

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
8. November 2007 (08.11.2007)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/124733 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:

Nicht klassifiziert

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2007/000767

(22) Internationales Anmeldedatum:

27. April 2007 (27.04.2007)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

10 2006 019 907.3 28. April 2006 (28.04.2006) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **MUELLER-ENOCH, Dieter** [DE/DE];
Lisztweg 5, 89160 Dornstadt (DE). **HAEHNER, Thomas**
[DE/DE]; Rathausgasse 9, 89160 Dornstadt (DE).

(74) Anwalt: **FUCHS, MEHLER, WEISS & FRITZSCHE**;
Naupliastrasse 110, 81545 München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG,

ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,
MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO,
RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF,
CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD,
TG).

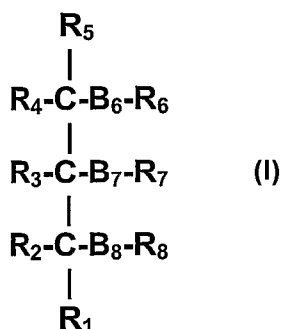
Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) **Title:** USE OF SUBSTITUTED GLYCERIN DERIVATIVES FOR PRODUCING A PHARMACEUTICAL PREPARATION

(54) **Bezeichnung:** VERWENDUNG VON SUBSTITUIERTEN GLYCERINDERIVATEN ZUR HERSTELLUNG EINER
PHARMAZEUTISCHEN ZUBEREITUNG



(57) **Abstract:** The invention relates to a compound of formula (I) or pharmaceutically accept-
able salts thereof which can be used for producing a pharmaceutical preparation for prevent-
ing or treating cancerous diseases, pathological consequences of alcohol abuse, viral hepatitis,
steatohepatitis, acute and chronic pancreatitis, toxic renal diseases, hepatic insulin resistance in
diabetes mellitus, hepatic damage in Wilson's disease and/or sideroses and/or ischaemic reperfu-
sion damage as an antidote against environmental toxins and medicament intoxication in order
to extend the resistance time of medicaments in organisms, and/or for combating toxic side ef-
fects of the administration of chemotherapeutics. B₆, B₇ and B₈ are identical or different and
represent 0, S, NH, PO₄, Se, SO₄. R₁ is identical to H or a C₆- and/or C₇- to C₂₆- and/or C₂₀-alkyl
chain, and R₂, R₃, R₄ and R₅ can be identical or different and represents an H or C₁- to C₃- alkyl,
alkanol, alkylamine and/or alkylthiol-group. R₆, R₇ and R₈ can be identical or different and H
represents a substituted or unsubstituted C₆- and/or C₇- to C₂₆-alkyl radical, a glucose radical, a

positive or negatively charged amino acid radical and a - (CH₂)_n-N⁺(R₉, R₁₀, R₁₁). R₉, R₁₀, R₁₁ is H, methyl-, ethyl- and/or propyl
radical, and at least two of R₂, R₃, R₄ and R₅ can together form a polyol radical and n is a whole number from 1 to 5.

(57) **Zusammenfassung:** Eine Verbindung der Formel (I) oder pharmazeutisch akzeptable Salze davon können zur Herstellung
einer pharmazeutischen Zubereitung zur Vorbeugung oder Behandlung von Krebserkrankungen, pathologischer Folgen des Alko-
holmissbrauchs, viraler Hepatitis, Steato-Hepatitis, akuter und chronischer Pankreatitis, toxischer Nierenerkrankungen, hepatischer
Insulinresistenz bei Diabetes mellitus, Leberschäden bei Morbus Wilson und/oder Siderosen, Ischämie-Reperfusionsschäden, als
Antidote gegen Umweltgifte und Medikamentenintoxikation, zur Verlängerung der Verweildauer von Medikamenten im Organis-
mus, und/oder zur Bekämpfung toxischer Nebenwirkungen bei der Verabreichung von Chemotherapeutika verwendet werden. Dabei
sind B₆, B₇ und B₈ gleich oder verschieden und bedeuten 0, S, NH, PO₄, Se, SO₄. R₁ ist gleich H oder eine C₆- bzw. C₇- bis C₂₆- bzw.
C₂₀-Alkylkette, und R₂, R₃, R₄ und R₅ können gleich oder verschieden sein und ein H oder eine C₁- bis C₃- Alkyl, Alkanol, Alkylamin
und/oder Alkylthiol-Gruppe bedeuten. R₆, R₇ und R₈ können gleich oder verschieden sein und H, ein substituierter oder unsub-
stituierter C₆- bzw. C₇- bis C₂₆-Alkylrest, ein Glycosidrest, ein positiv oder negativ geladener Aminosäurerest, ein - (CH₂)_n-N⁺(R₉,
R₁₀, R₁₁) bedeuten, wobei R₉, R₁₀, R₁₁ H, Methyl-, Ethyl- und/oder Propylrest ist, und wobei mindestens zwei der R₂, R₃, R₄ und R₅
gemeinsam einen Polyolrest bilden können und n eine ganze Zahl von 1 bis 5 bedeutet.



WO 2007/124733 A2

Verwendung von substituierten Glycerinderivaten zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung

Beschreibung

Die Erfindung betrifft die Verwendung von substituierten Glycerinderivaten oder pharmazeutisch akzeptablen Salzen dieser Verbindungen, zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung sowie derartige Zubereitungen selbst, insbesondere zur Applikation am Menschen.

Übermäßiger dauerhafter Alkoholkonsum führt meist zu einer Lebererkrankung, der so genannten Fettleber, die sich zu einer Leberentzündung bzw. Hepatitis und im Spätstadium zu einer Leberzirrhose entwickeln kann. Dabei hängt das Risiko und das Ausmaß des jeweiligen Leberschadens direkt von der Menge und der Dauer des Alkoholkonsums ab, wobei das Risiko individuell unterschiedlich ist. Eine alkoholbedingte Entzündung der Leber (Alkoholhepatitis) stellt eine ggf. lebensbedrohliche Erkrankung dar, die mit Fieber, Gelbsucht sowie einer Erhöhung der weißen Blutkörperchen einhergehen kann. Derartige alkoholbedingte Leberentzündungen sind durch völlige Alkoholabstinenz ausheilbar, Vernarbungen bei der Leberzirrhose ausgenommen.

Neben dieser alkoholinduzierten sogenannten Fettleberhepatitis oder alkoholischen Steato-Hepatitis (ASH) entstehen auch Hepatiden bei Personen, die keinen Alkoholmissbrauch betreiben, oder überhaupt keinen Alkohol zu sich nehmen. Solche Hepatiden werden beispielsweise durch Umweltgifte, beispielsweise bei Arbeiten in Lackierwerken und/oder auch durch Medikamente induziert.

Die Alzheimersche Erkrankung ist eine fortschreitende Demenzerkrankung, welche letztlich zum völligen Verlust des Gedächtnisses und der Persönlichkeit führt. Hervorgerufen wird sie durch Proteinablagerungen in Nervenzellen, den Plaques, welche aus β -Amyloid- bzw. so genannten τ -Proteinen gebildet werden. Die ei-

gentliche Ursache ist bislang unbekannt, wobei sowohl metabolische Störungen, Genmutationen, sowie so genannte Slow-Virus-Infektionen bzw. Prionen diskutiert werden.

Bei der Alzheimerschen Erkrankung ist bekannt, dass im Gehirn von transgenen Mäusen ein Auslöser der Plaque-Bildung eine Lipidoxidation ist, die zu einem G-Amyloid-Vorläuferprotein führt, welches die bekannten Plaques ausbildet.

Bei der Parkinsonschen Erkrankung handelt es sich um eine Degeneration dopaminergischer Neurone in der Substantia Nigra des Gehirns. Dabei handelt es sich um die häufigste neurologische Erkrankung im höheren Lebensalter. Beginnende Anzeichen sind hier insbesondere zitternde Bewegungen (Tremor), eine depressive Grundstimmung, Apathie sowie verlangsamtes Denken. Auch hier wird vermutet, dass reaktive Sauerstoffspezies an der Entstehung der Krankheit beteiligt sind.

Es ist bekannt, dass Oxidationsprozesse im Stoffwechsel mit Hilfe von Cytochromen erfolgen. Bei den Cytochromen handelt es sich um eine Vielzahl verschiedener Enzyme, deren aktives Zentrum eine Hämstruktur aufweist. Sie katalysieren bei einer Vielzahl von Oxidations- und Hydroxilierungsreaktionen den Transfer von Elektronen auf einen Akzeptor.

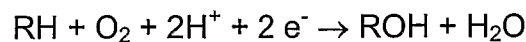
Eine wichtige Rolle spielen z.B. die Cytochrome der P450-Familie (CYP-450). Hierbei handelt es sich um Monooxygenasen, die ubiquitär sind und zu den wichtigsten Enzymen des Metabolismus hydrophober körperfremder Stoffe und der Modifikation hydrophober Hormone, der Steroide, gehören.

Eine der Hauptaufgaben der Cytochrom-P450-Enzyme ist es, körperfremde Stoffe durch Hydroxylierung zu solubilisieren und auf diese Weise der renalen Exkretion zuzuführen. Cytochrom-P450-Enzyme spielen daher eine wichtige Rolle bei der Entgiftung.

Es wird geschätzt, dass ca. die Hälfte aller derzeitigen Arzneistoffe durch Cytochrom-P450-Enzyme der Leber hydroxyliert wird. Die Verweildauer vieler Arzneistoffe im Körper wird daher durch die Aktivität von Cytochrom-P450-Enzymen z.T. erheblich vermindert. Die überwiegende Menge an Cytochrom P450 findet sich bei Säugetieren in der Leber, da diese das zentrale Entgiftungsorgan darstellt. Cytochrom P450 liegt in der Regel in an die Membran des endoplasmatischen Reticulums gebundener Form vor.

Auch bei der Vermittlung der Resistenz von Insekten gegen Insektizide und der Pflanzen gegen Herbizide spielen Cytochrom-P450-Enzyme eine Schlüsselrolle.

In seiner Grundstruktur weist Cytochrom P450 eine sechsfach koordinierte Hämgruppe auf, an der eine Reaktion folgendem Schema



katalysiert wird. Dabei werden die beiden für diese Reaktion erforderlichen Elektronen z.B. von mit dem Enzymkomplex assoziierten NADPH-Cytochrom P450-Reduktase bereitgestellt. Auf diese Weise entstehen am P450 u. a. auch cytotoxische, reaktive Sauerstoffspezies (ROS).

Das Cytochrom P450 selbst liegt in einer Vielzahl verschiedener Formen vor, wie 1A1, 2B1, 2C9, 2J2, 2E1, 3A1 etc. So unterscheiden sich beispielsweise das Cytochrom P450 2B1 der Ratte und humanes Cytochrom P450 2E1 in ihrer Aminosäuresequenz zu circa 60 %, d. h. dass sich sowohl die Strukturen der aktiven und katalytischen Zentren sowie die Größe und Form der Zugangskanäle für das Substrat ganz erheblich unterscheiden. Dies führt letztlich auch dazu, dass beide Enzyme völlig verschiedene Substratklassen metabolisieren. Die Isoform 2E1 reagiert mit wesentlich kleineren Molekülen, beispielsweise Ethanol, Aceton oder auch p-Nitrophenol.

Diese Varianz ist für sämtliche Isoformen der P450-Hämproteine geradezu charakteristisch, d.h. es kann nicht von einer Isoform auf eine andere geschlossen werden. Die mit der Isoform 2B1 der Ratte gewonnenen Erkenntnisse sind daher nicht auf die 2E1 Isoform des Menschen übertragbar.

Aber auch innerspezifisch treten durch Polymorphismen individuelle Varianzen der Funktion einer gegebenen Cytochrom P450-Form auf. Dies ist eine Ursache dafür, dass bei gleicher Dosierung eines Medikaments Intensität und Dauer von Wirkungen und Nebenwirkungen von Patient zu Patient sehr unterschiedlich sein können.

Es ist bekannt, dass sowohl bei Alkoholkonsum als auch bei der nichtalkoholischen Fettleberhepatitis die Synthese des Cytochroms P450-2E1 induziert wird. Die Funktion und Wirkungsweise dieser von anderen Cytochromen stark verschiedenen Isoform ist beispielsweise von M. H. Wang et al. in Archives of Biochemistry and Biophysics, (1995) Vol. 317, Seite 299 bis 304 beschrieben. Danach weist das Enzym einen ca. 15 Å langen Kanal auf, an deren Ende das reaktive Zentrum mit einem ein zentrales Eisenatom aufweisenden Hämring sitzt.

Seit längerem wurde vermutet, dass auch Chemotherapeutika, wie sie in der Krebstherapie zum Einsatz kommen, durch Cytochrom P450-Enzyme abgebaut werden.

In einer jüngeren Studie von Jiang et al. ("Cytochrome P450 2J2 Promotes the Neoplastic Phenotype of Carcinoma Cells and Is Up-regulated in Human Tumors" in Cancer Res. 2005, 65: 4707-4715) wurde jedoch erstmals gezeigt, dass Cytochrom P450 sogar eine krebsfördernde Wirkung haben kann.

Es wurde gezeigt, dass die Genexpression von Cytochrom P450 2J2 in menschlichen Tumoren hochreguliert wird. Bei Cytochrom P450 2J2 handelt es sich um eine Epoxygenase, die das Substrat Arachidonsäure in vier verschiedene isomere Epoxyeicosatrienoide Säuren (EET) überführt. In der Studie wurde ferner ge-

zeigt, dass EET eine apoptosehemmende Wirkung aufweisen, da sie die Tumorzellen vor der Wirkung von Tumornekrosefaktoren schützen, und auf diese Weise die Lebensdauer der Krebszellen erhöhen. Überdies fördern sie die Mitose sowie die Proliferation von Tumorzellen.

Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass EETs die Angiogenese, d. h. die Bildung neuer Blutgefäße fördern. Dieser Vorgang spielt eine wichtige Rolle beim Wachstum von Tumoren (Pozzi A. et al. „Characterization of 5,6- and 8,9-Epoxy-eicosatrienoic Acids (5,6- and 8,9-EET as Potent in Vivo Angiogenic Lipids“, J. Biol. Chem. 280:27138-27146, 2005).

In einer Schrift von Schattenberg et al. („Hepatocyte CYP2E1 overexpression and steatohepatitis lead to impaired hepatic insulin signalling“ in J. Biol. Chem. 2005; 280: 9887–9894) wird hingegen erstmals eine Überexpression von Cytochrom P450 mit Diabetes in Verbindung gebracht.

Müller-Enoch et al. beschreiben in Z. Naturforsch. (2001) 56c, Seite 1082-1090 die Inhibierung von Cytochrom-P450 2B1 der Ratte mittels Lysophosphatidylcholin, Lysophosphatidylinositol sowie Arachidon- und Oleinsäuren bzw. mittels Monoacylglycerolen, Monooleylglycerolen, und Monopalmitoylglycerolen.

Des weiteren wird von T. Haehner, D. Müller-Enoch et al. in Z. Naturforschung (2004) 59c, Seite 599-605 den Einfluß von einkettigen Lipidmolekülen auf die Aktivität der Isoform Cytochrom P 450 2B1 der Ratte beschrieben.

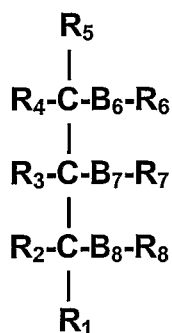
Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, Mittel zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung bereit zu stellen, die sich zur Vorbeugung oder Behandlung von Krebserkrankungen, pathologischer Folgen des Alkoholmissbrauch, viraler Hepatitis, Steato-Hepatitis, akuter und chronischer Pankreatitis, Alzheimer-erkrankung, Morbus Parkinson, toxischer Nierenerkrankungen, akutem Nierenversagen, Diabetes mellitus, Morbus Wilson, Siderosen, Ischämie-Reperfusionsschäden, und/oder Arteriosklerose, zur Verwendung als Antidot gegen Umwelt-

gifte und Medikamentenintoxikation, zur Verlängerung der Verweildauer von Medikamenten im Organismus, oder zur Bekämpfung toxischer Nebenwirkungen bei der Verabreichung von Chemotherapeutika eignet.

Diese Aufgabe wird mit einer Verbindung gemäß der in den Ansprüchen definierten Merkmale erfüllt.

Es wurde nämlich überraschenderweise gefunden, dass sich die vorgenannten Erkrankungen mit derartigen Verbindungen therapieren lassen. Diese Verbindungen hemmen die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), insbesondere Sauerstoffradikalen wie des Superoxidanion ($O_2^{\bullet-}$) sowie des Hydroxylradikals ($\bullet OH$), die nicht in einer direkten Redoxreaktion verbraucht werden am Cytochrom P450, insbesondere an den Isoformen der Gruppe 2, speziell 2E1, sowie 2J2.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen die Formel



auf. Ebenso kann es sich übrigens um pharmazeutisch akzeptable Salze dieser Verbindungen handeln.

Die Reste $R_1/R_6/R_7/R_8$ können grundsätzlich die Form $R-X$ annehmen. Dabei steht R für einen aliphatischen oder aromatischen Kohlenwasserstoffrest mit vorzugsweise 6 bis 40 Kohlenstoffatomen, der einen insbesondere endständigen, hydrophilen Rest A aufweist und X für einen, mindestens ein freies Kohlenstoff-

oder Heteroelektronenpaar und/oder Π -Elektronen aufweisenden Rest. Der Rest R ist insbesondere lipophil.

Üblicherweise ist der Rest R ein Alkylrest. So kann er geradkettig oder verzweigt sein, Einfach-, Doppel- oder Dreifachbindungen aufweisen und substituiert sein. Üblicherweise weist er ein aliphatisches Rückgrat mit 6 bis 26, insbesondere 8 bis 22 Kohlenstoffatome auf. Zweckmäßig sind Kohlenwasserstoffketten mit einem Rückgrat von 10 bis 15, insbesondere 10 bis 13 Kohlenstoffatomen. Ist R ein alicyclischer oder aromatischer Kohlenwasserstoffrest, der kondensiert und/oder lipophil substituiert sein kann, so weist er üblicherweise mindestens 5 bzw. 6 und höchstens 40 bzw. höchstens 25 Kohlenstoffatome auf. Weitere zweckmäßige Mindestlängen sind 7 bzw. 8 C-Atome und weitere zweckmäßige Maximallängen sind 22 bzw. 20 C-Atome.

Zweckmäßige Reste X sind Heterocyclen, sowie Alkynylreste. Die Heterocyclen sind insbesondere Stickstoff, Sauerstoff und/oder Schwefel enthaltende Heterocyclen. Die Heterocyclen können aromatisch und/oder nicht aromatisch sein und weisen üblicherweise 5 oder 6 Ringatome auf. In geeigneten Fällen kann X auch ein kondensierter Heterocyclus sein. Beispiele derartiger Heterocyclen sind Imidazol, Pyrrol, Pyrazol, Pyridin, Pyrazin, Indol, Isoindol, Indazol. Bevorzugte Heterocyclen sind 6 und insbesondere 5 Atome aufweisende Ringe mit ein, zwei oder drei Heteroatomen. Weitere geeignete Heterocyclen sind beispielsweise Thiazole, Triazole, Furane.

Bevorzugte Alkine weisen die Struktur $\text{--C}\equiv\text{C--R}_{12}$ auf, wobei R_{12} ein Wasserstoff oder ein gegebenenfalls substituierter C_1 - bis C_{15} - bzw. maximal C_{10} -Alkylrest ist, der wiederum gegebenenfalls Doppel- oder Dreifachbindungen aufweisen kann. Üblicherweise weist R_{12} jedoch maximal 5, insbesondere maximal 3 C-Atome auf. In einer weiteren zweckmäßigen erfindungsgemäßen Ausgestaltung steht der Rest X beispielsweise für

- primäre, sekundäre und tertiäre Amine,

- substituierte oder nicht substituierte Diazofunktionen wie z. B. Hydrazine und Hydrazone,
- Nitril, Isonitril,
- S-haltige funktionelle Gruppen, wie z. B. Thio- und Isothiocyanate, Alkylsulfide, Sulfoxide, Thiolgruppen,
- Methylendioxyfunktion,
- Alkyläther und Alkylthioäther.

Die Reste X sind zweckmäßigerweise Reste, die mit der prosthetischen Hämgruppe koordinieren.

R₁, welches normalerweise ein Wasserstoff oder eine C₆- bzw. C₇- bis C₂₆- bzw. C₂₀-Alkylkette darstellt, weist in einer bevorzugten Ausführungsform eine oder mehrere Doppel- und/oder Dreifachbindungen auf. Ebenso lässt sich das Kohlenwasserstoffrückgrat mit alizyklischen und/oder aromatischen Kohlenwasserstoffformen, wobei hier wegen der Ringstrukturen bis zu 40 Kohlenstoffatome nötig werden können. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform weist R₁ eine α -ständige Doppelbindung und eine ω -ständige Dreifachbindung auf wie z. B. ein ω -acetylenisches Sphingosin. Prinzipiell ist es auch möglich die Dreifachbindung in einem langen Molekül so in der Mitte anzuordnen, und dass es mit dem Häm koordiniert, wie z. B. bei den Eicosatetrainsäuren oder ω -acetylenisiertes Sphingosin. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform kann die endständige Dreifachbindung durch einen Heterocyclus oder eine andere Hämkoordinierende Gruppe substituiert sein. Prinzipiell kann R₁ ein oder mehrere Substituenten aufweisen. Enthält R₁ einen endständigen Heterocyclus, dann kann dieser Heterocyclus eine der für R₆ bis R₈ angeführten Definitionen aufweisen.

Die Reste R₂ bis R₅ können gleich oder verschieden sein und sind üblicherweise ein C₁ bis C₅ Alkylrest oder Wasserstoff. Die Alkylreste können gegebenenfalls substituiert sein und beispielsweise ein Alkanol, Alkylamin oder Alkylthiolrest

sein. Besonders bevorzugt sind Wasserstoff, Methyl-, Ethyl- und Propylreste bzw. deren Derivate.

R₆ bis R₈ sind über die Bindung B₆, B₇ bzw. B₈ mit dem jeweiligen Glycerin-C-Atom verbunden und können gleich oder verschieden sein und Wasserstoff, ein C₆ bzw. C₇ bis C₂₆ bzw. C₂₀, insbesondere C₈ bzw. C₉ bis C₂₂ bzw. C₁₈ Alkylrest sein. Diese Alkylreste können sowohl substituiert als auch unsubstituiert sein, wobei vorzugsweise solche Substituenten bevorzugt sind, die zwischen den C₄ bzw. C₉ bis C₁₅ bzw. C₁₄ C-Atomen eine oder mehrere Dreifachbindungen aufweisen. Ebenso lässt sich das Kohlenwasserstoffrückgrat mit alizyklischen und/oder aromatischen Kohlenwasserstoffen formen, wobei hier wegen der Ringstrukturen bis zu 40 bzw. bis zu 25 Kohlenstoffatome nötig werden können.

Es hat sich gezeigt, dass bei erfindungsgemäßen Verbindungen, bei denen mindestens einer der Reste R₁, R₆, R₇ und/oder R₈ ein Häm-koordinierendes Kohlenwasserstoffrückgrat aufweist, wie z.B. 17-Octadecynyl-1-Säure, sich in vitro als besonders effektiv gezeigt haben, die Verweildauer dieser Stoffe im Blut wesentlich verlängert werden kann, wenn der Carboxyterminus eines solchen Moleküls z.B. durch einen Sulfatrest ersetzt, oder ein dem Carboxyterminus nahegelegenes C-Atom des aliphatischen Rückgrats durch Addition von 2 Methylgruppen oder durch Einfügung eines aliphatischen oder aromatischen Ringes substituiert wird. Auf diese Weise wird auch die in-vivo-Aktivität entsprechend der in-vitro-Aktivität verbessert.

So weist z.B. 2,2-Dimethyl-11-Dodecynylsäure in vitro eine vergleichbar hohe Inhibition der Cytochrom-P450-Aktivität wie 10-Undecynylsäure auf, wogegen sie in vivo letzterer weit überlegen ist.

Bevorzugt ist dabei vorgesehen, dass die Länge des aliphatischen Rückgrats 6 bzw. 9 – 26 bzw. 13 Kohlenstoffatome umfasst, wenn es sich bei R₁ um einen Imidazolrest handelt. Ein Vertreter dieser bevorzugten Gruppe ist z.B. das 12-Imidazolyl-Dodecanol oder das 1-Imidazolyl-Dodecan. Bezüglich der Strukturfor-

meln dieser und weiterer Substanzen wird auf die beiliegenden Tabellen verwiesen.

Bevorzugt ist weiterhin vorgesehen, dass die Länge des aliphatischen Rückgrats 6 bzw. 14 – 26 bzw. 18 Kohlenstoffatome umfasst, wenn es sich bei R₁ um einen Ethinylrest handelt. Vertreter dieser bevorzugten Gruppe ist z.B. 17-Octadecinyl-1-Säure.

Ebenso bevorzugt umfasst die Länge des aliphatischen Rückgrats 9 – 13 Kohlenstoffatome, wenn es sich bei R₁ um einen Ethinylrest handelt. Vertreter dieser bevorzugten Gruppe sind z.B. 2,2-Dimethyl-11-Dodecinylsäure, 10-Undecinyl-Sulfat, 10-Undecinylsäure oder 10-Undecinol.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform sind zumindest eines der Reste R₆ bis R₈ ein Glycosid, insbesondere ein Monosaccharid, welches gegebenenfalls substituiert ist, beispielsweise mittels einem Sulfat oder einem Aminorest. In einzelnen Ausführungsformen sind auch Di- oder Oligosaccharide für den erfindungsgemäßen Verwendungszweck durchaus geeignet. Bevorzugte Saccharide sind Pentosen und Hexosen sowie gemischte Saccharide. Prinzipiell können die Glycoside auch Thiozucker sein.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist mindestens einer der R₆ bis R₈ ein positiv oder negativ geladener Aminosäurerest, insbesondere eine Aminosäure mit einer zusätzlichen Aminogruppe, wobei Aminosäuregruppen der Struktur $-(CH_2)_n-N^+(R_9-R_{11})$ eine zweckmäßige alternative Ausführung darstellen. Dabei ist n üblicherweise eine ganze Zahl zwischen 1 und 5, wobei 1 bis 3, insbesondere 2 bevorzugt ist. Die Reste R₉ bis R₁₁ sind üblicherweise Wasserstoff oder eine Methyl-, Ethyl- oder Propylgruppe. Dabei können R₉ bis R₁₁ gleich oder verschieden sein. In einer ganz bevorzugten Ausführungsform bilden eine der X mit einem der R₆ bis R₈-Reste zusammen eine Phosphocholingrouppe oder weitere Phosphatester, wie z. B. Phosphatidylethanolamin-, Phosphatidylserin- oder Phosphatidylinositol-Reste aus.

In einer zweckmäßigen Ausgestaltung der Erfindung ist die Häm-koordinierende Gruppe ein über ein Stickstoffatom gebundener Imidazolrest oder ein Ethinylrest ($-C\equiv CR_{12}$), wobei R_{12} Wasserstoff oder ein substituierter oder unsubstituierter aliphatischer C_1 bis C_{12} Kohlenwasserstoffrest ist.

Die erfindungsgemäße Verwendung ermöglicht es, die Bildung von solchen reaktiven Sauerstoffspezies zu verringern und die oben erwähnten Krankheiten zu therapieren.

Darüber hinaus kann die zur Verstoffwechslung führende Hydroxylierung von körperfremden Stoffen, insbesondere Arzneimitteln, vermieden oder verlangsamt werden. Auf diese Weise wird die Verweildauer dieser Stoffe im Körper verlängert und/oder toxische Nebenwirkungen verringert bzw. sogar ganz verhindert. Dies ist z.B. bei Chemotherapien von großer Bedeutung. Ein Beispiel hierfür ist die Wirkung der Platine.

Überdies bieten diese Verbindungen die Möglichkeit, die Bildung und die Proliferation von Tumorgewebe zu hemmen, da durch Applikation der erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen die Umsetzung von Arachidonsäure in die proliferationsfördernden und apoptosehemmenden Epoxyeicosatrienoiden Säuren vermieden wird.

Es hat sich nunmehr gezeigt, dass die Biokompatibilität der genannten Verbindungen, insbesondere solche, die unter physiologischen Bedingungen schlecht löslich sind und/oder aufgrund bestimmter Eigenschaften Zellmembranen schlecht passieren können und daher unzureichend zum Wirkort gelangen, durch weitere unten beschriebene Maßnahmen verbessert werden kann. Dies gilt auch für solche Verbindungen, die durch körpereigene Enzymaktivität abgebaut oder leicht über die renale Exkretion ausgeschieden werden.

So werden einige der erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen, die ein Häm-kordinierendes Kohlenwasserstoffrückgrat enthalten, nach der Verabreichung schnell von Muskel- oder Fettzellen resorbiert, so dass nur noch ein geringer Anteil bis zum Wirkort gelangt, weshalb diese in höheren Dosen verabreicht werden müssen.

Aus diesem Grunde ist in einer weiteren Ausgestaltung der Erfindung vorgesehen, die erfindungsgemäßen Verbindungen dergestalt weiterzubilden, dass die funktionellen Gruppen der Kohlenwasserstoffreste R_1 , R_6 , R_7 , R_8 , also die terminalen Kohlenwasserstoffreste, die alkoholische OH-Gruppe, die Sulfat- oder die Co-A-Gruppe oder die organische Säuregruppe durch Addition eines weiteren, hydrophilen Rests modifiziert werden.

Die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen, die den bereits beschriebenen Häm-kordinierenden Kohlenwasserstoffrest enthalten, umfassen Verbindungen mit der Grundstruktur der Sphingosine, Mono-, Di- und Triglyceride, sowie imidazolierte oder ethinylierte Phosphoglyceride, Glykolipide, Sphingolipide, Ganglioside und Cerebroside, insbesondere deren imidazolierte oder ethinylierte Formen.

Wichtig ist hierbei, dass der hydrophile Rest die Bindung des Moleküls an das aktive Zentrum des Cytochroms P450 nicht beeinträchtigt. Dies kann durch Wahl der Länge des Kohlenstoffrückgrats genau gesteuert werden.

In einer weiteren alternativen Ausführung ist eines der R_1 , R_6 , R_7 , R_8 ein Cholin oder Ethanolamin, eine α -, β - oder γ -Hydroxyaminosäure, wie z.B. Serin, Threonin, Inositol oder auch Galactose.

B_6 , B_7 und B_8 können gleich oder verschieden sein und stellen O, S, NH, PO_4 , Se, SO_4 dar. Die Bindung $B_{6,7,8}$, welche das jeweilige Kohlenstoffatom des Glycerin- bzw. Polyolteils $R_{6,7,8}$ verknüpft, ist üblicherweise eine Ether-, und/oder eine Esterbindung zwischen einem alkoholischen Polyol bzw. Glycerin und einer or-

ganischen und/oder anorganischen Säuregruppe von $R_{6,7,8}$, wie z. B. eine $-C-O-C(O)-R_{6,7,8}$ -Gruppe oder eine $-C-O-P(O)-O-R_{6,7,8}$ -Gruppe.

Beispiele für solche Verbindungen sind z.B. 12-Imidazolyl-dodecanol-1-Phosphatidylcholin, 10-Imidazolyl-decanol-1-Phosphatidylcholin oder 17-Octadecynyl-1-Phosphatidylcholin.

Die erfindungsgemäß verwendeten Verbindungen umfassen insbesondere Mono-, Di- oder Triglyceride, Phospholipide sowie Glykolipide.

Die erfindungsgemäße Verwendung hat den Vorteil, dass die Verbindungen nicht unmittelbar für Enzyme des β -Oxidationsstoffwechsels zugänglich sind und daher nicht sofort metabolisiert werden.

Es hat sich gezeigt, dass die in einer erfindungsgemäßen Ausführungsform verwendeten Phosphoglyceride und Triglyceride, die an einer oder mehreren Stellen des Glycerinrests mit einem Rest R_1 , R_6 , R_7 , R_8 substituiert sind, insbesondere mit solchen Resten, die einen Häm-kordinierenden Kohlenwasserstoffrest aufweisen, ohne wesentlichen Abbau zu den soliden Organen und Tumoren verbraucht werden. Es wird vermutet, dass diese nach der Resorption im Darm zunächst hydrolysiert werden, wobei einer oder mehrere Kohlenwasserstoffreste abgespalten werden. Auf diese Weise werden u. a. Häm-kordinierende Monoglyceride erzeugt, die auch als Lysolipide bezeichnet werden, und die mit Hilfe von Lipoproteinen, also nicht-kovalenten Aggregaten aus Lipiden und Proteinen, die micellenähnliche Partikel ausbilden und dem Transport von wasserunlöslichen Lipiden im Blut dienen.

Dasselbe gilt im Übrigen auch für Häm-kordinierende Monoglyceride, wie z. B. ethinylierte bzw. imidazolierte Monoglyceride gemäß der obigen Definition, die bereits als solche verabreicht wurden.

Da bestimmte pathogene Gewebe, wie z.B. Tumoren, einen hohen Energieumsatz haben, und durch Ausschüttung von Wachstumsfaktoren (VEGF, PDGF) die eigene Vaskularisierung fördern, wandern die mit den genannten Häm-koordinierenden Monoglyceriden beladenen Lipoproteine mit dem Blutstrom bevorzugt in diese Gewebe. Die „Verpackung“ der Häm-koordinierenden Kohlenwasserstoffreste in Form von Lysolipiden ermöglicht also einen gezielten Transport derselben in die genannten Zielorgane.

Wie bereits oben erwähnt, weisen die Häm-koordinierenden Verbindungen die Eigenschaft auf, dass sie in Wechselwirkung mit dem aktiven Zentrum des Cytochroms P450 treten und so dessen Aktivität hemmen.

Vor diesem Hintergrund kommt den Verbindungen eine potenzielle Rolle in der Krebstherapie zu. Es steht zu hoffen, dass bei ihrer Gabe die durch Cytochrom P450 vermittelte Umwandlung von Arachidonsäure in Epoxyeicosatrienoide Säuren gehemmt wird. Letztere fördern, wie bereits erwähnt, die Zellteilung und -Proliferation und hemmen die Apoptose. Ebenso ist zu hoffen, dass bei Gabe einer solchen Verbindung die Hydroxylierung von Chemotherapeutika, die letztlich zu deren Exkretion führt, gehemmt wird. Eine solche Verbindung könnte damit sowohl für eine direkte als auch für eine adjuvante Tumorthherapie verwendet werden. Aus diesem Grunde ist die oben genannte bevorzugte Ausführungsform, die einen gezielten Transport in solide Organe und Tumore ermöglicht, besonders erfolgversprechend.

Wichtig ist auch in diesen Fällen, dass der hydrophile Rest R_2 die Bindung des Moleküls an das aktive Zentrum des Cytochroms P450 nicht beeinträchtigt. Dies kann durch Wahl der Länge des Kohlenstoffrückgrats genau gesteuert werden.

Erfindungsgemäß ist weiterhin eine Pharmazeutische Zubereitung vorgesehen, enthaltend eine erfindungsgemäße Verbindung in einem pharmazeutisch akzeptablen Träger.

Mögliche Indikationen für eine erfindungsgemäße Verbindung bzw. deren pharmazeutische Zubereitung liegen überdies in der Behandlung der Folgen von Alkoholmissbrauch. Dies sind insbesondere Leberschäden oder auch andere alkoholbedingte, entzündliche Prozesse. Neben den rein alkoholisch bedingten Leberschäden können auch ernährungsbedingte und endokrine Faktoren, wie z. B. Adipositas, aber auch Diabetes mellitus und Hyperlipidämie ebenfalls alkoholunabhängig eine schwere Leberschädigung verursachen, die über eine Fettleberhepatitis (nicht-alkoholische Steato-Hepatitis = NASH) bis hin zur Leberzirrhose reichen kann. Derartige alkoholische und nicht-alkoholische Fettlebererkrankungen gehen häufig mit einer viralen Infektion der Leber einher. Dabei kann es zu einem sehr schnellen Fortschreiten der Erkrankung kommen. Es hat sich gezeigt, dass dies z. B. auch auf eine synergistische Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und den damit verbundenen Zellschäden zurückzuführen ist. Alle vorgenannten Erkrankungen bzw. deren Ursachen oder Folgen sind mit den erfinderischen Verbindungen, die zu einer Inhibition der Cytochrom P450-Aktivität führen, behandelbar.

Es wurde auch gefunden, dass diese Substanzen sich gut zur Behandlung von Entzündungen der Bauchspeicheldrüse eignen. Derartige Entzündungen bzw. Pankreatitiden können neben Alkoholmissbrauch auch durch toxische Substanzen hervorgerufen werden. Hierzu zählen insbesondere Umweltgifte, wie Berufschadstoffe oder auch Medikamente. Auch virale Infektionen oder metabolisch-endokrine Faktoren können derartige Pankreasentzündungen verursachen, wobei in allen Fällen reaktive Sauerstoffspezies an der Krankheitsentstehung und am Fortschreiten der Erkrankung beteiligt sind.

Auch bei der Behandlung von Diabetes mellitus, sowohl bei Diabetes mellitus Typ 2 als auch Typ 1, hat sich das erfindungsgemäße Pharmazeutikum als geeignet erwiesen. Es hat sich nämlich gezeigt, dass β -Inselzellen der Langerhansschen Inseln gegenüber oxidativen Prozessen besonders empfindlich sind und dass diese bei erhöhtem oxidativen Stress rapide abnehmen. Dieser oxidative Stress

lässt sich mit dem erfindungsgemäßen Pharmazeutikum vermeiden, zumindest jedoch massiv verringern.

Auch bei der Behandlung der Alzheimer-Erkrankung sowie beim Morbus Parkinson hat sich das erfindungsgemäße Pharmazeutikum als wirksam erwiesen. Dabei hat es sich beispielsweise gezeigt, dass sich mit den erfindungsgemäßen Substanzen die Konzentration von Dopamin durch verminderten Abbau erhöhen lässt.

Auch toxische Nierenerkrankungen, sowie andere Erkrankungen, wie sie z. B. durch Nebenwirkungen bei der Verabreichung von Chemotherapeutika, insbesondere Zellgiften, wie Metall-Komplexe wie Cisplatin, Carboplatin, Titanocendichlorid oder Goldkomplexe hervorgerufen werden, sind mit dem erfindungsgemäßen Arzneimittel zu behandeln. Hierbei hat es sich insbesondere gezeigt, dass sich die Organotoxizität von Metall-Komplexen oder auch anderen toxischen Mitteln, wie halogenierten Kohlenwasserstoffen und zwar sowohl mono- wie auch polihalogenierte Kohlenwasserstoffe darunter auch Dampfnarkotika vom Halothan-Typ, sowie entsprechende aromatische Kohlenwasserstoffe, Nitrosamine, Acrylamid oder Arzneimittel, wie Paracetamol, Methotrexat, Isoniazid oder Aminoglykorid-Antibiotika oder Röntgen-Kontrastmittel verhindern lässt. Das erfindungsgemäße Arzneimittel ist somit auch zur Behandlung der Organotoxizität von Umweltgiften, insbesondere als Antidot hierfür an Organen, wie Leber, Niere, zentrales Nervensystem, Pankreas etc. geeignet.

Es ermöglicht so z.B. auch eine höhere Dosierung von Cytostatika in der Krebstherapie, und kann auch vor diesem Hintergrund als adjuvante Therapie die Erfolgsaussichten der Chemotherapie erhöhen.

Ebenso geeignet ist die erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung zur Behandlung des akuten Nierenversagens, insbesondere solchen Nierenversagen, die durch medikamentöse Intoxikation, hämolytische Erkrankungen, das hämolytisch-urämische Syndrom (Gasser Syndrom), die Rhabdomyolyse (Unter-

gang der quergestreiften Skelettmuskulatur), durch zirkulatorisch-ischämische Prozesse und/oder eine virale Infektion hervorgerufen wurde. Darüber hinaus hat sie sich zur Behandlung von Schäden erwiesen, die durch Quetschung der quergestreiften Muskulatur (Crush-Syndrom) und/oder deren Untergang bei Verabreichung von Medikamenten (wie z. B. CSE Inhibitoren, z. B. Lipobay) erwiesen.

Ganz besonders hat es sich als geeignet erwiesen, Schäden zu vermeiden, die durch Reperfusion von biologischen Geweben entstehen, wie beispielsweise nach Organinfarkten, insbesondere dem Herzen, sowie dem Hirn (Herzinfarkt, Schlaganfall). So konnte beispielsweise in Tierexperimenten gezeigt werden, dass derartige Reperfusionsschäden zu 60 - 80 % der Gewebszerstörung beitragen bzw. dass die Ausbreitung des Gewebstodes um diesen Faktor verringert werden kann. Seit längerem weiß man, dass eine Hauptursache der Reperfusionsschäden Sauerstoffradikale sind, die während der Ischämie gebildet werden.

Das erfindungsgemäße Mittel ist somit auch besonders geeignet zur Vermeidung von Reperfusionsschäden bei transplantierten Organen. Derartige Organe werden bis zu ihrer Transplantation in den Körper eines neuen Empfängers in einer gekühlten Nährlösung gehalten. Nach der Transplantation werden diese dann nach Anschluß an das Kreislaufsystem des Empfängers wieder mit Körperflüssigkeiten durchströmt, was zu Reperfusionsschäden führt. Durch eine Verabreichung des erfindungsgemäßen Mittels vor und während der Lagerung, sowie kurz vor dem Implantieren in den Empfängerorganismus, kann auch dieses wichtige Transplantationsproblem gelöst werden.

Die erfindungsgemäßen Substanzen haben sich insbesondere als Inhibitoren der humanen Isoformen der Genfamilie 2 des Cytochroms P450 und zwar insbesondere der Isoformen 2E1 und 2J2 und durch diese verursachten Erkrankungen erwiesen.

In einer besonders bevorzugten Ausgestaltung der Erfindung ist vorgesehen, dass die pharmazeutische Zubereitung in Liposomen eingebunden ist. Aufgrund

der Tatsache, dass die der Zubereitung zugrunde liegenden Verbindungen lange Kohlenwasserstoffreste aufweisen, ist deren Einbindung in Liposomen eine sehr geeignete Verabreichungsform. Solche Liposomen eignen sich für eine intravenöse, intramuskuläre, intraperitoneale, percutane oder auch orale Verabreichung. Ebenso ist auch eine Verabreichung als Aerosol geeignet.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können jedoch auch als solche direkt verabreicht werden. Auch in diesem Falle sind die oben genannten Verabreichungsarten geeignet.

Synthesewege

Im Folgenden werden mehrere Wege zur Synthese verschiedener erfindungsgemäßer Verbindungen aufgezeigt:

1. Synthese von 12-Imidazolyl-1-Dodecansäure

a) 12-Imidazolyl-1-dodecansäure wird synthetisiert gemäß einem Verfahren, das in der Schrift von Alterman et al. ("Fatty acid discrimination and omega-hydroxylation by cytochrome P450 4A1 and a cytochrome P4504A1/NADPH-P450 reductase fusion protein", Archives of Biochemistry and Biophysics 1995, 320:289-296) beschrieben ist.

Hierzu wird 12-Bromo-1-dodecanol mit Jones' Reagenz zu 12-Bromo-1-dodecansäure oxidiert. Die weiße feste Säure wird anschließend mit Diazomethan zum entsprechenden Methylester verestert. Der Methylester wird direkt mit Imidazol versetzt und bei 80°C fünf Stunden lang zum 12-Imidazolyl-1-dodecansäure-Methylester umgesetzt. Die so erhaltene dicke Masse wird zwischen Wasser und Dichlormethan aufgetrennt, die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und eingedampft. Der ölige Rückstand wird an Salicagel chromatographisch gereinigt und anschließend in einer Mischung aus Methanol und Tetrahydrofuran (3:4) gelöst, mit LiOH•H₂O versetzt und die Mischung unter Rückfluss zwei Stunden er-

wärmt. Nach Verdampfen der Lösungsmittel wird der weiße Rückstand wieder in Wasser gelöst, mit Dichlormethan extrahiert, auf pH 5-6 angesäuert und erneut mit Ethylacetat extrahiert. Der Ethylacetat-Extrakt wird über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der weiße feste Rückstand wird aus Methanol/Ether umkristallisiert und liefert 12-Imidazolyl-1-dodecansäure.

b) 12-Imidazolyl-1-Dodecanol und 1-Imidazolyl-dodecan werden gemäß einem Verfahren synthetisiert, das in der Schrift von Lu et al. ("Heme-coordinating analogs of lauric acid as inhibitors of fatty acid ω -hydroxylation", Archives of Biochemistry and Biophysics 1997, 337:1-7) beschrieben ist. Hierzu werden 12-Bromo-1-Dodecanol und Imidazol im Molverhältnis 1:3 bei 80°C fünf Stunden lang erhitzt. Das Rohprodukt wird zwischen Wasser und Dichlormethan verteilt. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und eingedampft. Das 12-Imidazolyl-1-Dodecanol wird aus Benzol/n-Hexan umkristallisiert.

c) 1-Imidazolyl-dodecan wird aus 1-Bromododecan und Imidazol im Molverhältnis 1:3 unter Rühren und Erhitzen bei 85°C hergestellt. Das Rohprodukt wird in Dichlormethan gelöst und dreimal mit Wasser ausgeschüttelt. Die organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet, filtriert und eingedampft. Der ölige Eindampfungsrückstand wird aus n-Hexan zur Kristallisation gebracht und liefert 1-Imidazolyl-dodecan.

2. Synthese von 12-Imidazolyl-1-Phosphatidylcholin

Phosphatidylcholin wird unter sauren Bedingungen in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid zu einem O-Phosphoryl-thioharnstoff umgesetzt. Dem Reaktionsgemisch wird 12-Imidazolyl-1-Dodecanol hinzugefügt, das nucleophil an der Phosphorylgruppe angreift und mit dieser eine Esterbindung ausbildet, so dass 12-Imidazolyl-1-Phosphatidylcholin gebildet wird. Dabei fällt Dicyclohexylharnstoff aus. Für das Gelingen dieser Reaktion ist als Katalysator 4-Diethylamino-pyridin erforderlich.

Der Reaktionsmechanismus ähnelt dem der Steglich-Veresterung, bei der Dicyclohexylcarbodiimid verwendet wird, um eine organische Säure mit einem Alkohol zu verestern.

3. Synthese von 1-Palmitoyl-2-Imidazolyl-Glycero-3-Phosphatidylcholin

Das Prinzip zur Synthese eines Phosphatidylcholin-Diglycerids, das eine nicht modifizierte Fettsäure sowie eine gelabelte (d.h. in unserem Falle eine ethinylierte oder imidazolierte) Fettsäure trägt, ist von Eibl et al. ("Synthesis of labeled phospholipids in high yield", Methods Enzymol. 1983; 98:623-32) beschrieben.

3a. Synthese von 1,2-Dipalmitoyl-3-Benzyl-Glycerid.

Hierzu wird 1,2-Isopropyliden-sn-Glycerin in p-Xylen aufgelöst und unter Hinzugabe von Kalium-tert-Butylat und Benzylchlorid gerührt. Nach Beendigung der Reaktion werden in gleichen Teilen Wasser sowie Diisopropylether hinzugegeben, und es wird eine Phasentrennung durchgeführt. Das in der oberen Phase enthaltene 3-Benzyl-sn-Glycerin wird durch Verdampfung gewonnen und weiteren Reinigungsschritten unterzogen.

Anschließend wird das gereinigte 3-Benzyl-sn-Glycerin mit einer Fettsäure, z.B. Palmitat, in Tetrachlorkohlenstoff gelöst. Unter Hinzugabe von 4-Diethylaminopyridin und Dicyclohexylcarbodiimid entstehen Esterbindungen zwischen den Alkoholgruppen des 3-Benzyl-sn-Glycerins und den Carboxylgruppen der Fettsäuren, wobei Dicyclohexylharnstoff ausfällt. Dieser Reaktionsmechanismus wird auch als „Steglich-Veresterung“ bezeichnet.

Der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff wird entfernt, und das Lösungsmittel abgedampft. Nach weiteren Reinigungsschritten erhält man als Produkt 1,2-Dipalmitoyl-3-Benzyl-sn-Glycerid.

3b. Synthese von 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid.

1,2-Dipalmitoyl-3-Benzyl-sn-Glycerid wird in Tetrahydrofuran gelöst und in Anwesenheit eines Katalysators (10% Pd/C) mit elementarem Wasserstoff hydrogenolytisch. Dabei wird der Benzylrest durch ein Wasserstoffatom substituiert, und es entsteht 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid.

3c. Phosphorylierung des 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerids

Phosphorylchlorid wird mit in Tetrahydrofuran gelöstem Triethylamin versetzt und im Eis gerührt. Anschließend wird tropfenweise in Tetrahydrofuran gelöstes 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid hinzugegeben. Dabei entsteht zunächst 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryldichlorid.

Anschließend wird erneut in Tetrahydrofuran gelöstes Triethylamin hinzugegeben, tropfenweise in Tetrahydrofuran gelöstes Bromoethanol beigelegt und die Temperatur auf 25 °C erhöht. Dabei entsteht hauptsächlich 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-Bromoethylester-Monochlorid, und nur zu einem geringen Anteil als Nebenprodukt der entsprechende Di-Bromoethylester.

Das Gemisch wird aufgereinigt, gekühlt, mit Natriumcarbonat und Hexan versetzt und geschüttelt. Dabei wird die Bindung zwischen dem Phosphatrest und dem Chlorid hydrolysiert. Es entsteht als Produkt das Natriumsalz des 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-Bromoethylesters.

In ähnlicher Weise werden die Natriumsalze des 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-(N-Butoxycarbonyl)-Ethanolaminesters sowie 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-(N-Butoxycarbonyl)-tert-Butylserinesters dargestellt.

3d. Hydrolysierung des 1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoalkylesters

1,2-Dipalmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-Bromoethylester, oder einer der erwähnten, alternativ dargestellten Phosphoalkylester, wird in einem Gemisch aus Diethylether und destilliertem Wasser, das $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ enthält, gelöst.

Der pH wird durch Hinzugabe von Palitzsch-Puffer auf 7.5 eingestellt. Anschließend wird das Enzym Phospholipase A₂ hinzugefügt und 60 min bei 35° C gerührt. Dabei wird die Esterbindung an Position 2 des Glycerinrests hydrolysiert, und es entsteht der entsprechende 1-Palmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoalkylester, der an Position 2 eine OH-Gruppe trägt, sowie eine freie Fettsäure.

Das erhaltene Molekül kann nun an Position 2 des Glycerinrests gezielt mit einer gelabelten Fettsäure verestert werden, z.B. einer imidazolierten oder ethinylierten Fettsäure. Ebenso kann der Phosphoalkylester an Position 3 mit einem geeigneten Alkohol, z.B. Cholin, Serin, Ethanolamin oder Inositol, umgeestert werden.

3e. Veresterung mit einer gelabelten Fettsäure an Position 2

Der erhaltene 1-Palmitoyl-sn-Glycerid-3-Phosphoalkylester wird in Tetrachlormethan gelöst, es wird eine imidazolierte oder ethinylierte Fettsäure hinzugegeben, und das Gemisch wird gerührt.

Bei der hinzugegebenen Fettsäure kann es sich z.B. um 17-Octadecinsäure handeln, die bei Sigma Aldrich erhältlich ist. Ebenso kann es sich um 12-Imidazolyl-1-Dodecansäure handeln, die wie unter 1. beschrieben synthetisiert werden kann.

Anschließend wird erneut eine „Steglich-Veresterung“ durchgeführt, in dem dem Gemisch 4-Diethylaminopyridin und Dicyclohexylcarbodiimid hinzugegeben wird. Dabei wird eine Esterbindung zwischen der verbliebenen OH-Gruppe am Glycerinrest und der Carboxylgruppe der gelabelten Fettsäure ausgebildet.

Der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff wird entfernt, und das Lösungsmittel abgedampft. Nach weiteren Reinigungsschritten erhält man als Produkt einen 1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphoalkylester.

3f. Umesterung des Phosphoalkylesters an Position 3 des Glycerinrests

1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-Bromoethylester wird in Chloroform gelöst. Anschließend wird 2-Propanol-Trimethylamin hinzugefügt. Das Reaktionsgefäß wird bei 50°C inkubiert, anschließend wird das Lösungsmittel mit Stickstoff verdampft. Das Reaktionsprodukt wird aufgereinigt und auf diese Weise ein gelabeltes 1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphatidylcholin gewonnen.

Um gelabeltes 1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphatidylserin darzustellen, wird der wie oben erwähnt dargestellte gelabelte 1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-(N-Butoxycarbonyl)-Ethanolaminester in CH_2Cl_2 gelöst und Trifluoressigsäure sowie Perchlorsäure hinzugegeben. Anschließend wird in der Kälte gerührt und mit Wasser und Methanol gewaschen. Nach einer Phasentrennung wird die untere Phase mit Na_2CO_3 extrahiert und verdampft. Nach Hinzufügung von Methanol bilden sich Kristalle, bei denen es sich um gelabeltes 1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphatidylethanolamin handelt.

Ähnlich wird verfahren, um gelabeltes 1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphatidylserin darzustellen. Ausgangsmaterial ist in diesem Fall der wie oben erwähnt dargestellte gelabelte 1-Palmitoyl-2-Acyl-sn-Glycerid-3-Phosphoryl-(N-Butoxycarbonyl)-tert-Butylserinester.

Tabellen

In den beigefügten Tabellen sind einige beispielhafte erfindungsgemäße Verbindungen aufgelistet.

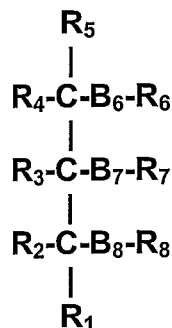
Für den Fachmann ist dabei unmittelbar erkennbar, dass eine Vielzahl von weiteren Verbindungen unter den genannten Ansprüchen subsummierbar sind. So können die aliphatischen Reste geradkettig oder verzweigt sein, Einfach-, Doppel- oder Dreifachbindungen aufweisen und substituiert sein, und ein aliphatisches Rückgrat mit 6 bzw. 9 bis 26 bzw. 19 Kohlenstoffatomen aufweisen. Ebenso lässt sich das Kohlenwasserstoffrückgrat mit alizyklischen und/oder aromatischen Kohlenwasserstoffen formen, wobei hier wegen der Ringstrukturen bis zu 40 Kohlenstoffatome nötig werden können.

Als hydrophile Reste kommen auch andere Alkohole wie Inositol oder Ethanolamin bzw. deren Glyceride in Frage.

* * *

Patentansprüche

1. Verwendung einer Verbindung der Formel



oder pharmazeutisch akzeptable Salze dieser Verbindung,

zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung zur Vorbeugung oder Behandlung von Krebserkrankungen, pathologischer Folgen des Alkoholmissbrauchs, viraler Hepatitis, Steato-Hepatitis, akuter und chronischer Pankreatitis, toxischer Nierenerkrankungen, hepatischer Insulinresistenz bei Diabetes mellitus, Leberschäden bei Morbus Wilson und/oder Siderosen, Ischämie-Reperfusionsschäden, als Antidote gegen Umweltgifte und Medikamentenintoxikation, zur Verlängerung der Verweildauer von Medikamenten im Organismus, und/oder zur Bekämpfung toxischer Nebenwirkungen bei der Verabreichung von Chemotherapeutika, wobei B₆, B₇ und B₈ gleich oder verschieden sind und O, S, NH, PO₄, Se, SO₄ bedeuten und R₁ gleich H oder eine C₆- bzw. C₇- bis C₂₆- bzw. C₂₀-Alkylkette ist, R₂, R₃, R₄ und R₅ gleich oder verschieden sind und ein H oder eine C₁ bis C₃ Alkyl, Alkanol, Alkylamin und/oder Alkylthiol ist, wobei R₂ bis R₅ gleich oder verschieden sein können, R₆, R₇ und R₈ gleich oder verschieden sind und H, ein substituierter oder unsubstituierter C₆ bzw. C₇ bis C₂₆-Alkylrest, ein Glycosidrest, ein positiv oder negativ geladener Aminosäurerest, ein -(CH₂)_n-N⁺(R₉, R₁₀, R₁₁) bedeuten, wobei R₉, R₁₀, R₁₁ H, Methyl-, Ethyl- und/oder Propylrest ist, und wobei mindestens zwei der R₂, R₃, R₄ und R₅

gemeinsam einen Polyolrest bilden können und n eine ganze Zahl von 1 bis 5 bedeutet.

2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass eines der B_6-R_6 , B_7-R_7 und/oder B_8-R_8 ein Phosphorcholinderivat ist.
3. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass n = eine ganze Zahl von 1 bis 3 ist.
4. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass R_1 ein C_{12} bis C_{16} Alkylrest ist.
5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass R_1 ein oder mehrere Doppel- und/oder Dreifachbindungen aufweist.
6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens zwei der Reste R_2 bis R_5 gemeinsam einen Polyolrest bilden.
7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Rest R_1 Lecithin oder Kephalinrest ist.
8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass eines der B_6-R_6 bis B_8-R_8 ein Phosphatidylethanolamin, ein Phosphatidylserin und/oder ein Phosphatidylinositolrest ist.
9. Pharmazeutische Zubereitung, enthaltend eine Verbindung gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche in einem pharmazeutisch verträglichen Träger.

10. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Zubereitung in Liposomen gebunden ist.

* * *

Fig. 1

Aliphatische Gruppe	Häm-bindende Gruppe	Strukturformel	Bezeichnung
Fettsäure	Ethylgruppe $\text{Na}^+ \text{O}^-$		17-Octadecynoic acid
Alkanol	Imidazol		12-Imidazol-1-yl-1-dodecanol
Alkan	Imidazol		1-Imidazol-1-yl-dodecan

Tabelle 1: Beispiele für erfindungsgemäße imidazolisierte bzw. ethinylierte Aliphate

Fig. 2

Aliphat	Häm- bindende Gruppe	Hydrophiler Rest	Strukturformel	Bezeichnung
Alkinol	Ethinyl- gruppe	Phosphati- dylcholin		17- Octadecynyl-1- Phosphatidyl- cholin
Alkanol	Imidazol	Phosphati- dylcholin		12-Imidazolyl- dodecanol-1- Phosphatidyl- cholin
ω-1- Alkynyl- Rest	Ethynyl- gruppe	Sphingosin- kopf (1,3-Dihydro- xy-2-N-Amino- Propylrest)		17-Ethynyl- Sphingosin
Sphin- gosin- Kohlen- wasser- stoff- Rest	Ethynyl- gruppe	1,3-Dihydro- xy-2-N-For- mylamino- Propylrest		17-Ethynyl-N- Formyl- Sphingosin

Tabelle 2: Beispiele für erfindungsgemäße imidazolisierte bzw. ethinylierte Aliphate, die mit einem hydrophilen Rest modifiziert sind

Fig. 3

Aliphatischer Rest	Hydrophiler Rest	Strukturformel
2. 17-Octadecynylsäure	Serinrest	
1. 12-Imidazolyl-1-Dodecansäure 2. 12-Imidazolyl-1-Dodecansäure 3. 12-Imidazolyl-1-Dodecansäure	Glycerinrest	

Tabelle 3: Beispiele für erfindungsgemäße imidazolierte bzw. ethinylierte Glyceride

Fig. 4

Aliphatischer Rest	Hydrophiler Rest	Strukturformel
1. Ethinylierte Fettsäure	Phosphatidylserin-sn-3-Glycerid	
2. Ethinylierte Fettsäure	Phosphatidylserin-sn-3-Glycerid	
1. imidazolierte Fettsäure	Phosphatidylcholin-sn-3-Glycerid	
2. imidazolierte Fettsäure	Phosphatidylcholin-sn-3-Glycerid	
1. Palmitinsäure	Phosphatidylcholin-sn-3-Glycerid	
2. 12-Imidazolyl-1-Dodecan-säure	Phosphatidylcholin-sn-3-Glycerid	

Tabelle 4: Beispiele für erfindungsgemäße imidazolierte bzw. ethinylierte Phosphoglyceride