得含第六个化合物的反应混合物,所述第六个化合物是含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部

分的残基的化合物；并分离此化合物，其含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基。

[0057] 根据以下所述本发明的优选实施方案中的另一个特征，第一个化合物和第五个化合物的反应在碱存在下进行。

[0058] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述的碱选自氢化钠、氢化铝锂、氨基钠、氢氧化钠、氢氧化钾及其任意混合物。

[0059] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，第四个反应基团是卤化物。

[0060] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，氧化部分选自羧酸、酯、酰卤、醛、缩醛、缩酮和二醇。

[0061] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，第五个化合物包含少于 4 个碳原子。

[0062] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，第五个化合物包含 5 个以上的碳原子。

[0063] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，第五个化合物含有至少两个游离羟基，所述方法进一步包含，在第一个化合物和第五个化合物反应之前：用保护基团保护至少两个基团中的至少一个。

[0064] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述保护基团是三苯甲基。

[0065] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述化合物，其含有甘油骨架和至少一个与甘油骨架相连的含氧化部分的残基，进一步包含与甘油骨架相连的含磷的部分，所述方法进一步包含，第一个化合物和第五个化合物反应之前或之后，或分离第六个化合物之后：第一个化合物或第六个化合物与含磷的部分反应，从而获得化合物，其含有甘油骨架和至少一个与甘油骨架相连的含氧化部分的残基，且进一步含有与甘油骨架相连的含磷的部分，其如上文所述。

[0066] 根据以下所述本发明的优选实施方案中的另一个特征，本文所述的任意方法中，第一个化合物进一步包含至少一个含 1-30 个碳原子的烯基链。

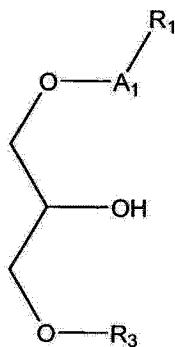
[0067] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述烯基链通过醚键与甘油骨架相连。

[0068] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述烯基链连接于第一个化合物的甘油骨架的 sn-1 位。

[0069] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述含氧化部分的残基与化合物的 sn-2 位相连，且进一步地其中甘油骨架的游离羟基基团中的至少一个是在第一个化合物的 sn-2 位。

[0070] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，第一个化合物具有通式 I：

[0071]



式 I

[0072] 其中：

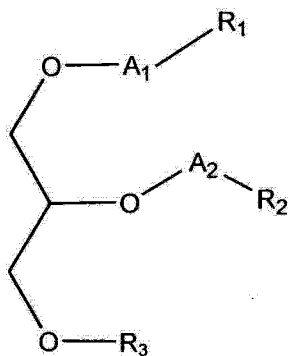
[0073] A_1 不存在或选自 CH_2 、 $CH=CH$ 和 $C=O$ ；

[0074] R_1 选自 H 和含 1-30 个碳原子的烃链；并且

[0075] R_3 选自氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心肌磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油。

[0076] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述化合物,其含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的氧化部分,具有通式 II：

[0077]



式 II

[0078] 其中：

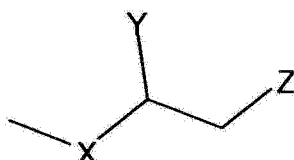
[0079] A_1 选自 CH_2 、 $CH=CH$ 和 $C=O$ ；

[0080] A_2 是 CH_2 ；

[0081] R_1 是含 1-30 个碳原子的烷基；

[0082] R_2 是

[0083]



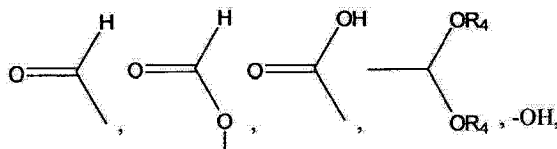
[0084] 而：

[0085] X 是含 1-24 个碳原子的烷基链；

[0086] Y 选自氢、羟基、烷基、烷氧基、卤化物、乙酰氧基和芳香族官能团；和

[0087] Z 选自：

[0088]



[0089] 其中 R_4 是烷基或芳基；以及

[0090] R_3 选自氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心肌磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油。

[0091] 根据本发明的再另一方面，提供了将磷酸盐部分引入含有甘油骨架和含有通过醚键与其相连的含氧化部分或含前氧化部分的残基的化合物的方法，其包含：提供一种化合物，其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分或前氧化部分的残基及至少一个游离羟基基团；上述化合物与含磷的化合物反应，后者含有第二个反应基团和第三个反应基团，所述第二个反应基团能与游离羟基基团反应，从而提供化合物，其含有含氧化部分或前氧化部分的残基和含磷的反应基团；并将含磷的反应基团转化为磷酸盐部分，从而将磷酸盐部分引入上述化合物。

[0092] 根据以下所述本发明的优选实施方案中的另一个特征，含有甘油骨架的化合物包含至少一个含 1-30 个碳原子的烯基链。

[0093] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述烯基链通过醚键与甘油骨架相连。

[0094] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述烯基链连接于所述化合物的甘油骨架的 sn-1 位。

[0095] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述氧化部分选自羧酸、酯、酰卤、醛、缩醛、二醇和缩酮。

[0096] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述前氧化部分是不饱和部分。

[0097] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述含磷的化合物是 POCl_3 。

[0098] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述反应在碱存在下进行。

[0099] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述碱是叔胺。

[0100] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征，所述含磷的化合物是 POCl_3 ，且含磷的反应基团是二氯磷酸基团。

[0101] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述含甘油骨架的化合物含有通过醚键与其相连的含前氧化部分的残基。

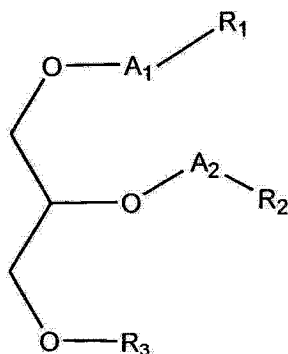
[0102] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述磷酸盐部分选自磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、磷酸基心肌磷脂、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油。

[0103] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,所述磷酸盐部分是磷酸,并且所述转化包含水解含磷的反应基团。

[0104] 根据所述优选实施方案中的再另一个特征,磷酸盐部分包含烷基氨基,并且所述转化包含含磷的活性部分与氨基烷基衍生物反应,该衍生物能与含磷的反应基团反应。

[0105] 根据本发明再另一方面,提供了一种制备具有甘油化合物和至少一个通过醚键与甘油骨架连接的氧化部分的化合物的方法,所述化合物具有通式 II:

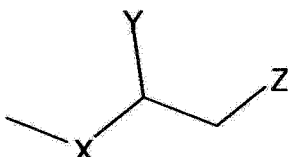
[0106]



式 II

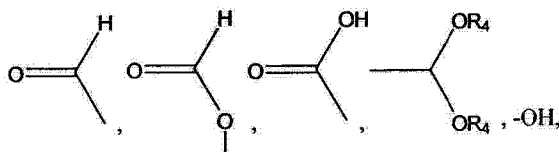
[0107] 其中: A_1 选自 CH_2 、 $CH=CH$ 和 $C=O$; A_2 是 CH_2 ; R_1 是含 1-30 个碳原子的烷基; R_2 是

[0108]



[0109] 而: X 是含 1-24 个碳原子的烷基链; Y 选自氢、羟基、烷基、烷氧基、卤化物、乙酰氧基和芳香族官能团; 和 Z 选自:

[0110]

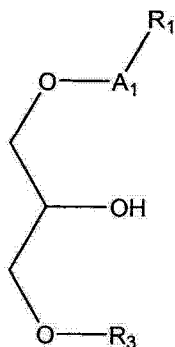


[0111] 其中 R_4 是烷基或芳基; 以及 R_3 选自氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心肌磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁

醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油,所述方法包含:

[0112] 提供具有甘油骨架和至少一个游离羟基基团的第一个化合物,所述第一个化合物具有通式 I:

[0113]



式 I;

[0114] 提供第二个化合物,且具有至少一个不饱和键和至少一个能与游离羟基基团形成醚键的活性基团;第一个化合物与第二个化合物反应,从而得到第三个化合物,所述第三个化合物具有甘油骨架和通过醚键在 sn-2 位与甘油骨架连接的含不饱和键的残基;分离第三个化合物,从而得到纯化的第三个化合物;纯化的第三个化合物与氧化剂反应,从而得到第四个化合物,所述第四个化合物具有甘油骨架和通过醚键在 sn-2 位与甘油骨架连接的含氧化部分的残基;以及分离第四个化合物,从而得到纯化的第四个化合物,从而获得具有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架连接的含氧化部分的残基,所述方法不含柱色谱法。

[0115] 根据下文所述本发明优选实施方案中的另外特征,分离第三个化合物包含:收集第三个化合物;提供第三个化合物在溶剂中的溶液,选择所述溶液以便第三个化合物在其中是可溶性的,而反应期间形成的杂质在其中不可溶,从而提供包括所述溶剂中的所述第三个化合物的所述溶液和不溶性杂质的混合物;除去所述不溶性杂质;以及除去所述溶剂,从而得到所述纯化的第三个化合物。

[0116] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,氧化部分选自羧酸和酯。

[0117] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,氧化剂包含高碘酸盐和高锰酸盐的混合物。

[0118] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,纯化的第三个化合物与氧化剂的反应在碱存在下进行。

[0119] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,其中 R_3 是氢,所述方法进一步包含,第一个化合物和第二个化合物反应之前:用保护基团保护甘油骨架 sn-3 位的游离羟基基团。

[0120] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,所述化合物具有甘油骨架和至少一个与甘油骨架连接的含氧化部分的残基,进一步包含与甘油骨架连接的含磷部分,以便 R_3 选自磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷

脂酰心肌磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油,所述方法进一步包含,继分离第四个化合物之后:纯化的第四个化合物与含磷部分反应,从而得到以下化合物,其具有甘油骨架和至少一个与甘油骨架连接的含氧化部分的残基,并且进一步具有与甘油骨架连接的含磷部分。

[0121] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,所述至少一个含磷部分是通过磷酸二酯键与甘油骨架连接的磷酸盐部分。

[0122] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,纯化的第四个化合物与含磷部分的反应包含:提供具有游离羟基基团的纯化的第四个化合物;纯化的第四个化合物与活性含磷化合物反应,所述含磷化合物具有第二活性基团和第三活性基团,所述第二活性基团能与游离羟基基团和第二活性基团反应,从而提供具有与甘油骨架连接的活性含磷基团的第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物;以及转化活性含磷基团为含磷部分。

[0123] 根据所述优选实施方案中的再另外的特征,所述含磷化合物是氧氯化磷(POCl_3)。

[0124] 通过提供新的合成路线,本发明成功讲述了目前已知的构型的缺点,此路线能有利地用于规模化制备氧化磷脂。

[0125] 除另有说明外,此处使用的技术和科学术语具有与本发明所属领域内的普通技术人员之一通常理解相同的含义。尽管与此处所述相似或相当的方法和材料可用于实践中或检验本发明,但是以下描述了适宜的方法和材料。如果发生冲突,将管理本发明说明书,包括定义。另外,材料、方法和实施例仅用作说明,并不是限制。

[0126] 如此处使用的,术语“混合物”描述包括一种以上物质的混合物,且其可在任意形式中,例如,作为同质的溶液、混悬液、分散系、二相性溶液和更多的。

[0127] 如本申请中使用的,单数形式“一”、“一”和“此”包括复数关系,除上下文另外清楚地指出外。

[0128] 整篇本公开内容中,本发明的不同方面可以范围格式存在。应当理解,范围格式的说明只是为了方便和简短,并且不应被解释为本发明范围的固定的限制。相应地,应当理解范围的描述已明确地公开了所有可能的亚范围以及该范围内的各数值。例如,如1-6的范围描述应被认为已明确地公开了亚范围如1-3、1-4、1-5、2-4、2-6、3-6等,以及该范围内的各数字,例如,1、2、3、4、5和6。这一应用不管范围的宽度。

[0129] 每当在此处指定数字范围时,表示包括任意引用的在指定范围内的数字(分数或整数)。短语“范围/范围在”第一个指定数字和第二个指定数字之间以及“范围/范围从”第一个指定数字“到”第二个指定数字在此处可交换使用,并表示包括第一个和第二个指定数字以及所有其间的分数和整数。

[0130] 如在此处普遍使用的,术语“包含”、“包括”和“含有”表示可加入不影响最终结果的其它步骤和成分。这些术语包含术语“由...组成”和“基本上由...组成”。

[0131] 术语“基本上由...组成”表示组合物或方法可以包括另外的成分和/或步骤,但是只要另外的成分和/或步骤实质上不改变所要求的组合物或方法的基本的和新的特征。

[0132] 术语“方法”或“过程”指的是为完成给予的任务的方法、手段、技术和操作，包括但不限于那些已知的方法、手段、技术和操作，或由化学、药理学、生物学和医学领域的从业者从已知的方法、手段、技术和操作很容易发展出来的方法、手段、技术和操作。

[0133] 术语“磷脂”在此处用于共同描述包括非极性类脂基团和高极性末端磷酸基团的化合物。在磷脂化合物的天然家族中特别的和最普遍的一个是化合物的磷酸甘油酯族。因此，除另外指出，此处普遍使用的术语“磷脂”通常用于描述磷酸甘油酯。

[0134] 因此，术语“磷酸甘油酯”在此处用于描述含有甘油骨架、一个或多个类脂部分和一个或多个磷酸末端基团的化合物，其与甘油骨架连接。多数天然发生的甘油酯包括两个与 sn-1 和 sn-2 位相连的类脂部分和一个与甘油骨架的 sn-3 位相连的磷酸盐部分。

[0135] 因此，术语“氧化磷脂”在此处用于描述磷脂以及磷酸甘油酯，其包括一个或多个氧化部分，此术语如下文所述。通常，在氧化磷脂中，氧化的部分包括在类脂部分中。

[0136] 术语“甘油酯”描述含有甘油骨架和与其相连的一个或多个类脂部分的化合物。类脂部分可通过酯和 / 或醚键与甘油骨架相连。

[0137] 如此处使用的，术语“类脂”描述含有 3-30 个碳原子的烃类残基。在天然生成的化合物中，磷脂和甘油酯中的类脂得自脂肪酸，并因此通过 O- 酰基(酯)键与骨架相连。在此处，类脂部分可通过醚或酯键与骨架相连。

[0138] 如此处使用的，关于磷脂或甘油酯的术语“单 - 酯化”和“二 - 酯化”描述氧化的或非氧化的磷脂或甘油酯，其中一个或两个类脂部分分别通过酯(例如，O- 脂肪酰基)键与甘油骨架相连。

[0139] 如在此处使用的，关于磷脂或甘油酯的术语“单 - 醚化”和“二 - 醚化”描述氧化的或非氧化的磷脂或甘油酯，其中一个或两个类脂部分分别通过醚键与甘油骨架相连。

[0140] 术语“甘油磷脂”描述含有甘油骨架和与其一位相连的磷酸基团的化合物。

[0141] 术语“磷酸甘油酯”描述含甘油骨架、一个或两个类脂部分和与其相连的磷酸盐部分的化合物。

[0142] 术语“单 - 醚化磷酸甘油酯”描述磷酸甘油酯，其中类脂部分通过醚键与甘油骨架相连。

[0143] 如此处使用的，术语“部分”描述形成化合物一部分的功能性成分或官能团。

[0144] 术语“残基”，如本领域内公知的那样，用于描述连接于另一分子的一个分子的主要部分。

[0145] 优选实施方案的描述

[0146] 本发明是制备氧化磷脂的新方法，其可有效用于这类氧化磷脂的规模化生产。特别地，本发明是将氧化部分引入含有甘油骨架的化合物的新方法，并且进一步地是将含磷部分引入这类化合物的新方法。本文所述的新方法不含柱色谱法，且通常使用市售可得的环境友善的试剂。

[0147] 根据本发明，新合成方法的原理和操作可参考所附的说明被更好的理解。

[0148] 在详细解释至少一个本发明的实施方案之前，应理解，本发明在其应用中不限于以下说明书中阐述的或通过实施例举例说明的细节。本发明能其它实施方案或能通过各种方法被实践或操作。同样地，应理解此处使用的措辞和术语是为了说明，且不应认为是限制。

[0149] 如上文所讨论的,最近有报道,明确定义的、综合制备的氧化磷脂能调节对氧化 LDL 的免疫应答,且因此在治疗动脉粥样硬化和相关疾病,以及自身免疫疾病和炎症病症中是非常有效的。有进一步报道,作为治疗剂,醚化氧化磷脂普遍优于对应的酯化氧化磷脂。

[0150] 这些非常有益的氧化磷脂通常包括甘油骨架,其与类脂残基、磷酸盐残基和含氧化部分的类脂残基相连,例如,如美国专利 6,838,452 和 W004/106486 中详细描述。

[0151] 如上文所进一步讨论的,目前已知的制备这类明确定义的合成的氧化磷脂的方法包含多步合成。尽管发现这些多步合成是相对有效的,产生适度至良好的收率,但是这些方法被需要对各种在合成过程中形成的中间体进行艰苦的分离和纯化操作所限制。尤其是,这些操作通常包含技术,如柱色谱法,其被熟练技术人员广泛公认是工业上不适用的技术,或至少从成本的观点是无效的,复杂性和使用过量的有机溶剂,其是有害的并需要特别小心废物治理。在这些方法中需要使用柱色谱法起源于该事实,在这些多步合成中形成的中间体以及终产物通过更常规的技术如提取、结晶等不能被分离和 / 或纯化。

[0152] 由于这些综合制备的氧化磷脂发挥特别有益的治疗活性,非常希望制备高纯度的这些化合物。此外,由于这些氧化磷脂的制备包含多步合成,为了使这类方法得到适量的收率和最小量的副产品,所以要求中间体的纯化。

[0153] 在寻找制备氧化磷脂的新方法中,其能有效用于这些化合物的规模化生产,虽然其设法避开了需要使用艰苦技术如柱色谱法,但是本发明者已设计并成功将新合成方法学实践于将氧化部分和 / 或磷酸盐部分引入含甘油骨架的化合物中,其设法避开了柱色谱法的不利用途并导致了相对高的纯化化合物的收率。在此处所述方法进一步通常使用商业上可得的、无害的试剂,其进一步供给其工业上的适用性。

[0154] 本文所述的新合成方法学可分解如下:

[0155] (i) 通过引入不饱和部分和氧化不饱和部分,将氧化部分引入含甘油骨架的化合物的新方法,而紧接着所述的氧化,含氧化部分的化合物可被分离并通过水溶性加合物的方法纯化;

[0156] (ii) 通过引入不饱和部分和氧化不饱和部分,将氧化部分引入含甘油骨架的化合物的新方法,而所述的氧化是通过环氧化物中间体及在选择性保护基团存在下进行的;

[0157] (iii) 通过引入不饱和部分和不饱和部分的氧化,将氧化部分引入含甘油骨架的化合物的新方法,而所述氧化可直接进行并允许氧化产物通过简单相分离方法分离和纯化;

[0158] (iii) 通过直接引入氧化部分,将氧化部分引入含甘油骨架的化合物的新方法;以及

[0159] (iv) 通过引入含磷反应基团,将磷酸盐引入任选含与其连接的氧化或前氧化部分的甘油脂。

[0160] 由于氧化磷脂的优良性能,其含氧化部分的残基通过醚键与骨架相连,这些方法都涉及含氧化部分的残基通过醚键与甘油骨架的连接。

[0161] 如以下实施例部分所证明的,使用这些方法学,明确定义的氧化磷脂以相对高的收率和纯度已被成功制备。

[0162] 因而,根据本发明的一个方面,提供了一种制备含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分残基的化合物的方法,其无需柱色谱法。根据本发明的此

方面,所述方法通过以下实现:

[0163] 提供第一个化合物,其含有甘油骨架和至少一个游离羟基基团;

[0164] 提供第二个化合物,其含有至少一个不饱和键和至少一个能与所述游离羟基基团形成醚键的活性基团;

[0165] 第一个化合物与第二个化合物反应,从而获得第三个化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含不饱和键的残基;

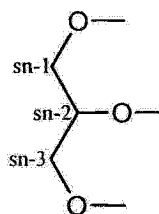
[0166] 分离第三个化合物,从而获得纯化的第三个化合物;

[0167] 纯化的第三个化合物与氧化剂反应,从而获得第四个化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基;以及

[0168] 分离第四个化合物,从而以得到纯化的第四个化合物,从而得到所述化合物,其含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基。

[0169] 如在此普遍使用的,短语“含甘油骨架的化合物”,其在此也指的是可互换的“甘油的化合物”或“甘油化合物”,描述了包括以下骨架的化合物:

[0170]



[0171] 当所述化合物是甘油时,各甘油位 sn-1、sn-2 和 sn-3 被游离羟基取代。

[0172] 如在此普遍使用的,短语“氧化部分”和“含氧化部分的残基,其在此可互换使用,描述了有机部分,其中至少一个碳原子被氧原子取代。实例,不限于,包括醛、羧酸、羧酸酯、二醇、缩醛和缩酮。短语“含有含氧化部分残基的化合物”和“含氧化部分的化合物”在此也可互换使用。

[0173] 根据本发明此方面的方法是依据将不饱和部分引入甘油化合物并将不饱和键氧化裂解。然而,当这一合成路线在目前已知的甘油氧化磷脂中使用,本发明者已设计并成功应用这一方法,其中含有与其相连的氧化部分的甘油化合物可被分离并且无需使用柱色谱法纯化。

[0174] 将不饱和部分引入甘油化合物通常使用本领域内已知的方法进行如,例如在美国专利 6,838,452 中所述的。

[0175] 通常,选择第一个化合物,其含有甘油骨架和至少一个游离羟基基团,作为起始原料。

[0176] 获得含有不饱和部分和第一个反应基团的化合物,其在此也指的是第二个化合物,可以是商业可得或使用本领域内已知的方法,并与甘油起始原料反应。

[0177] 第一个反应基团是选择性的能与游离羟基基团反应。与游离羟基基团反应以便形成醚键通常是通过亲核机理进行,并且因此第一个反应基团优选其特征为好的离去基团,且可以是,例如,卤化物、磺酸盐和任意其它离去基团。

[0178] 优选地,反应基团是卤化物,且更优选地,是溴化物。

[0179] 优选选择第二个化合物,以便不饱和部分存在于其末端位置,以便促进后面的氧

化反应。对于“不饱和部分”在此表示包括至少两个碳原子的部分，该碳原子于其间通过不饱和和键连接，例如双键或三键，优选双键。

[0180] 进一步优选地，第二个化合物包含 4-30 个碳原子，更优选 4-27 个碳原子，更优选 4-16 个碳原子，更优选 4-10 个碳原子，更优选 4-8 个碳原子，并且最优选第二个化合物包含 6 个碳原子。

[0181] 在此处所述第一个化合物与第二个化合物反应通常在碱存在下进行。本发明的上下文中使用的适宜的碱包括，不限于，无机碱如氢氧化钠、氢氧化锂、氢氧化钙、氢氧化钡和氢氧化钾。

[0182] 第一个化合物和第二个化合物反应通常在溶剂存在下进行。本发明的上下文中使用的适宜的溶剂包括，不限于，非极性溶剂如汽油醚、己烷、苯和甲苯。

[0183] 如果希望选择性地进行反应，即将不饱和部分引入甘油骨架的某一位置，如果存在，游离羟基而非反应羟基应在反应前被保护。

[0184] 因此，遇此情况，根据本发明的此方面的方法，任选并优选进一步包含，第一个化合物和第二个化合物反应之前，保护一个或多个在第一个化合物内存在的另外的游离羟基。

[0185] 已知的任意羟基保护基团可在本发明的上下文中使用。根据本发明该方面优选的实施方案，保护基团是三苯甲基。

[0186] 由于空间位阻，三苯甲基是一庞大的基团，其通常用作选择性保护基团。因此，当含一个以上游离羟基基团的化合物反应时，三苯甲基通常将与位阻较小的基团反应。

[0187] 如上文所指出的及在美国专利 6,838,452 和 W004/106486 中详细进一步讨论的，与氧化部分相连的甘油骨架的位置将影响化合物的活性。因此，进行制备此处选择性描述的甘油化合物是非常有利的，以便含氧化部分的残基将在希望的位置上连接。如在美国专利 6,838,452 中所进一步证明的，含有连接于甘油骨架的 sn-2 位的含氧化部分的残基的氧化磷脂发挥优良的性能。

[0188] 至结束时，当将上述的第二个化合物引入甘油骨架时，使用三苯甲基作为保护基团是非常有利的，因为由于其庞大性，将影响在 sn-1 和 / 或 sn-3 位的羟基末端基团的保护，离去可用于进一步取代的在 sn-2 的羟基基团。

[0189] 一旦第一个化合物和第二个化合物的反应完成，得到反应混合物，其包含含甘油骨架和通过醚键与其相连的含不饱和部分的残基。这一化合物在此也指的是可互换的第三个化合物。

[0190] 依据使用的起始原料，第三个化合物可进一步包括一个或多个保护基团，保护可存在于甘油骨架内的游离羟基。

[0191] 然后，从反应混合物分离第三个化合物，保护的或脱保护的，并处理以便得到纯化的化合物。

[0192] 在优选的实施方案中，分离第三个化合物通过首先收集形成的第三个化合物形成。收集第三个化合物通常使用常规技术进行，如提取、除去溶剂、过滤等，包括其任意联用。一旦收集，将粗品产物溶于溶剂中，而溶剂是经选择的，以便第三个化合物在其中是可溶的而在第一个和第二个化合物反应期间形成的杂质在其中不溶。

[0193] 术语“杂质”在此处用于描述存在于最终粗品产物中且不是产物本身的任何物质，

且包括,例如,未反应的起始原料和副产物。

[0194] 使用这一溶剂,获得混合物,其包括在这一溶剂中的第三个化合物的溶液和不溶性物质。在本发明的上下文中使用的适宜的溶剂包括,不限于,非极性溶剂如汽油醚、己烷、苯、庚烷和甲苯。优选地,溶剂是汽油醚。进一步优选地,溶剂是己烷。

[0195] 然后,将不溶性杂质从混合物中除去,优选地通过过滤,除去溶剂并得到纯化的第三个化合物,同时设法避开了在其纯化步骤中使用柱色谱法的必要。

[0196] 然后,纯化的第三个化合物于氧化剂反应,以便氧化不饱和部分,并从而获得第四个化合物,其中含氧化部分的残基通过醚键与甘油骨架相连。

[0197] 氧化剂的选择依据希望被氧化的部分,如以下详述的,且可以是例如过氧化物、高碘酸盐、铋酸盐、高锰酸盐、亚氯酸盐、臭氧、氧化银、四氧化锇和其任意组合。

[0198] 如此处使用的,术语“高碘酸盐”描述了含有式 XIO_4 的化合物,其中 X 可以是氢(对于高碘酸)或金属一价阳离子(例如,钠、钾)。优选的高碘酸盐是高碘酸钠 ($NaIO_4$)。

[0199] 术语“铋酸盐”描述了含有式 $XBiO_3$ 的化合物,其中 X 可以是氢或金属一价阳离子(例如,钠、钾)。

[0200] 术语“高锰酸盐”描述了含有式 $XMnO_4$ 的化合物,其中 X 可以是氢或金属一价阳离子(例如,钠、钾)。优选的高锰酸盐是高锰酸钾 ($KMnO_4$)。

[0201] 术语“亚氯酸盐”描述了含有式 $XCIO_2$ 的化合物,其中 X 可以是氢或金属一价阳离子(例如,钠、钾)。如此处使用的,术语“过氧化物”包括含有式 $R-O-O-H$ 的化合物,其中 R 可以是氢、烷基、环烷基、芳基、氧基烷基、氧基环烷基和氧基芳基,如这些术语在此处所确定的。

[0202] 如在此普遍使用的,术语“烷基”指的是饱和脂肪烃包括直链和支链基团。优选地,烷基基团含有 1-20 个碳原子。

[0203] “环烷基”基团指的是所有碳的单环或稠和环(即,共享一对邻近碳原子的环)基团,其中多个环中的一个不含有完全共轭的 π -电子系统。环烷基基团的实例,不限于,是环丙烷、环丁烷、环戊烷、环戊烯、环己烷、环己二烯、环庚烷、环庚三烯和金刚烷胺。

[0204] “芳基”基团指的是所有碳的单环或稠和环的多环(即,共享邻近碳原子对的环)基团,其含有完全共轭的 π -电子系统。芳基基团的实例,不限于,是苯基、萘基和蒽基。

[0205] 术语“氧基烷基”、“氧基环烷基”和“氧基芳基”描述了 $R'-C(=O)-$ 基团,其中 R' 分别是烷基、环烷基或芳基,以便过氧化物是过氧羧酸。

[0206] 优选地,过氧化物是过氧化氢或过氧羧酸(例如,过氧苯甲酸)。

[0207] 因此,在本发明的此方面的一个实施方案中,氧化部分是醛,且第三个化合物与氧化剂反应是通过首先转化第三个化合物中的不饱和部分为二醇部分进行的,优选地通过氧化剂,其在此指的是第一个氧化剂;然后用第二个氧化剂,进一步氧化二醇部分为醛部分。

[0208] 第一个和第二个氧化剂可以相同或不同,且可以是,例如,过氧化物、高碘酸盐、铋酸盐、高锰酸盐、亚氯酸盐、臭氧和其任意组合。

[0209] 如果第一个和第二个氧化剂是相同的,且依据使用的氧化剂,转化不饱和部分为二醇部分及氧化二醇部分可同时进行。在此方面使用的适宜的氧化剂包括能诱导不饱和部分氧化裂解的氧化剂例如臭氧、四氧化锇和高锰酸钾。

[0210] 如果第一个第二个氧化剂是不同的,优选第一个氧化剂是过氧化物,如过氧化氢,

且第二个氧化剂是,例如,高碘酸盐或铊酸盐。

[0211] 在其中可进行转化和氧化操作的反应条件根据使用的氧化剂确定。

[0212] 在本发明的此方面的优选的实施方案中,第一个和第二个氧化剂是不同的,且转化不饱和部分为二醇部分和氧化二醇部分连续地进行。进一步地,根据本发明的此方面优选的实施方案,一旦得到二醇,保护基团,如果存在,被除去以便获得含有三个或更多游离羟基基团的化合物(此处为三元醇)。由于其唯一的化学特征,通过结晶的方法,在其氧化为醛之前,这一化合物容易被纯化,如在以下实施例(见,实施例 1)部分中确定的。一旦被纯化,在下一合成步骤之前,可能影响在 sn-1 和 / 或 sn-3 位游离羟基基团的选择性保护。

[0213] 因此,将形成的含醛甘油化合物从反应化合物分离并纯化。

[0214] 在本发明的此方面的优选实施方案中,通过形成其水溶性加合物来纯化醛。

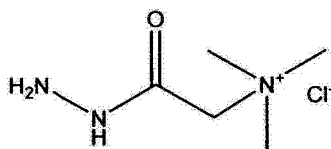
[0215] 因此,一旦与氧化剂的反应完全,则使用如上所述的常规技术收集含醛的第四个化合物,且此后将粗品产物转化为其水溶性加合物。通过在两相系统中进行这一转化,得到含有水溶性加合物的水相和含有水不溶性杂质的有机相。由于在氧化反应期间形成的多数副产物和未反应的原料是有机物质,通过收集水相,这些有机物质很容易从水溶性加合物分离。此后,通过分解水溶性加合物,恢复含醛化合物。

[0216] 在本发明的上下文中使用的适宜的水溶性加合物优选通过含醛化合物与纪腊德试剂反应获得。

[0217] 纪腊德试剂是能与含羰基化合物形成水溶性脎加合物的一族物质,因此可从其它有机非羰基化合物分离含羰基的化合物。纪腊德试剂是氨基脲的离子衍生物。

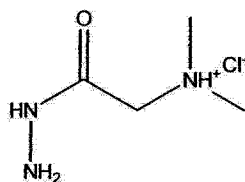
[0218] T 形式是(羧甲基)三甲基氯化铵脎肼:

[0219]



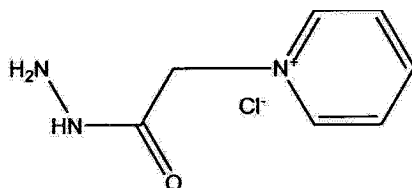
[0220] D 形式是(羧甲基)二甲基氯化铵脎肼:

[0221]



[0222] 以及 P 形式是 1-(羧甲基)吡啶鎓氯化物脎肼:

[0223]



[0224] 因此,通过用纪腊德试剂将含醛化合物转化为其水溶性加合物,很容易和方便地获得纯化的第四个化合物,而避免了使用柱色谱法。

[0225] 如果氧化部分是羧酸,第三个化合物和氧化剂反应可以通过首先提供含醛化合物进行,任选且优选如上文所述,并且进一步地任选且优选,通过提供纯化的含醛化合物,使用上文所述方法学,并且此后进一步氧化醛为羧酸。

[0226] 氧化醛为羧酸优选通过醛和氧化剂如亚氯酸盐反应进行。

[0227] 或者,不饱和部分可通过环氧化物中间体被氧化为羧酸。

[0228] 因此,第三个化合物和氧化剂反应可以通过转化不饱和部分为环氧化物,并转化环氧化物为羧酸进行。优选地,转化环氧化物为羧酸通过转化环氧化物为二醇并氧化二醇进行,以便获得羧酸部分。

[0229] 将第三个化合物转化为过氧化物优选通过第三个化合物与过氧化物反应进行,如上文所述,且更优选用过氧羧酸。

[0230] 转化环氧化物为二醇优选通过环氧化物与高氯酸(HClO_4)反应进行。或者,通过其与硫酸反应,过氧化物被转化为二醇。

[0231] 然后,通过与第三个氧化剂反应,二醇被转化为羧酸。第三个氧化剂可选自高碘酸盐、铋酸盐、高锰酸盐、亚氯酸盐及其任意组合。优选地,通过其与高碘酸盐反应,随后与亚氯酸盐反应,将二醇转化为羧酸。

[0232] 因此,获得第四个化合物,其含有甘油骨架和通过醚键与其连接的含羧酸的部分,然后纯化,以便获得纯化的产物。

[0233] 本发明者现已惊讶地发现如果其游离羟基是被保护基团如醋酸盐、特戊酸盐或苯甲酸盐保护的,通过环氧化物中间体得到的第四个化合物很容易被纯化,而避免了使用柱色谱法。

[0234] 如上文提及的,如果在甘油骨架中存在,游离羟基基团优选被保护,而优选的、选择性的保护基团是三苯甲基。然而,由于三苯甲基是巨大的、庞大的且是极性部分,在某些情况下,其存在使各种中间体和终产物的分离和纯化操作复杂。

[0235] 本发明者现已揭露与三苯甲基相关的缺陷容易被设法避开,通过:(i) 通过形成其水溶性加合物分离含醛化合物,如上文广泛所述的;或(ii) 用较小的基团取代三苯甲基保护基团,然后引入第二个化合物。另外,如上文所述,当氧化第三个化合物包含形成二醇时,一旦形成二醇,三苯甲基保护基团可被除去且得到的三元醇可通过结晶作用被分离。

[0236] 因此,根据本发明优选的实施方案,方法进一步包含,提供纯化的第三个化合物之后和/或第三个化合物与氧化剂反应之前:用选自醋酸盐、特戊酸盐或苯甲酸盐的保护基团取代三苯甲基基团。

[0237] 取代三苯甲基基团通常通过除去三苯甲基基团进行,以便获得游离羟基基团并用希望的保护基团保护羟基基团。

[0238] 用醋酸盐基团保护羟基基团通过第三个化合物与例如醋酸酐容易进行。用特戊酸盐基团保护羟基基团通过第三个化合物与例如特戊酰氯反应很容易进行。用苯甲酸盐基团保护羟基通过第三个化合物与例如苯甲酰氯很容易进行。

[0239] 纯化如此处所述第四个化合物,其含有醋酸盐、特戊酸盐或苯甲酸盐保护基团,可以通过常规提取技术进行,优选在提取操作期间使用硅胶。

[0240] 如在以下实施例部分中所证明的(参见,实施例2),研究发现通过形成含有醋酸盐基团的含环氧化物的中间体,制备含有通过醚键与其相连的含氧化部分基团的甘油化合

物,产生高纯度的化合物和高的反应收率。

[0241] 本发明人已进一步揭露了具有羧酸作为氧化部分的第四个化合物可很容易通过本文所述第三个化合物与作为氧化剂的高碘酸盐和高锰酸盐混合物反应得到。

[0242] 第三个化合物直接转化为含羧酸的化合物是非常有益的,由于其通过还原编号的合成过程使全部过程明显更有效,并且进一步包括需要纯化氧化过程期间形成的中间体。另外,在此途径中使用的氧化剂包含安全、无害试剂。

[0243] 因此,根据本发明目前最优选地实施方案,氧化部分是羧酸,并且氧化第三个化合物通过第三个化合物与高碘酸盐和高锰酸盐混合物反应进行。

[0244] 这一类反应优选在碱存在下进行。适于在本发明的此实施方案中使用的优选碱包括碳酸钠和碳酸氢钠。

[0245] 如果得到的第四个化合物具有保护基团,如上文所述,一旦得到、分离并任选纯化第四个化合物,则除去保护基团。

[0246] 如果氧化部分是羧酸,除去保护基团后第四个化合物很容易分离,并得到具有羧基部分和羟基部分的化合物。

[0247] 与上文描述的分离和纯化第三个化合物的方法相似,第四个化合物通过溶解于溶剂中很容易纯化,而所述溶剂是经选择的,以便第四个化合物在其中是可溶性的,而氧化过程期间形成的杂质在其中不可溶。

[0248] 此外,可选择这一类溶剂,以便第四个化合物在其中是可溶性的,而保护基团在其中不可溶。因此,在包含这类溶剂的条件下进行除去保护基团使得在相同的合成步骤中除去保护基团和氧化反应期间形成的杂质。

[0249] 使用这一类溶剂,得到包括在这一类溶剂中的第四个化合物的溶液和不溶物质如杂质及保护基团的混合物。用于本发明上下文中的适当溶剂包括不限于,非极性溶剂如汽油醚、己烷、苯、庚烷和甲苯,半极性溶剂如乙酸乙酯及其混合物。优选地,所述溶剂是汽油醚或己烷和 / 或与其与乙酸乙酯的混合物。

[0250] 然后,从混合物中除去不溶性杂质,优选通过过滤,除去所述溶剂并得到纯化的第四个化合物,尽管在其纯化操作中包含需要使用柱色谱法,并进一步包含需要对形成的各种中间体进行多次纯化操作。

[0251] 如果氧化部分是酯,则方法通过提供含羧酸部分的化合物,然后将羧酸转化为酯进行。使用本领域内公知的方法,这能很容易地进行。示例性操作描述于下文的实施例部分(参见,例如实施例 1、6 和 7)。

[0252] 如上文所讨论的化合物,其含有甘油骨架和至少一个与甘油骨架相连的含氧化部分的残基,且进一步含有与甘油骨架相连的含磷部分,优选含磷酸盐部分,被称为氧化磷脂且在治疗各种症状中是很有益的。因此,此处所述方法任选并优选进一步包含将这一含磷部分引入甘油骨架。

[0253] 如此处使用的,短语“含磷的部分”描述了包括一个或多个磷原子的部分,如此处定义的。典型实例包括,不限于,磷酸盐、碳磷酸盐化合物、磷化氢、磷化氢氧化物、亚磷酸盐、焦磷酸盐等。

[0254] 如此处使用的,术语“碳磷酸盐化合物”描述了 $-P(=O)(OR')(OR'')$ 基团,其中 R' 和 R'' 各自独立地是氢,或者取代的或未取代的烷基、环烷基或芳基,如此处所定义的。

[0255] 术语“亚磷酸盐”描述了 $-PR'R''$ 基团, R' 和 R'' 如上文所定义。

[0256] 术语“磷化氢氧化物”描述了 $-P(=O)(R')(R'')$ 末端基团或 $-P(=O)(R')-$ 连接基团, 如这些短语在上文所定义, R' 和 R'' 如此处所定义。

[0257] 术语“焦磷酸盐”描述了 $-O-P(=O)(OR')-O-P(=O)(OR')(OR'')(OR'')$ 基团, R' 、 R'' 如此处所定义的, 且 R'' 定义为 R' 或 R'' 。

[0258] 术语“亚磷酸盐”描述了 $-O-PH(=O)(OR')$ 基团, R' 如此处所定义。

[0259] 术语“磷酸盐”描述了 $-O-P(=O)_2(OR')$ 基团, R' 如此处所定义。

[0260] 术语“硫代磷酸盐”描述了 $-O-P(=O)(=S)(OR')$ 基团, R' 如此处所定义。

[0261] 将含磷的部分引入甘油化合物可在第一个化合物与第二个化合物反应之前、分离第三个化合物之前、第三个化合物与氧化剂反应之前、分离第四个化合物之前或分离第四个化合物之后进行, 并可使用本领域内已知的任何方法进行。

[0262] 因此, 将含磷部分引入含有甘油化合物的化合物通过以下进行:

[0263] 上述的任意第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物与含磷的部分反应, 以便获得化合物, 其含有甘油骨架和至少一个与甘油骨架相连的含氧化部分的残基, 且进一步含有与甘油骨架相连的含磷的部分。

[0264] 根据本发明优选的实施方案, 含磷的部分是磷酸盐部分, 其通过磷酸二酯键与甘油骨架相连。

[0265] 因此, 含磷部分可以是, 例如磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺和磷酸甘油。

[0266] 优选地, 含磷部分连接于甘油骨架的 sn-3 位, 且因此引入这一部分选择性地, 通过适当地保护其它存在于反应化合物中的游离羟基基团或在希望的位置脱保护被保护的羟基基团。

[0267] 在目前已知的制备氧化磷脂的方法中, 含磷部分通常在提供含氧化部分的化合物之前引入。

[0268] 另外, 如果含磷部分是磷酸胆碱, 其在这类化合物中是广泛使用的且是有益的部分, 目前已知的方法包含 N-烷基化反应, 其包含危险的且环境不友善的试剂例如三甲胺。

[0269] 本发明者现已揭露 (i) 含磷的部分可以很容易地在提供含氧化部分的化合物之后引入; 以及 (ii) 引入含磷的部分可以通过含磷的活性中间体有效地进行。

[0270] 根据上述, 本发明者已设计并成功实践了将含磷部分引入含有甘油骨架和通过醚键与其相连的氧化部分残基的化合物的新方法。

[0271] 与上述制备含氧化部分化合物的方法并用的此方法, 可有益地用于制备治疗上有益的上述氧化磷脂。

[0272] 因此, 根据本发明优选的实施方案, 引入含磷部分在生成第三个化合物之后或生成第四个化合物之后进行, 后者是优选的。然而, 应该指出, 在此所列的引入含磷部分的方法也适用于任意其它阶段。

[0273] 因此, 根据本发明的实施方案, 将含磷部分引入甘油化合物优选通过如下进行: 如

上所述的含有游离羟基基团的第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物，与含磷反应基团反应，以便生成含有含磷反应基团的化合物；并转化含磷的反应基团为含磷的部分。

[0274] 含磷的活性化合物是经选择的，以便根据所述的反应，获得与甘油骨架相连的含磷的反应基团。因此，选择含磷的活性化合物作为含有第二个反应基团和第三个反应基团，从而第二个反应基团是经选择的能与游离羟基基团反应且第三个反应基团是经选择的能被转化为含磷的部分。

[0275] 能与游离羟基基团反应的活性基团包括，例如卤化物、磺酰氯、酰卤等。

[0276] 优选地，第二个反应基团是卤化物，且更优选的为氯化物。

[0277] 虽然如上文所述，优选的含磷的部分是磷酸盐部分，但是将含磷的化合物转化为希望得到的含磷部分通常包含磷酸盐酯键的形成。这种键能，例如，通过磷衍生物如磷酰氯与含羟基的部分反应。

[0278] 因此，根据优选的实施方案，含磷的反应化合物是氧氯化磷 (POCl_3)，以便第三个和第二个反应基团两者都是氯化物，且含有含磷反应基团的化合物含有甘油骨架和与其连接的磷酰氯残基。

[0279] 第一个化合物、第三个化合物、纯化的第三个化合物、第四个化合物或纯化的第四个化合物与氧氯化磷反应通常在碱存在下进行。适宜的碱包括有机和无机碱，优选有机碱。因此，反应优选在碱存在下如，例如，三烷基胺（例如，三乙胺）进行。

[0280] 该反应进一步优选在溶剂存在下进行，优选极性溶剂如 THF。

[0281] 通过此处所述方法获得的含磷酰氯的含甘油的化合物可容易地被转化为任何希望得到的含磷的部分，且因此是非常有用的中间体。

[0282] 因此，例如通过其简单的水解能被转化为磷酸，如在以下的实施例部分所举例说明的。

[0283] 或者，能与含羟基的部分反应，并且任选且优选也和水反应，从而以得到其它的磷酸盐部分。

[0284] 混合于治疗性氧化磷脂（例如，磷酰胆碱、磷酸乙醇胺）中的优选的磷酸盐部分通常包括氨基烷基基团，其能进一步被 N-烷基化。

[0285] 因此，转化磷酰氯中间体为此磷酸盐部分能通过与希望的烷基氨基基团衍生物反应容易地进行，经选择的能与第三个反应基团（是氯化物）反应。

[0286] 因此，例如，含氨基烷基的磷酸盐部分能通过磷酰氯中间体与氨基醇反应获得。如果需要，此后氨基乙醇能进一步被烷基化，以便产生 N-烷基化的氨基烷基磷酸盐部分，如磷酰胆碱部分。

[0287] 使用上述方法获得的这一与甘油骨架相连的 N-烷基化氨基烷基磷酸盐部分是非常有用的，由于其设法避开了使用有害的原料如三甲胺通的需要，其通常用于获得此类化合物。

[0288] 如上文所讨论的，引入含磷的部分可在将含氧化部分残基引入甘油化合物之前或之后进行。如在以下实施例部分中所证明的，磷酰胆碱部分被成功引入甘油化合物中，其含有含氧化部分的残基或含不饱和部分的残基（参见实施例 4 和 5）。因此通过此处所列的含磷的反应中间体引入磷酸盐部分的方法可与甘油化合物进行，其含有通过醚键与其连接的

氧化部分或前氧化部分。

[0289] 在其寻找制备氧化磷脂的改良方法中,本发明者已进一步设计和实施了另外的制备含有通过醚键与其相连的氧化部分的甘油化合物的方法,其通过将含氧化部分的残基直接引入甘油化合物进行。

[0290] 因此,根据本发明的另一方面,提供了一种制备化合物的方法,此化合物含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基,方法通过以下进行:

[0291] 提供第一个化合物,其含有甘油骨架和至少一个游离羟基基团,其如上文所述;

[0292] 提供第五个化合物,其含有至少一个氧化的部分,其如上文所述,以及至少一个第四个反应基团;

[0293] 第一个化合物和第五个化合物反应,从而获得含有第六个化合物的反应混合物,该化合物含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧化部分的残基;以及

[0294] 分离化合物,其含有甘油骨架和至少一个通过醚键与甘油骨架相连的含氧部分的残基。

[0295] 因此,根据本发明的此方面,所述方法包含上文所述第一个化合物与所述化合物反应,其含有能与第一个化合物的游离羟基反应的反应基团,在此处指的是第四个反应基团和氧化的部分。这一化合物在此指的是第五个化合物。

[0296] 第五个化合物中的氧化的部分可以是上述的任意氧化部分,即,醛、二醇、羧酸、酯、缩醛和缩酮。任选地,氧化部分可以是半氧化部分,即,是不与氧化剂反应而容易被转化为希望的氧化部分。这一半氧化部分的实例是腈,其通过简单的水解可容易地被转化为羧酸。

[0297] 在第五个化合物中的第四个反应基团如在此对于第一个反应基团所述的那样,且优选卤化物,并且更优选溴化物。

[0298] 第一个化合物和第五个化合物反应优选在碱存在下进行。相对强的无机碱如,例如,氢化钠、氢氧化钾、氢化铝锂、氨基钠、氢氧化钠及其任意混合物是优选的。

[0299] 在这种反应条件下,含有4或5个碳原子的第五个化合物在反应期间可被环化,因此不利地影响反应效率。

[0300] 因此,优选地,第五个化合物优选含少于4个或多于5个碳原子。

[0301] 如上文所述,如果第一个化合物含有一个以上与其相连的羟基基团,则羟基基团任选且优选在第一个化合物和第五个化合物反应之前,被保护基团保护。

[0302] 一旦获得第六个化合物,可除去保护基团,且使用常规的纯化方法纯化该化合物。

[0303] 根据本发明的此方面,由于能在一步合成中制备所述的含氧化部分的化合物,所述方法很有用。

[0304] 使用该方法,通过引入含磷的部分,可容易得到如上文详细描述氧化磷脂,在与第一个化合物反应之前或之后。含磷部分的引入优选使用上文列出的方法进行。

[0305] 本文所述的任意方法中,第一个化合物可包括与其连接的烯基链。优选地,烯基链与第一个化合物的 sn-1 位相连。

[0306] 烯基链能与甘油化合物相连,通过,例如,酯键或醚键。优选的烯基链通过醚键连接,以便终产物是二醚化的甘油化合物。

[0307] 因此,本文所述的各方法中,第一个化合物是如本文所述的甘油酯,且优选单-醚

化甘油酯,其中类脂部分与甘油的 sn-1 位连接。因此,该第一个化合物含有一个如上文所述的游离羟基基团,其优选在任意反应之前被保护。

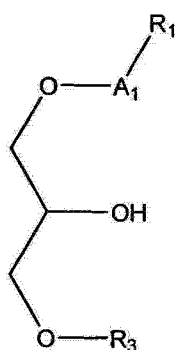
[0308] 因此,第一个化合物可以是例如甘油、甘油酯、单-醚化甘油酯、二-醚化甘油酯、磷酸甘油、磷酸甘油酯、单-醚化磷酸甘油酯和溶血卵磷脂。

[0309] 如上文详细讨论的,含氧化部分的残基与甘油骨架连接的位置影响所得化合物的活性,因此如上文进一步讨论的,其优选进行选择反应。

[0310] 优选地,本文所述的任意方法中,含氧化部分的残基与化合物的 sn-2 位相连。因此通过适宜的选择和 / 或保护第一个化合物,进行含氧化部分的残基的选择性连接。

[0311] 因此,在本发明优选的实施方案中,第一个化合物具有以下通式 I :

[0312]



式 I

[0313] 其中 :

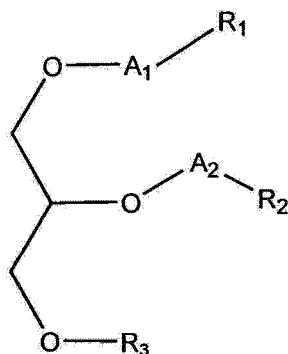
[0314] A_1 不存在或选自 CH_2 、 $CH=CH$ 和 $C=O$;

[0315] R_1 选自 H 和含有 1-30 个碳原子的烃链 ;以及

[0316] R_3 选自氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心肌磷脂、磷脂酰肌醇、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丁醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺 -N- 乳糖、磷酸乙醇胺 -N-[甲氧基 (丙二醇)]、磷酸肌醇 -4- 磷酸盐、磷酸肌醇 -4, 5- 双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺 - 二亚乙基三胺 - 戊酸盐、二硝基苯基 - 磷酸乙醇胺、磷酸甘油。

[0317] 使用上文所述的任意方法,可获得具有以下通式 II 的化合物 :

[0318]



式 II

[0319] 其中：

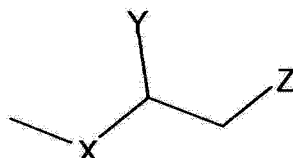
[0320] A_1 选自 CH_2 、 $CH=CH$ 和 $C=O$ ，且优选 CH_2 ；

[0321] A_2 是 CH_2 ；

[0322] R_1 是含 1-30 个碳原子的烷基；

[0323] R_2 是

[0324]



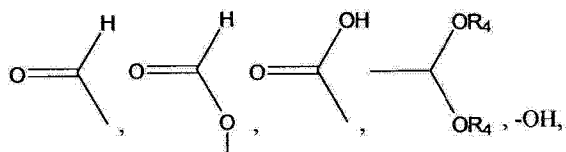
[0325] 而：

[0326] X 是含 1-24 个碳原子的烷基链；

[0327] Y 选自氢、羟基、烷基、烷氧基、卤化物、乙酰氧基和芳香族的官能团；以及

[0328] Z 选自：

[0329]



[0330] 其中 R_4 是烷基或芳基；以及

[0331] R_3 选自氢、烷基、芳基、磷酸、磷酸胆碱、磷酸乙醇胺、磷酸丝氨酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰心肌磷脂酯、磷脂酰肌醇、磷酸基心肌磷脂、磷酸基肌醇、乙基磷酸胆碱、磷酸基甲醇、磷酸基乙醇、磷酸基丙醇、磷酸基丁醇、磷酸乙醇胺-N-乳糖、磷酸乙醇胺-N-[甲氧基(丙二醇)]、磷酸肌醇-4-磷酸盐、磷酸肌醇-4,5-双磷酸脂、焦磷酸盐、磷酸乙醇胺-二亚乙基三胺-戊酸盐、二硝基苯基-磷酸乙醇胺、磷酸甘油。

[0332] 如以下实施例部分中所证实的，上述方法可用于产生氧化磷脂，并且特别是治疗上有益的氧化磷脂如 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-磷酸胆碱（本领域也是已知的，并且在本文称为 CI-201）。例如，使用下文实施例 6 所述方法，1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-磷酸胆碱在工业规模中以 Kg 级产生。

[0333] 根据以下实施例的试验，本发明另外的目的、优点和新特征对于本领域内的普通

技术人员是显而易见的,实施例不是用于限制。另外,如上文所描述的和如以下权利要求中所要求的,本发明各个不同的实施方案和方面可在以下实施例中找到实验支持。

实施例

[0334] 与以上描述一起,参考以下实施例以非限制性的形式阐述本发明。

[0335] 一般合成途径:

[0336] 根据本发明教导的内容,一些一般合成概念用于制备氧化磷脂,如下:

[0337] (i) 通过不饱和残基与甘油酯相连并氧化不饱和键,制备甘油酯类化合物,其含有至少一个通过醚键与其相连的含氧化部分的残基,同时使用纪腊德试剂和/或含三元醇化合物的结晶作用分离氧化产物,如实施例 1 和方案 I-V 中所举例说明的;

[0338] (ii) 通过不饱和残基与甘油酯相连并通过环氧化物中间体氧化不饱和键,制备甘油酯类化合物,其含有至少一个通过醚键与其相连的含氧化部分的残基,同时使用乙酰氧基保护基团,如实施例 2 和方案 VI-X 中所举例说明的;

[0339] (iii) 通过直接引入含氧化部分的化合物,制备甘油酯化合物,其含有至少一个通过醚键与其相连的含氧化部分的残基,如实施例 3 和方案 XI 中所举例说明的;以及

[0340] (iv) 使用含磷的活性化合物(例如二氯化磷)以形成反应中间体,将含磷的反应部分引入甘油酯化合物,其含有含一个或两个通过醚键与其相连的氧化(或前氧化)部分的残基,如实施例 4 和 5 及方案 XII-XIV 中所举例说明的。

[0341] 实施例 1

[0342] 使用高碘酸盐和纪腊德试剂制备消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸甲酯)-甘油

[0343] 在本实施例中,将不饱和部分引入甘油骨架中,此后用甲酸、过氧化氢和高碘酸盐氧化。然后,形成的氧化产物用纪腊德试剂纯化。

[0344] 作为典型的实施例,因此描述了消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸甲酯)-甘油的制备。

[0345] 消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸甲酯)甘油按照本发明教导的方法制备,如在以下方案 I-V 中所述的。

[0346] 1-十六烷基-3-三苯甲基甘油如美国专利 6,838,452 中所述制备。简单地说,D-丙酮甘油(4克)、氢氧化钾粉末(约10克)和溴代十六烷(9.3克)在苯(100ml)中搅拌并回流5小时,同时通过共沸蒸馏除去形成的水(对照 W. J. Baumann and H. K. Mangold, J. Org. Chem. 29:3055, 1964 和 F. Paltauf, Monatsh. 99:1277, 1968)。逐渐减少溶剂的体积至约20ml,且将得到的混合物冷却至室温并溶于醚(100ml)中。得到的溶液用水(2x50ml)洗涤,并在减压下除去除去溶剂。将100ml 90:10:5 甲醇:水:浓盐酸的混合物加入上述残余物中,且混合物回流10分钟。产物用醚(200ml)洗涤并用水(50ml)、10%氢氧化钠(20ml)连续洗涤,并再用水(20ml 体积)洗至中性。减压下除去溶剂,且产物(8.8克)从己烷中被结晶得7.4克纯净的1-十六烷基-甘油。

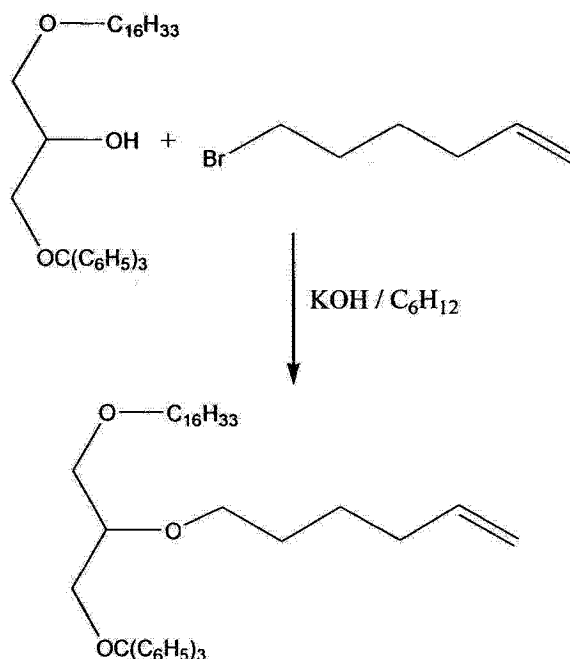
[0347] 1-十六烷氧基-甘油(7.9克)、三苯基氯甲烷(8.4克)和干燥的吡啶(40ml)于100℃加热12小时。冷却后,加入300ml 醚和150ml 冰冷的水,且将反应混合物转移至分液漏斗中。有机相用50ml 冰水、1%碳酸钾溶液(至碱性)和50ml 水连续洗涤,然后用无水硫酸钠干燥。蒸发溶剂,残余物溶于150ml 温石油醚中,且得到的溶液于4℃冷却过夜。过

滤沉淀物后,蒸发滤液并将残余物于 -30°C 从 20ml 乙酸乙酯中重结晶,收率 8.2 克 1-十六烷基-3-苯甲基甘油,熔点 49°C 。

[0348] 如在方案 I 中所述的,1-十六烷基-3-三苯基甘油 (14.78 克,0.0265 摩尔)、6-溴-1-己烯 (4.85 克) 和氢氧化钾粉末 (约 10 克) 在己烷 (200ml) 中搅拌并回流 6 小时,同时通过共沸蒸馏除去形成的水。反应混合物冷却至室温,用水 (3x100ml) 洗涤,并在减压下除去溶剂。残余物溶于氯仿 (50ml) 中,并通过硅胶 60 (12.5 克) 过滤纯化。减压下除去氯仿,并将残余物溶于石油醚 (100ml) 中。此溶液维持 4°C 过夜,期间生成副产物沉淀。过滤并于减压下除去溶剂得 12.15 克 (0.0190 摩尔) 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-三苯基甘油 (收率 72%)。

[0349] 方案 I

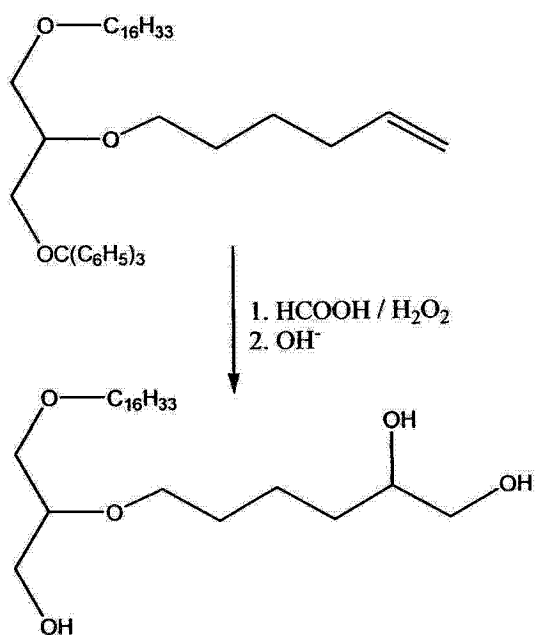
[0350]



[0351] 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-三苯基甘油 (19.80g) 溶于甲酸 (100ml) 中。黄色溶液于室温下搅拌 2 小时,然后于冰浴中冷却。将过氧化氢 33% (25ml) 逐滴加入冰冷的溶液中,历时 50 分钟。反应混合物的颜色几乎立即从黄变白。完成加入后,在冰浴中继续再搅拌 4 小时。此后,反应混合物倒在冰 (150 克) 上,并用醚 (3x100ml) 提取。橙色的醚溶液用水 (100ml) 洗涤,并在减压下除去溶剂。将残余物溶于二氯甲烷 (150ml) 中,用饱和碳酸氢钠水溶液 (100ml) 洗涤,并在减压下除去溶剂。然后,将残余物溶于热己烷 (250ml) 中。立即得到白色化合物沉淀。溶液维持 4°C 过夜。过滤沉淀 (0.53 克),接着减压下除去溶剂得 20.03 克黄色油状残余物。该残余物溶于异丙醇 (200ml) 中,并加入氢氧化钠水溶液 (17 克在 50ml 水中)。所得溶液至 90°C 加热 2 小时,然后冷却并倾到于冰上 (150 克)。然后用二氯甲烷 (3x100ml) 提取,用水 (100ml) 和磷酸二氢钠饱和水溶液洗涤有机相,并用无水 Na_2SO_4 干燥。减压下除去溶剂后,得到 10.77 克粗品产物。然后,将粗品产物溶于 80% 甲醇 (100ml) 中,并将溶液维持于 4°C 过夜。过滤沉淀物并于减压下除去多数溶剂。用二氯甲烷 (3x100ml) 提取,用无水 Na_2SO_4 干燥,并在减压下除去溶剂。从己烷 (250ml) 重结晶得 7.44 克纯 1-十六烷基-2-(5',6'-二羟基-己烷基)-甘油。

[0352] 方案 II

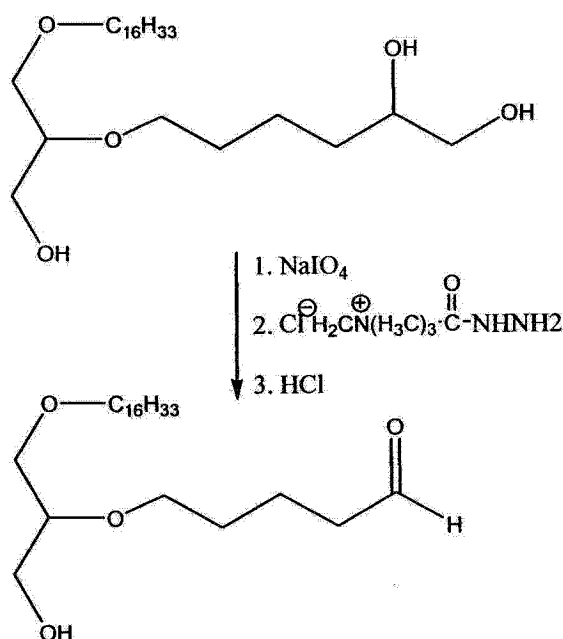
[0353]



[0354] 如方案 III 中所述, 1-十六烷基-2-(5', 6'-二羟基-己烷基)-甘油 (7.84 克) 溶于异丙醇 (50ml) 和水 (12ml) 中。加入 NaIO₄ (9 克), 且反应混合物于室温下搅拌 3 小时。加入水 (50ml), 并用氯仿 (3x50ml) 提取反应化合物, 用无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并减压下除去溶剂得 5.56 克。粗品产物溶于乙醇 (60ml) 和冰醋酸 (2.3 克) 中。加入纪腊德试剂 T (5.6 克), 且反应混合物回流 2 小时。反应混合物在冰浴中冷却, 加入碱性溶液 (2.3 克在 45ml 水中), 并用醚 (3x25ml) 提取混合物。醚相用水和与碱相合并的水洗涤。水相用浓 HCl (4.4ml) 酸化并用醚 (3x25ml) 提取。用水、碳酸氢钠饱和水溶液 (3x25ml)、水 (2x25ml) 洗涤, 用无水 Na₂SO₄ 干燥并在减压下除去溶剂得 1.95 克 (0.0049mol) 1-十六烷基-2-(5'-氧-戊烷基)-甘油 (收率 26.9%)。

[0355] 方案 III

[0356]

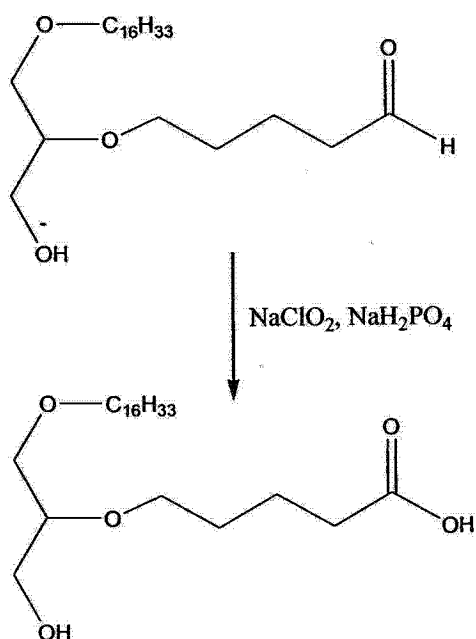


[0357] 如方案 IV 中所述, 1-十六烷基-2-(5'-氧戊基)-甘油 (4.80 克) 溶于干燥三乙胺 (57ml) 中。加入醋酸酐 (20ml), 且反应化合物于室温下搅拌 2.5 小时。反应混合物倾至于冰 (100 克) 上, 并用二氯甲烷 (3x100ml) 提取。有机相用水 (100ml)、稀盐酸 (100ml)、水 (100ml)、碳酸氢钠饱和水溶液 (100ml) 和再用水 (100ml) 连续洗涤, 然后用无水硫酸钠干燥。减压下除去溶剂得 4.54 克 1-十六烷基-2-(5'-氧戊基)-3-醋酸甘油酯 (收率 86%)。

[0358] 1-十六烷基-2-(5'-氧戊基)-3-醋酸甘油酯(3.94克)溶于叔丁醇(75ml)中。将亚氯酸钠(6.85克)和磷酸二氢钠二水合物(15.50克)溶于水(75ml)中。将水溶液加入醇溶液中,反应混合物于室温4小时。然后,反应混合物转移至分液漏斗中,并用二氯甲烷(3x100ml)萃取。合并的有机相用水(2x100ml)洗涤,且减压下除去溶剂。残余物溶于甲醇(80ml)和10% NaOH水溶液(20ml)混合物中,并于室温下搅拌过夜。甲醇溶液用甲苯和己烷(1:1)的混合物(2x50ml)提取,在冰浴中冷却,并且缓慢加入浓HCl以达到pH5-6。然后用二氯甲烷(2x100ml)提取溶液。合并的有机相用水(100ml)洗涤,用无水Na₂SO₄干燥,并在减压下除去溶剂,得到2.07克粗品产物。从己烷(20ml)中重结晶得1.30克纯1-十六烷基-2-(5'-羧基)丁基-甘油(收率35%)。

[0359] 方案 IV

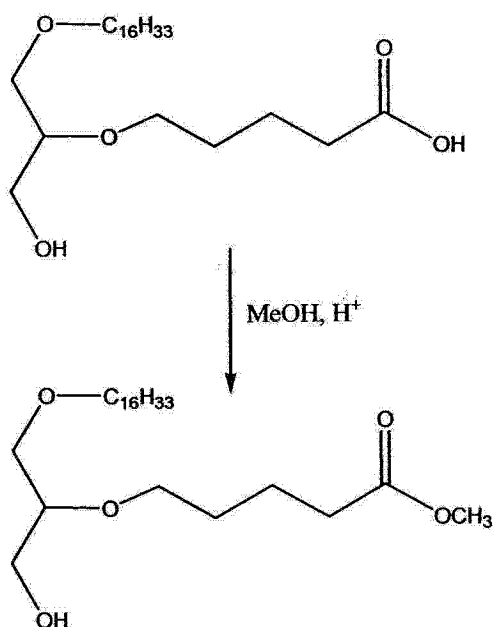
[0360]



[0361] 如方案 V 中所述,将甲醇 (100ml) 和 10% NaOH 水溶液 (20ml) 加入残余物中,且所得溶液于室温下搅拌 2 小时。溶液用石油醚 / 甲苯 (1:1, v/v) 的混合物提取,并用浓 HCl 酸化甲醇相至 pH=0,然后用氯仿 (3x50ml) 提取。减压下除去溶剂,并将残余物溶解于甲醇 (20ml) 中。添加浓 HCl (3 滴),并将溶液与室温搅拌过夜,随后用氯仿 (2x25ml) 萃取。合并的氯仿相用水 (2x0ml) 洗涤,用无水 Na_2SO_4 干燥,并在减压下除去溶剂得 0.77 克 (0.00179mol) 消旋 -1-十六烷基 -2-(5'-戊酸甲酯)-甘油 (收率 96.7%)。

[0362] 方案 V

[0363]



[0364] 实施例 2

[0365] 使用高碘酸盐和醋酸盐保护基团制备消旋 -1-十六烷基 -2-(5'-戊酸甲酯)-甘油

[0366] 在本实施例中,将不饱和部分引入甘油骨架中,此后,使用醋酸酐、4-氯过氧苯甲

酸、 HClO_4 、高碘酸盐和甲醇通过环氧化物被氧化为醚。进行中间体的有效分离通过使用醋酸盐保护基团时进行反应。

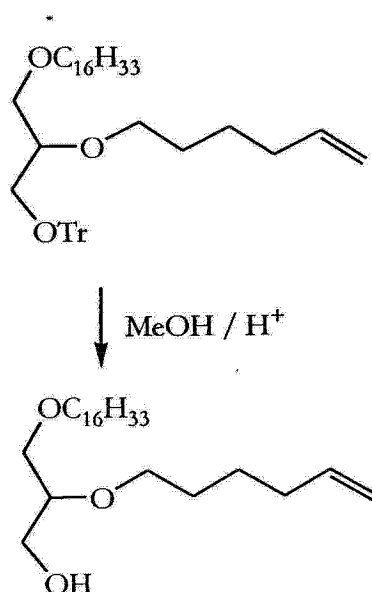
[0367] 作为典型的实施例,因此描述了消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸甲酯)-甘油的制备。

[0368] 消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸甲酯)-甘油按照本发明教导的方法制备,如在以下方案 VI-X 中所述。

[0369] 如在以下方案 VI 中所述,按照以上实施例 1 中所述制备的 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-三苯甲基甘油 (4.90 克) 溶于甲烷 (30ml) 和浓盐酸 (3ml) 的混合物中,且所得的溶液加热回流 4 小时。反应混合物冷却至室温,倾到于冰上 (100 克) 并用氯仿 (3x100ml) 提取。有机相用水 (100ml)、碳酸氢钠水溶液 (100ml) 并再用水 (100ml) 洗涤。此后,有机相用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并除去溶剂得 3.75 克残余物。残余物溶于正己烷中,并维持 4°C 过夜。过滤沉淀物并除去溶剂得 3.17 克,其溶于氯仿 (200ml) 中并加至硅胶 (45 克) 中。将溶液过滤并再用混合物氯仿: 甲醇 (200ml, 9:1) 和氯仿: 甲醇 (200ml, 1:1) 提取硅胶。将两次最后的提取物合并,并在减压下除去溶剂得 2.56 克 1-十六烷基-2-(5'-乙基)-甘油 (收率 84%)。

[0370] 方案 VI

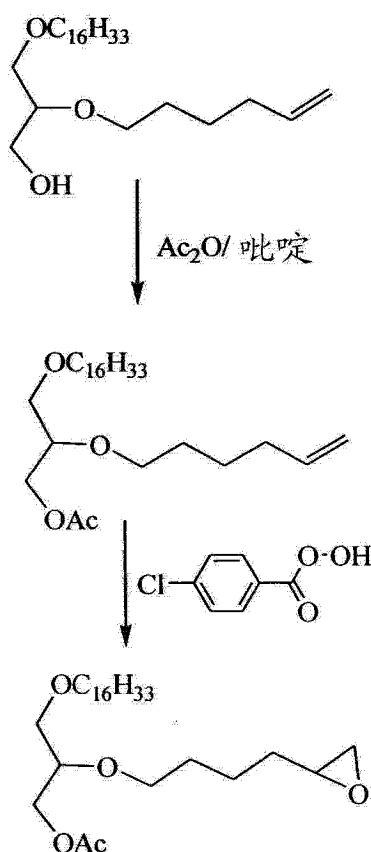
[0371]



[0372] 如以下方案 VII 中所述,将干燥吡啶 (5ml) 和醋酸酐 (3ml) 加入所得的 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-甘油中,且反应混合物于 70°C 加热 2 小时。反应混合物倾到于冰 (25 克) 上,并用己烷 (3x25ml) 提取。提取物用水 (25ml)、稀硫酸水溶液 (25ml)、水 (25ml)、碳酸氢钠水溶液 (25ml) 和水连续洗涤。用无水 Na_2SO_4 干燥后,过滤并除去溶剂得 2.60 克。残余物溶于二氯甲烷 (50ml) 中并加入 3-氯过氧苯甲酸 (3.84 克),且反应混合物于室温下搅拌过夜。减压下将溶剂减少至约 20ml,并加入正己烷 (100ml)。过滤后将溶剂蒸干。残余物溶于正己烷 (100ml) 中,加入碱性溶液 (0.4 克 NaOH 在 50ml 水中) 并分离各相。用水 (25ml)、碳酸氢钠水溶液 (25ml)、水 (25ml) 连续洗涤有机相,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤并除去溶剂得 2.40 克 1-十六烷基-2-(5',6'-环氧己烷基)-3-乙酸甘油酯 (收率 82%)。

[0373] 方案 VII

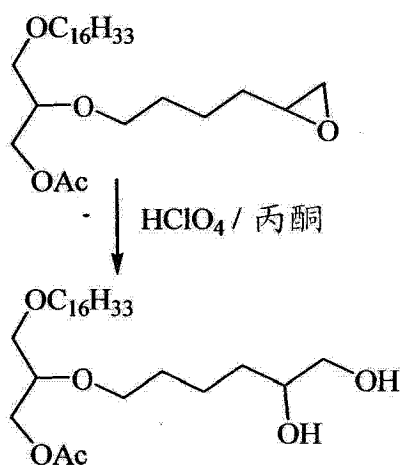
[0374]



[0375] 如以下方案 VIII 中所述, 1-十六烷基-2-(5', 6'-环氧己烷基)-3-乙酸甘油酯溶于丙酮 (50ml) 中。加入 7% HClO_4 (5ml), 且反应混合物于室温下搅拌 40 小时。加入水 (50ml), 且反应混合物用氯仿 (3x50ml) 提取。用水 (25ml)、碳酸氢钠水溶液 (25ml)、水 (25ml) 连续洗涤有机相, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并除去溶剂得 2.29 克油状残余物。残余物溶于氯仿 (200ml) 中并加入硅胶 (30 克)。过滤此溶液, 且硅胶再用混合物氯仿: 甲醇 (200ml, 8:2) 提取。在第二次提取物中, 减压下除去溶剂后得到 1.45 克 1-十六烷基-2-(5', 6'-二羟基己烷基)-3-乙酸甘油酯。

[0376] 方案 VIII

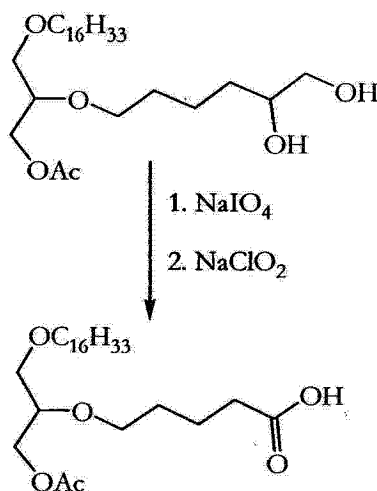
[0377]



[0378] 如以下方案 IX 中所述, 1-十六烷基-2-(5', 6'-二羟基己烷基)-3-乙酸甘油酯溶于异丙醇 (50ml) 中。加入高碘酸钠水溶液 (1.45 克在 50ml 水中), 且反应混合物于室温下搅拌 2 小时。反应混合物用氯仿 (3x50ml) 提取, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并减压下除去溶剂得 0.96 克。残余物溶于叔丁醇 (50ml) 中, 并加入亚氯酸钠 (1.66 克) 和磷酸二氢钠 (3.76 克) 的水溶液 (50ml)。反应混合物于室温下搅拌 4 小时, 用氯仿 (2x50ml) 提取, 并在减压下除去溶剂。残余物溶于混合物氯仿: 己烷 (200ml, 1:1) 中, 并加至硅胶 (15 克) 中。过滤溶液, 并再用氯仿 (200ml) 和氯仿: 甲醇 (200ml, 9:1) 提取硅胶。减压下除去最后一次提取物中的溶剂, 得 0.92 克 1-十六烷基-2-(5-羧丁基)-3-乙酸甘油酯。

[0379] 方案 IX

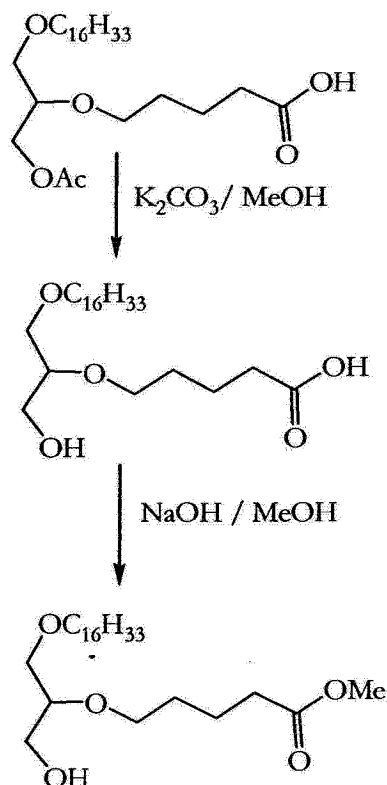
[0380]



[0381] 如以下方案 X 中所述, 1-十六烷基-2-(5'-羧丁基)-3-乙酸甘油酯溶于 50ml 8:2 甲醇和 10% NaOH 水溶液的混合物中, 且反应混合物于室温下剧烈搅拌过夜。反应混合物用混合物甲苯: 石油醚 (2x25ml, 1:1) 提取。甲醇相用浓 HCl 酸化直至达到 pH 约为 0, 然后用氯仿 (2x25ml) 提取。减压下除去溶剂, 并将残余物溶于甲醇 (10ml) 中。加入浓 HCl (2 滴), 并将溶液于室温下搅拌过夜, 接着用氯仿 (2x25ml) 提取, 用水 (25ml) 连续洗涤有机相, 接着用碳酸氢钠水溶液 (25ml)、水 (25ml) 洗涤, 接着用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤并除去溶剂, 得 0.86 克纯的消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸甲酯)-甘油。

[0382] 方案 X

[0383]



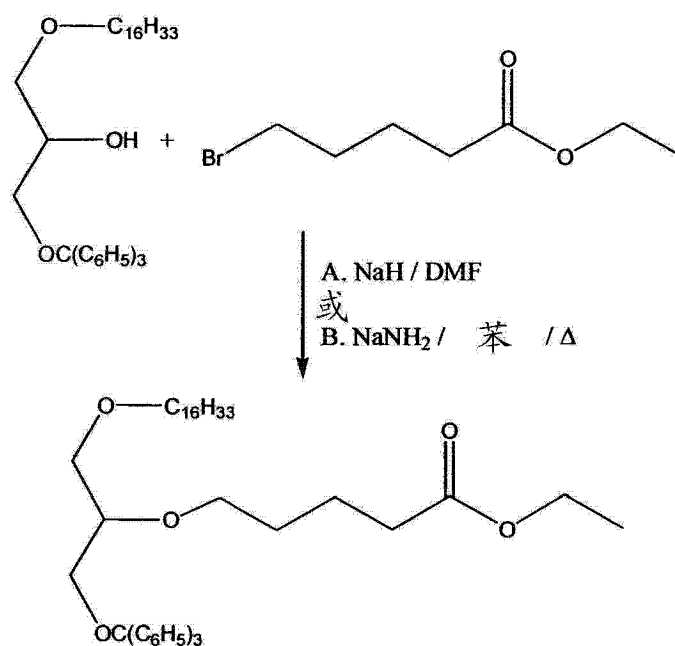
[0384] 实施例 3

[0385] 通过直接引入氧化部分制备消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸乙酯)-甘油一路线 I

[0386] 消旋-1-十六烷基-2-(5'-戊酸乙酯)-甘油按照本发明教导的方法制备,如以下方案 XI 中所述。

[0387] 方案 XI

[0388]



[0389] 1-十六烷基-3-苯甲基甘油如,例如以上实施例 1 中所述或如在美国专利 6,838,425 中所述制备。

[0390] 将 1.0 克 (1.0mmol) 1-十六烷基-3-三苯甲基甘油、0.78 克 (3.6mmol) 5-溴代戊酸乙酯和 75ml 二甲基甲酰胺 (DMF) 加入配有磁力搅拌器的三颈烧瓶中。将溶于 25ml 二甲基甲酰胺的 0.20 克 (5mmol) NaH (60% 分散于矿物油中) 逐滴加入搅拌的溶液中, 历时 15 分钟, 继续再搅拌 1 小时直至反应完全。加入水 (50ml), 且混合物用醚 (3x50ml) 提取。有机相用无水 Na_2SO_4 干燥, 并在减压下除去溶剂。粗品产物用硅胶柱色谱法纯化。

[0391] 如上文所述的三苯甲基基团脱保护得终产物。

[0392] 实施例 4

[0393] 将含磷部分引入甘油酯类化合物

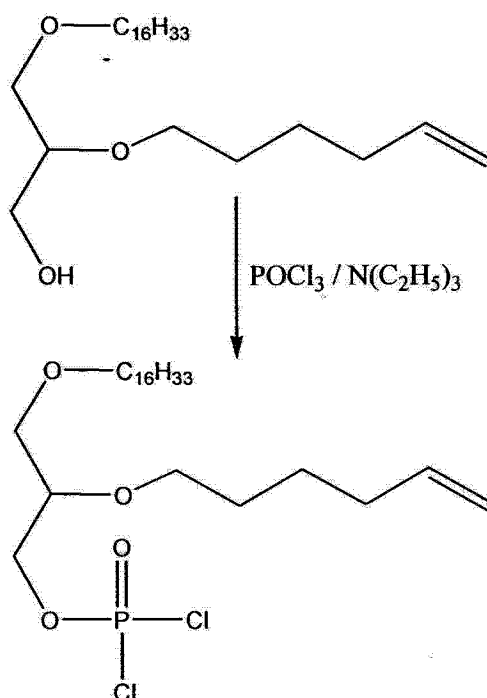
[0394] 根据本发明教导的方法, 含磷反应部分被引入甘油酯类化合物, 其含有一个或两个通过醚键与其连接的含氧化(或前氧化)部分的残基。引入含磷反应部分使用含磷化合物如, 例如, 氧氯化磷进行。任选地, 引入含磷反应部分之后, 将含磷反应部分转化为磷酸盐部分。

[0395] 消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-二氯磷酸盐的制备:

[0396] 作为典型的实施例, 消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-二氯盐酸盐按照本发明所教导的方法制备, 如以下方案 XII 所述的。

[0397] 方案 XII

[0398]



[0399] 因此, 将 0.24ml (0.39 克, 2.53mmol) POCl_3 和 10ml 四氢呋喃 (THF) 置于配有磁力搅拌器的冰冷的三颈烧瓶中。向搅拌溶液中逐滴加入 0.87 克 (2.2mmol) 消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-甘油、0.34ml (0.25 克, 2.44mmol) 三乙胺和 50ml 四氢呋喃 (THF) 的混合物, 历时 25 分钟, 并在冰浴中继续再搅拌 10 分钟, 且进一步于 23°C 继续搅拌 45 分钟。

[0400] 水解消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-二氯盐酸盐, 从而以生成对应的磷脂酸, 如下:

[0401] 将 1 克冰加入反应混合物中并继续搅拌 30 分钟。然后, 加入水 (50ml), 且产物用

氯仿:MeOH(2:1, v/v, 3x25ml) 提取。有机相用水洗涤,并在减压下除去溶剂。

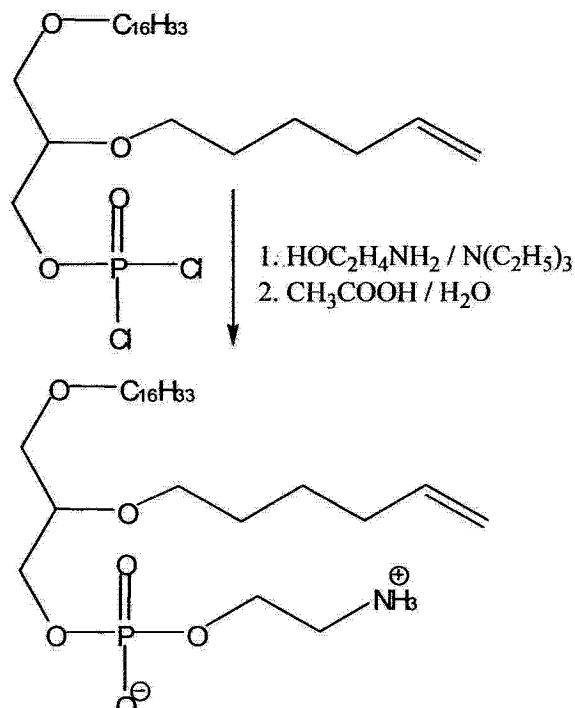
[0402] 或者,消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-二氯磷酸盐可与各种烷基胺衍生物反应,从而以产生磷酸甘油酯,如下所举例说明的。

[0403] 由消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-二氯磷酸盐制备消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸乙醇胺:

[0404] 根据本发明所教导的方法制备消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸乙醇胺,如在方案 XIII 中所述的。

[0405] 方案 XIII

[0406]



[0407] 如上文实施例 2 中刚描述的那样,消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-二氯磷酸盐在 THF 中的溶液在冰浴中冷却。向该溶液中逐滴加入 0.16ml (0.16 克, 2.7mmol) 乙醇胺、0.34ml (0.25 克, 2.4mmol) 三乙胺和 50ml THF 的混合物,历时 10 分钟。加入所有溶液后,所得溶液再搅拌 20 分钟,然后从冰浴中取出,并于室温下搅拌过夜。

[0408] 使用滤纸 (Whatman#2) 过滤溶液。将剩余在滤纸上的残余物加压干燥得 1.2 克灰白色残余物。

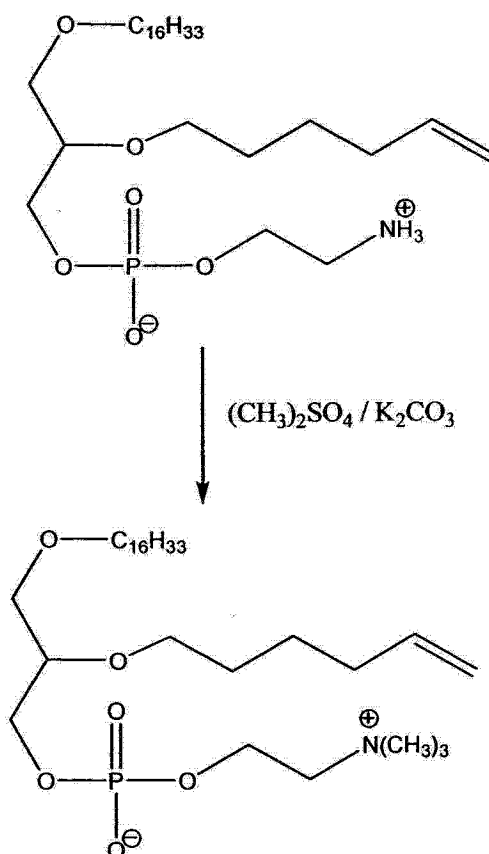
[0409] 将 1.2 克灰白色残余物溶于 24ml 冰醋酸和 10ml 水的混合物中,于 70℃ 维持 1 小时,并冷却至室温。通过用 50ml 2:1 氯仿:甲醇提取溶液洗涤两次,将产物从乙酸溶液中提取出来。蒸发提取溶液的溶剂,留下 0.94 克 (1.7mmol) 的消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸乙醇胺,相对于消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-甘油收率为 85%。

[0410] 由消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸乙醇胺制备消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸胆碱:

[0411] 消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸胆碱按照本发明所教导的方法制备,如以下方案 XIV 中所述的。

[0412] 方案 XIV

[0413]



[0414] 向配有磁力搅拌器的三颈烧瓶中加入 0.50 克 (0.99mmol) 消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸乙醇胺、50ml 异丙醇和 18ml CH_2Cl_2 。搅拌时,加入 5 克 K_2CO_3 和 10ml 水的混合物,并且当逐滴加入 1.0ml (1.3 克, 11mmol) 硫酸二甲酯和 10ml 异丙醇,历时 45 分钟时,溶液的温度维持约 35°C ~约 40°C 。加入所有溶液后,将溶液再搅拌 90 分钟。溶液冷却至室温。通过用 50ml 12:1 氯仿:甲醇溶液洗涤三次,从溶液中提取所得产物。蒸发溶剂的溶液,留下 0.50 克 (0.82mmol) 消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸胆碱,相对于消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸乙醇胺收率为 92%。

[0415] 使用洗脱溶剂氯仿:甲醇:水 (70:26:4),用 矾土薄层色谱法进行纯化。消旋-1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-磷酸胆碱的鉴别使用 ^{13}C -NMR 进行。

[0416] 实施例 5

[0417] 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基)丁基-3-磷酸胆碱的制备:

[0418] 将 1-十六烷基-2-(5'-羧甲基)丁基-甘油 (0.86 克)、0.34 克 (2.6mmol) 三乙胺和 50ml 四氢呋喃的溶液逐滴加入 0.24ml (0.39 克, 2.6mmol) POCl_3 和 10ml 四氢呋喃 (THF) 的冰冷的溶液中,历时 25 分钟。所得的混合物于冰浴中再搅拌 10 分钟,且于室温 (23°C) 搅拌 45 分钟。然后将反应混合物于冰浴中冷却,并且在剧烈搅拌下将乙醇胺 (0.16ml) 和三乙胺 (0.64ml) 的 THF (50ml) 溶液逐滴加入其中。在冰浴中继续再搅拌 10 分钟,且进一步于室温下继续搅拌过夜。然后,过滤反应混合物,并于减压下除去溶剂。残余物溶于乙酸 (24ml) 和水 (10ml) 的混合物中,并将溶液加热至 70°C ,并在此温度下加热 1 小时。冷却至室温后,混合物用氯仿 (2x25ml) 提取,并于减压下除去溶剂。残余物溶于异丙醇 (50ml) 和二氯甲烷 (18ml) 的混合物中。将在水 (10ml) 中的碳酸钾 (5.0 克) 加入其中,并将反应混

合物加热至 35-40°C。然后,逐滴加入硫酸二甲酯 (1ml) 在 10ml 异丙醇中的溶液,历时 45 分钟。另 90 分钟后,混合物用氯仿 (3x50ml) 提取,并于减压下除去溶剂,得 1.10 克 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基)丁基-3-磷酸胆碱 (收率 92%)。

[0419] 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-磷酸胆碱的制备:1-十六烷基-2-(4'-羧甲基)丁基-3-磷酸胆碱溶于甲醇 (25ml) 中。将溶于 90% 甲醇 (20ml) 中的氢氧化钠 (1.0 克) 加入甲醇溶液中,并将反应混合物于室温下搅拌 5 小时。通过加入磷酸二氢钠将反应物的 pH 调至 4。加入水 (50ml) 和氯仿 (50ml),收集有机相并于减压下除去溶剂。残余物溶于氯仿中,用无水 Na_2SO_4 干燥,过滤,并于减压下除去溶剂。得到 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-磷酸胆碱 (0.71 克) (收率 66%)。

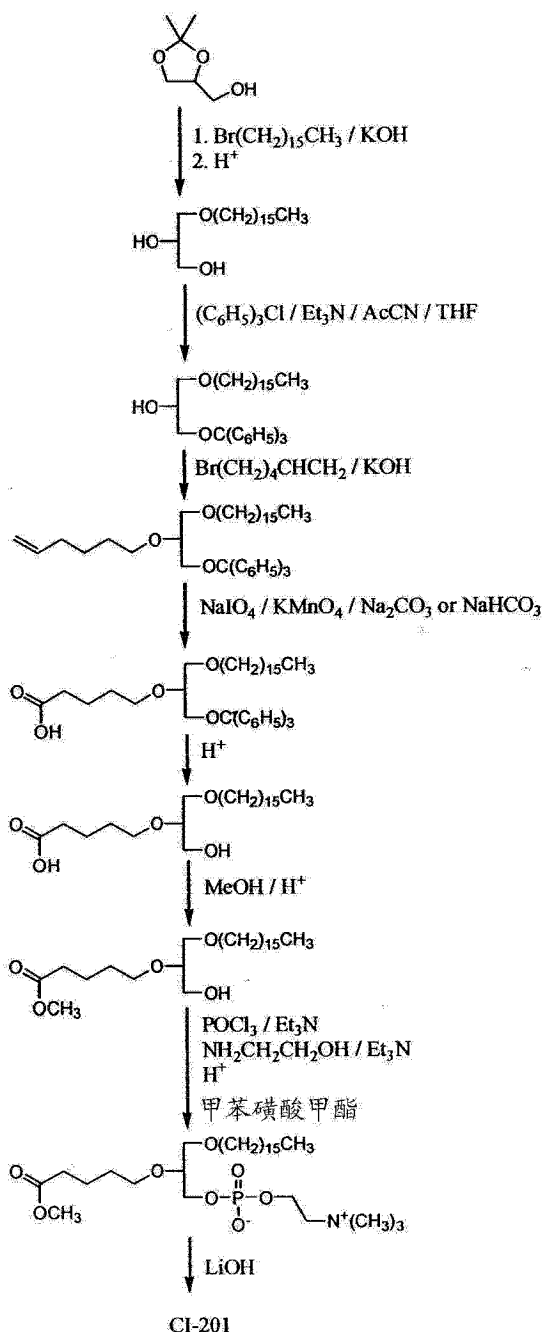
[0420] 实施例 6

[0421] 通过直接氧化不饱和键制备 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-磷酸胆碱 (CI-201) (可放大方法)

[0422] 一种制备 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-磷酸胆碱 (CI-201) 的方法,其用于产物的工业生产很容易放大,描述于以下的方案 XV 中:

[0423] 方案 XV

[0424]



[0425] 在此方法中,将 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-三苯甲基甘油在一步操作中直接氧化,得到对应的羧酸,因此包含需要通过多步操作进行氧化,所述多步操作需要实验室分离中间体。氧化步骤使用安全、有效和几乎无害的氧化剂进行。进行所有中间体的纯化操作,而避免使用工业上不适用的柱色谱法。

[0426] 此方法有效规模化,以便工业化制造 CI-201。

[0427] 制备 1-十六烷基-甘油:将在甲苯 (150ml) 中的 (R)-(-)-2,2-二甲基-1,3-二氧杂环戊烷-4-甲醇 (11 克)、粉状氢氧化钾 (20 克) 和十六烷基溴 (27.96 克) 搅拌并回流 6 小时,同时通过共沸蒸馏除去形成的水。溶剂的体积逐渐减少至约 40ml。将反应混合物冷却至室温;添加水 (100ml) 并将得到的混合物用二氯甲烷萃取 (3x75ml)。合并的有机相用水 (50ml) 洗涤并在减压下除去溶剂。将残余物溶解于 200ml 的 90:10:5 甲醇:水:浓盐酸 (v/v) 混合物中,并将得到的溶液回流 2 小时,随后冷却至室温,并添加水 (100ml)。

产物用二氯甲烷萃取 (3x100ml), 并且有机相用水 (100ml)、碳酸钠饱和水溶液 (100ml) 并再次用水 (100ml) 连续洗涤。减压下除去溶剂, 并将产物从己烷 (200ml) 结晶, 在干燥器中减压下干燥得到 21.69 克 (收率 82%) 的纯净 1-十六烷基-甘油。

[0428] 制备 1-十六烷基-3-三苯甲基-甘油: 将 1-十六烷氧基-甘油 (20 克) 和三苯基氯甲烷 (21.29 克) 置于干燥 THF (369ml) 和干燥乙腈 (93ml) 中。添加三乙胺 (17.75ml), 并将反应混合物回流 17 小时。此后, 将反应混合物冷却至室温, 倾倒在冰 (100 克) 上, 转移至分液漏斗中并用醚萃取。有机相用水 (200ml)、稀 (1.5%) H_2SO_4 (2x200ml)、水 (200ml)、碳酸氢钠饱和水溶液 (200ml) 并再次用水 (200ml) 洗涤, 经无水硫酸钠干燥, 并在减压下除去溶剂得到 36.86 克的粗品产物。

[0429] 将残余物溶解于热己烷 (200ml) 中, 并将得到的溶液于 4°C 冷却过夜。过滤得到的沉淀物, 得到 23.77 克的纯化化合物。其它的纯化产物通过在减压下从母液除去溶剂并将残余物再次溶解于热己烷 (50ml) 中来收集。得到的溶液于 4°C 冷却过夜, 并过滤沉淀物得到另外的 6.94 克产物, 总量为 30.71 克。

[0430] 制备 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-三苯甲基甘油: 将在己烷 (350ml) 中的 1-十六烷基-3-三苯甲基甘油 (19.94 克)、6-溴-1-己烯 (6.98 克, 5.73ml) 和粉状氢氧化钾 (15 克) 搅拌并回流 8 小时, 同时通过共沸蒸馏除去形成的水。然后, 将反应混合物冷却至室温, 转移至分液漏斗中并用水洗涤 (2x200ml)。此后, 在减压下除去溶剂, 并将残余物溶解于己烷 (150ml) 中, 并再次用水洗涤 (2x200ml)。有机溶液维持于 4°C 过夜, 期间出现副产物析出。过滤并在减压下除去溶剂, 得到 19.86 克 (86.6% yield) 的 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-三苯甲基甘油。

[0431] 制备 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油: 在装配有温度计和滴液漏斗的 3-颈圆底烧瓶中, 将高碘酸钠 (150.16 克, 702mmol, 9 当量) 混悬于 500ml 水中。添加碳酸氢钠 (7.21 克, 85.8mmol, 1.1 当量) 和高锰酸钾 (2.47 克, 15.6mmol, 0.2 当量) 后, 将混悬液加热至 40°C。将 1-十六烷基-2-(5'-己烯基)-3-三苯甲基甘油 (50.00 克, 78.0mmol) 溶解于叔丁醇 (500ml) 中, 并在 1 小时期间将溶液添加到 $\text{NaIO}_4/\text{KMnO}_4$ 混合物中。1.5 小时后, 经 TLC 分析显示 80% 转化。添加另外量的高锰酸钾 (0.62gram, 3.9mmol, 0.05 当量), 并将混合物搅拌 1.5 小时。经 TLC 分析显示低于 5% 的起始材料。然后, 将反应混合物冷却至室温, 并转移至分液漏斗中。

[0432] 中间体 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-三苯甲基甘油用己烷 (200ml) 萃取。有机相用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (15 克)/100ml 水的溶液洗涤。将稀盐酸 (0.65ml 浓 HCl, 在 13ml 水中) 添加到有机相中, 并且 200ml 的水在减压下稀释。将剩余的澄清溶液加热至 80°C, 在此温度下加热 6 小时。经 TLC 分析显示低于 5% 的中间体 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-3-三苯甲基甘油。再馏出 250ml 体积的溶剂。

[0433] 残余物用 100ml 水和 10ml 30% NaOH 处理, 达到 pH=12。滤出析出的三苯基甲醇, 并用 10ml 水洗涤 4 次。滤液用 50ml 己烷和 50ml 乙酸乙酯的混合物萃取, 除去剩余的三苯基甲醇和其它杂质。存在于水相中的 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油的钠盐用浓盐酸 (8.45ml, 101.4mmol, 1.3 当量, pH=1) 质子化。得到的游离羧酸用己烷 (100ml) 萃取。蒸发至干燥并与 100ml 己烷共蒸发, 得到 27.00 克粗品 1-十六烷基-2-(4'-羧基)丁基-sn-甘油。

[0434] 粗品产物通过溶解于丙酮和己烷 (7ml/68ml) 的混合物中并冷却至 0℃ 而结晶。过滤沉淀物, 且用冷己烷 (2x7ml) 洗涤并干燥。得到 1-十六烷基-2-(4'-羧基) 丁基-sn-甘油, 为灰白色固体 (20.90 克, 50.2mmol, 收率 64.3%)。

[0435] 制备 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基) 丁基-sn-甘油: 将 1-十六烷基-2-(4'-羧基) 丁基-sn-甘油 (15.0 克, 36.0mmol) 溶解于甲醇 (100ml) 中, 并添加浓盐酸 (3ml)。反应混合物于室温搅拌过夜。此后, 添加三乙胺直至反应混合物达到 pH=7。将溶液转移至分液漏斗中, 并用己烷 (2x200ml) 萃取。有机相用水洗涤, 蒸发至干燥, 并与 100ml 己烷共蒸发, 得到 14.92 克的 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基) 丁基-sn-甘油 (34.65mmol, 收率 96.2%)。

[0436] 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基) 丁基-sn-甘油-3-磷酸胆碱: 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基) 丁基-甘油 (8.60 克, 19.97mmol) 和三乙胺 (2.63 克, 3.62ml, 26mmol) 的 500ml THF 溶液历经 25 分钟逐滴添加至冰冷的 POCl_3 (3.90 克, 2.40ml, 26mmol) / 100ml THF 溶液中。得到的混合物在冰浴中再搅拌 10 分钟, 并于室温 (23℃) 再搅拌 45 分钟。然后, 将乙醇胺 (1.6ml) 和三乙胺 (6.4ml) 的 THF (500ml) 溶液在剧烈搅拌下逐滴添加到冰冷的反应混合物中。搅拌在冰浴中再继续 10 分钟, 并在室温下在继续搅拌过夜。此后, 过滤反应混合物并在减压下除去溶剂。将残余物溶解于乙酸 (24ml) 和水 (100ml) 的混合物中, 并加热至 70℃, 在此温度下加热 1 小时。此后, 将反应混合物冷却至室温, 并用二氯甲烷萃取 (2x250ml)。减压下除去溶剂, 得到粗品 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基) 丁基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺。

[0437] 将粗品 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基) 丁基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺溶解于异丙醇 (500ml) 和二氯甲烷 (180ml) 的混合物中。添加碳酸钾 (50 克) 的水 (100ml) 溶液, 达到 pH 超过 11, 并在 45 分钟的时间期限内逐滴添加甲苯磺酸甲酯 (11.15 克) / 100ml 异丙醇, 期间将溶液维持于 35-40℃。另外的 90 分钟后, 混合物用盐酸酸化。添加水 (100ml) 和二氯甲烷 (550ml), 并分离各相。有机相用水洗涤 (100ml), 并在减压下除去溶剂, 得到 11.0 克的 1-十六烷基-2-(5'-羧甲基) 丁基-3-磷酸胆碱 (18.46mmol, 收率 92.45%)。

[0438] 制备 1-十六烷基-2-(4'-羧基) 丁基-3-磷酸胆碱: 将 1-十六烷基-2-(4'-羧甲基) 丁基-3-磷酸胆碱溶解于异丙醇 (250ml) 中。添加氢氧化里-水合物 (1.68 克), 并将反应混合物于室温搅拌过夜。通过蒸馏部分蒸发异丙醇, 反应的 pH 通过添加盐酸变为酸性。添加水 (250ml), 并将溶液用二氯甲烷萃取 (2x250ml)。此后, 在减压下除去溶剂, 并与二氯甲烷共蒸发, 得到粗品 1-十六烷基-2-(5'-羧基) 丁基-3-磷酸胆碱。

[0439] 粗品 1-十六烷基-2-(4'-羧基) 丁基-3-磷酸胆碱经色谱法在硅胶柱上纯化。二氯甲烷, 随后二氯甲烷、甲醇、水和三乙胺的混合物用于从柱上洗脱产物。合并并蒸发含有产物的馏份。得到的产物在真空下干燥。得到 7.10 克纯净的 1-十六烷基-2-(4'-羧基) 丁基-3-磷酸胆碱 (12.2mmol, 收率 66.1%)。

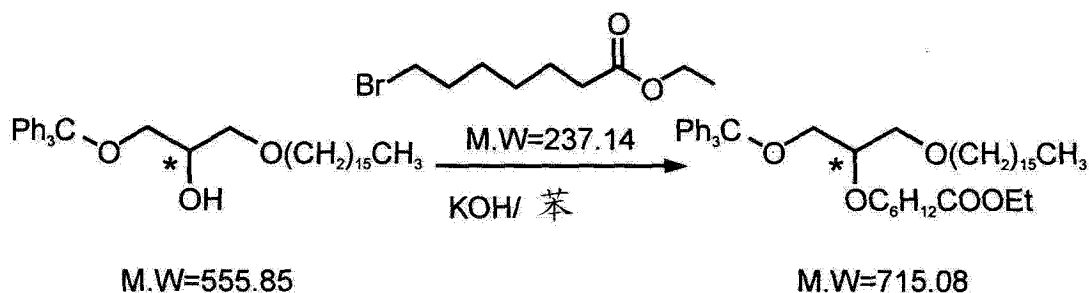
[0440] 实施例 7

[0441] 直接引入氧化部分制备 1-十六烷基-2-(6'-羧基) 己烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱—路线 II

[0442] 制备 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基) 己烷基-3-三苯甲基-sn-甘油:

[0443] 方案 XVI

[0444]

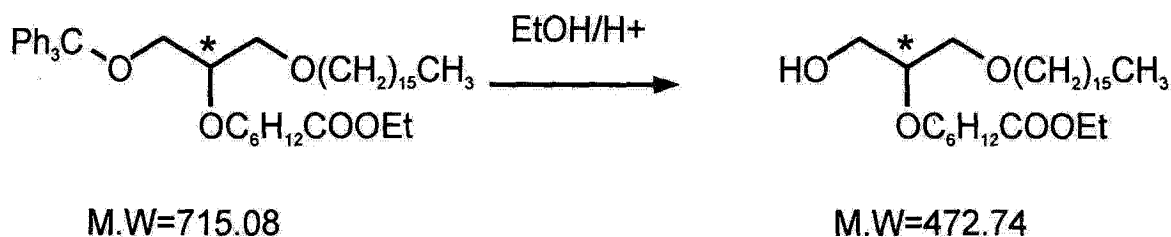


[0445] 向 1-十六烷基-3-三苯甲基-sn-甘油 (5.0 克, 8.95mmol) 和 7-溴-庚酸乙酯 (2ml, 2.44 克, 10.29mmol) 的苯 (70ml) 溶液中, 添加粉状 KOH (23 克)。将反应混合物搅拌并回流 14 小时, 同时通过共沸蒸馏除去形成的水。将反应混合物冷却至室温, 用水洗涤 (3x70ml), 并经无水硫酸钠干燥。减压下除去溶剂, 且将残余物溶解于己烷 (25ml) 中并冷却至 4℃。析出副产物并滤出。减压下将溶剂从滤液除去, 得到 5 克的 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-3-三苯甲基-sn-甘油, 为白色固体 (6.99mmol, 收率 78.1%)。

[0446] 制备 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油:

[0447] 方案 XVII

[0448]

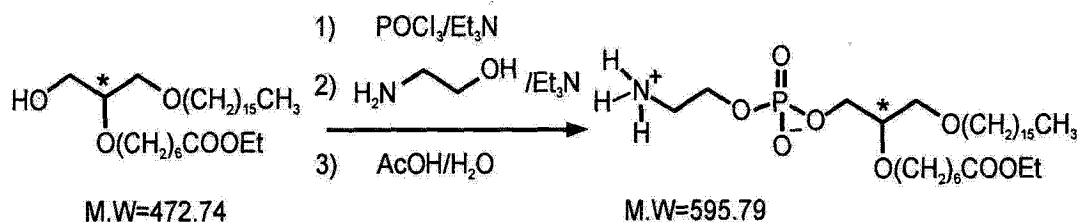


[0449] 向 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-3-三苯甲基-sn-甘油 (5.0 克, 7mmol) 的乙醇 (90ml) 溶液中, 缓慢加入浓盐酸 (32%, 20ml)。将反应混合物搅拌并回流 4 小时, 此后冷却至室温, 倾倒在冰上, 并用乙醚萃取 (3x100ml)。有机相用水 (100ml)、碳酸氢钠饱和和水溶液 (100ml) 和水 (100ml) 洗涤。经无水硫酸钠干燥并过滤后, 在减压下除去溶剂。添加正己烷, 并将混合物维持于 4℃ 过夜。过滤沉淀物后, 滤液经蒸发浓缩, 并将黄色溶液维持于 4℃ 过夜。过滤沉淀物后, 将黄色溶液温热至室温, 并在减压下除去溶剂, 得到 3.1 克黄色油状物。残余物经色谱法在硅胶柱上纯化 (140 克)。洗脱开始用 300ml 氯仿, 极性增加至 300ml $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc} 90\%:10\%$, 然后增加至 300ml $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc} 80\%:20\%$ 和 300ml $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc} 70\%:30\%$, 最后增加至 300ml $\text{CHCl}_3:\text{EtOAc} 60\%:40\%$ 。合并馏份并在减压下除去溶剂后, 由后两个洗脱混合物洗脱的馏份收集产物。得到 1.34 克无色油状物, 并用五氧化二磷在减压下干燥, 得到 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油, 为无色固体 (2.83mmol, 收率 40.5%)。

[0450] 制备 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺:

[0451] 方案 XVIII

[0452]

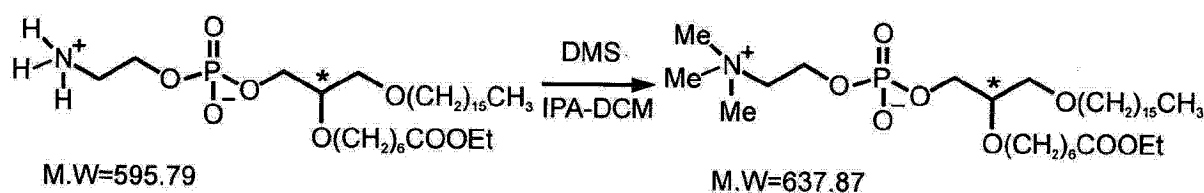


[0453] 将 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油 (1.34gram, 2.83mmol) 和三乙胺 (1.2ml) 溶解于 15ml THF 中。将溶液历经 15 分钟逐滴添加到冰冷的 POCl_3 (0.8ml, 8.5mmol) 的 10ml THF 溶液中。搅拌在冷却下再继续 10 分钟,并于室温再继续 45 分钟。乙醇胺 (0.52ml, 8.5mmol) 和三乙胺 (2.4ml) 的 THF (25ml) 溶液历经 15 分钟逐滴添加到冰冷的反应混合物中。搅拌继续 10 分钟,此后除去冷却浴,并将反应混合物于室温搅拌过夜。然后,将反应混合物过滤,并在减压下除去溶剂。将残余物溶解于乙酸 (24ml) 和水 (10ml) 的混合物中,并加热至 70°C ,在此温度下加热 1 小时。此后,混合物用氯仿萃取 (3x50ml),有机相用水洗涤 (2x50ml),并在减压下除去溶剂,得到 1.87 克粗品 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺,为黄色油状物。

[0454] 制备 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱:

[0455] 方案 XIX

[0456]

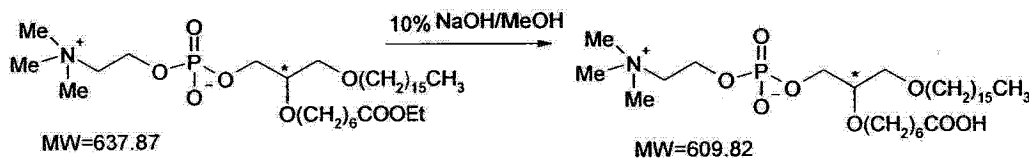


[0457] 将 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺溶解于异丙醇 (50ml) 和二氯甲烷 (18ml) 的混合物中。历经 5 分钟逐滴添加碳酸钾 (2.17 克) 的水 (10ml) 溶液,同时维持溶液于 $35-40^\circ\text{C}$ 。于 40°C 在 10 分钟期间逐滴添加在异丙醇 (10ml) 中的硫酸二甲酯 (1.52ml, 15.69mmol),并将反应于 40°C 搅拌 90 分钟。然后添加水,并将混合物用氯仿萃取 (2x50ml)。有机相用水洗涤 (50ml),并在减压下除去溶剂,得到 1.8 克的 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱,为蜡状物。

[0458] 制备 1-十六烷基-2-(6'-羧基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱:

[0459] 方案 XX

[0460]



[0461] 向 1-十六烷基-2-(6'-羧乙基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (1.8 克, 2.82mmol) 在甲醇 (50ml) 中的混合物中添加 10% 氢氧化钠溶液。混合物于室温搅拌 5 小时。通过添加磷酸二氢钠将反应的 pH 调节至 4-5,并添加水 (70ml) 和氯仿 (70ml)。分离各相,并在减压下除去溶剂。将残余物溶解于氯仿中,经无水硫酸钠干燥,过滤,并在减压下除去溶剂,得到 1.29 克的粗品产物,为白色蜡状物。

[0462] 粗品产物经柱色谱法在硅胶柱上纯化(62克)。洗脱用 200ml CHCl_3 :MeOH80%:20% 开始,以洗脱非极性残余物,然后极性增加至 200ml CHCl_3 :MeOH: 水 70%:26%:4%,最后增加至 300ml CHCl_3 :MeOH: 水 60%:35%:5%。产物用最后的混合物洗脱。收集馏份,在减压下除去溶剂,将残余物溶解于氯仿中,并经无水硫酸钠干燥,且在减压下除去溶剂。在减压下用五氧化二磷干燥产物。得到 1.0 克 1-十六烷基-2-(6'-羧基)己烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱,为白色蜡状物(收率 58.1%)。

[0463] 应理解,本发明的某些特征,其清楚地描述于上下文的各独立的实施方案中,还可以提供于单个实施方案中的组合中。相反地,本发明的各种特征,其简要地描述于上下文的单个实施方案中,还可以分开提供或在任意适宜的次组合中提供。

[0464] 虽然本发明已在其特殊的实施方案结合中被描述,但是很明显,许多变更、修饰和变化对于本领域的技术人员是显而易见的。相应地,打算包含所有这些变更、修饰和变化,其落在附加的权利要求的精神和宽的范围之内。本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请在此整体引入本说明中作为参考,在相同的程度上似乎各出版物、专利或专利申请特别地和各个地在此引入作为参考。另外,本申请中任意参考文献的引用和确证不应解释为认为这类参考文献可用作本发明的现有技术。