



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101989900090853
Data Deposito	22/11/1989
Data Pubblicazione	22/05/1991

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	C		
Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

PROCESSO PER LA PREPARAZIONE DI 4-0-FOSFATI DI DOPAMINA O SUOI DERIVATI

DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE INDUSTRIALE AVENTE PER TITOLO:

"Processo per la preparazione di 4-0-fosfati di dopamina o suoi derivati"

a nome: SIMES Società Italiana Medicinali e Sintetici S.p.A.

di nazionalità: italiana

con sede in: Vicenza, via della Chimica, 9

inventori designati: Cesare Casagrande, Francesco Santangelo

depositata il **22 NOV. 1989** col N° **22486A/89**

* * * * *

Riassunto

Viene descritto un processo di preparazione di 4-0-fosfati di dopamina o suoi derivati per trattamento di una miscela di isomeri 3-0-fosfato e 4-0-fosfato con un acido minerale forte ed eventuale esterificazione dell'estere fosforico di dopamina o suoi derivati così ottenuto.

* * * * *

La presente invenzione riguarda un processo di preparazione di monofosfati ed in particolare riguarda un processo di preparazione di 4-0-fosfati di dopamina o di suoi derivati.

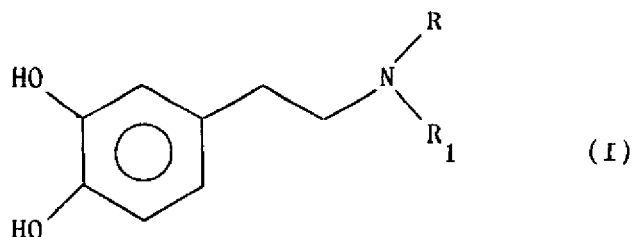
La domanda di brevetto europea N° 0 167 204 (SIMES Società Italiana Medicinali e Sintetici S.p.A.) descrive un metodo per migliorare l'assorbimento e l'efficacia delle catecolammine che consiste nel monofosforilare uno degli ossidrili catecolici.

Tuttavia, i processi di monofosforilazione là descritti richiedono l'utilizzo di intermedi protetti selettivamente sul gruppo

- 2 -

catecolico oppure una separazione per cromatografia o per cristallizzazione delle miscele di 3-O-fosfato e 4-O-fosfato.

Abbiamo ora trovato che le miscele di 3-O-fosfato e 4-O-fosfato di dopamina o di suoi derivati di formula



in cui

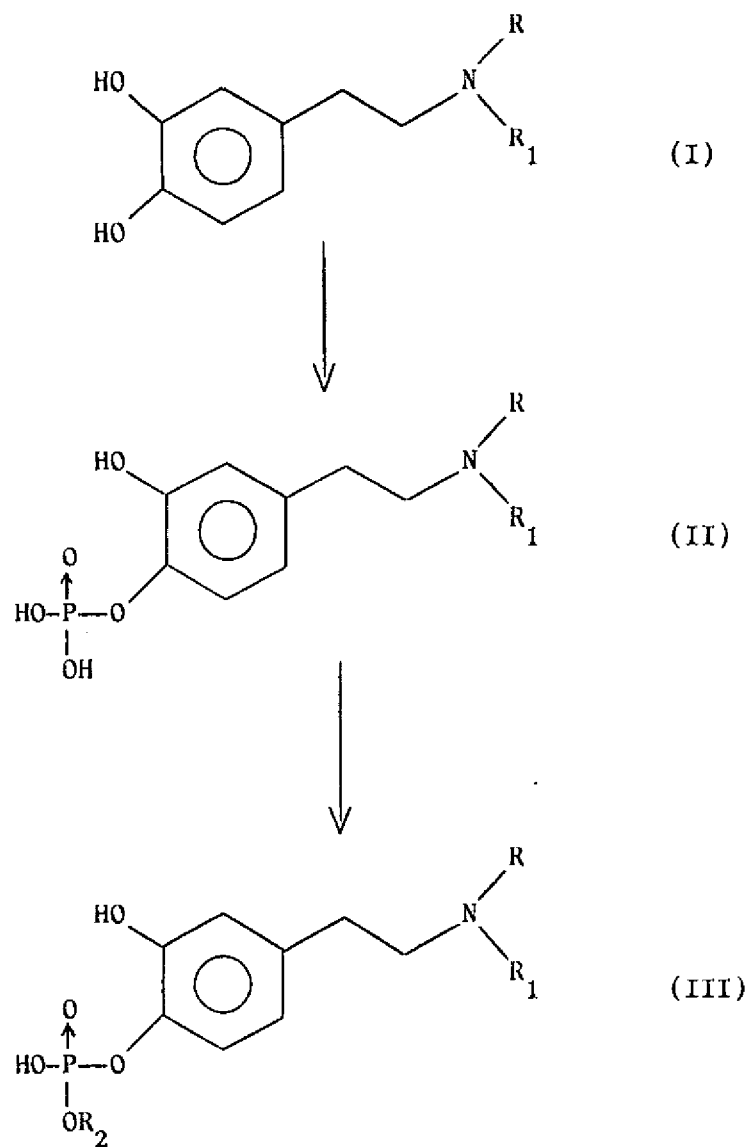
R rappresenta un atomo di idrogeno, un alchile C_1-C_6 , un fenilalchile C_1-C_6 eventualmente sostituito da gruppi alcossi, alchili o da atomi di alogeno oppure un acile di un amminoacido naturale; ed

R_1 rappresenta un atomo d'idrogeno, un alchile C_1-C_6 , o un fenilalchile C_1-C_6 eventualmente sostituito da gruppi alcossi alchili o da atomi di alogeno;

per trattamento con acidi minerali forti vengono convertite nel solo isomero 4-O-fosfato che viene facilmente isolato come unico prodotto dalla miscela di reazione con alte rese ed elevata purezza.

Il processo oggetto della presente invenzione è rappresentato nello schema seguente.

- 3 -

Schema 1

in cui

R ed R₁ hanno i significati già riportati; ed

R₂ rappresenta un fenilalchile avente da 1 a 3 atomi di carbonio nella porzione alchilica o un alchile C₁-C₆ eventualmente sostituiti da ossidrili, gruppi alcossi, acilossi, ammino, carbossi o alcossicarbonile.

I composti di formula II e III sono già stati descritti nella domanda di brevetto europeo sopra citata.

- 4 -

Il derivato dopaminico di formula I viene sottoposto a monofosforilazione secondo tecniche note utilizzando, ad esempio, come agente fosforilante acido ortofosforico e pirofosforico, pentossido di fosforo, acido polifosforico, acido clorofosforico, cloruro e bromuro di fosforile.

La miscela degli isomeri 3-O-fosfato e 4-O-fosfato viene sciolta in un acido minerale forte e si separa per raffreddamento l'isomero 4-O-fosfato di formula II come unico prodotto.

Il composto di formula II così ottenuto viene poi eventualmente esterificato per preparare i diesteri fosforici di formula III.

In alternativa, i composti di formula II o III in cui uno tra R ed R_1 è diverso da idrogeno possono essere preparati dai corrispondenti composti di formula II o III in cui almeno uno tra R ed R_1 rappresenta un atomo di idrogeno per acilazione o alchilazione del gruppo ammino.

La reazione di acilazione può essere condotta per trattamento con amminoacidi naturali opportunamente protetti, a cui fa seguito un'eventuale deprotezione, per ottenere i composti di formula II o III in cui R rappresenta un acile di un amminoacido naturale.

L'alchilazione può avvenire per reazione con alogenuri alchilici o fenilalchilici, oppure con esteri di acidi alchil o aril-solfonici oppure, in alternativa, per condensazione con aldeidi o chetoni e successiva riduzione con idruri oppure per idrogenazione.

- 5 -

Vengono così ottenuti i composti di formula II o III in cui almeno uno tra R e R₁ rappresenta un alchile C₁-C₆ o un fenilalchile C₁-C₆ eventualmente sostituito da gruppi alcossi, alchili o da atomi di alogeno.

Esempi specifici di composti che possono essere preparati secondo il processo della presente invenzione sono:

dopamina 4-O-diidrogenofosfato

N-metildopamina 4-O-etilidrogenofosfato

dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato

N-metildopamina 4-O-diidrogenofosfato

N-metildopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato

N-(L-gamma-glutammil)dopamina 4-O-diidrogenofosfato

N-(L-gamma-glutammil)dopamina 4-O-etilidrogenofosfato

bis[N-(L-gamma-glutammil)dopamina 4-O-etilidrogenofosfato] sale di calcio

N-(L-gamma-glutammil)dopamina 4-O-(3-pivaloilossipropil)idrogenofosfato

bis[N-(L-gamma-glutammil)dopamina 4-O-(3-pivaloilossipropil)idrogenofosfato] sale di calcio

N,N-di-n.propildopamina 4-O-diidrogenofosfato

dopamina 4-O-etilidrogenofosfato

N-etildopamina 4-O-diidrogenofosfato

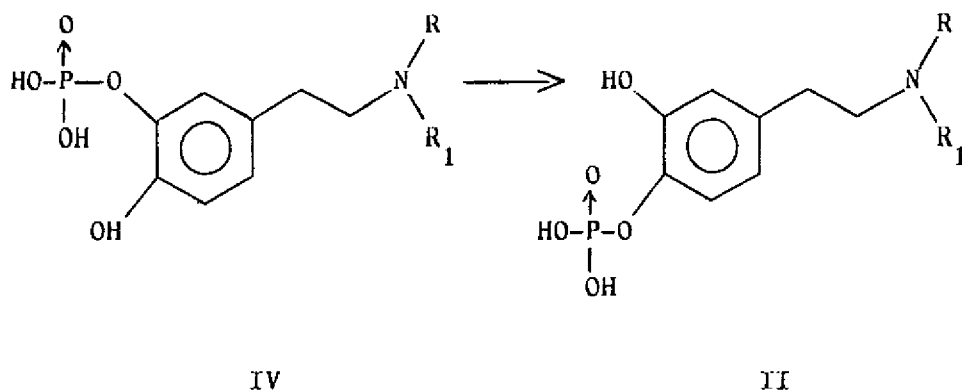
N-etildopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato

dopamina 4-O-(3-pivaloilossipropil)idrogenofosfato

N-glicil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato.

- 6 -

Il trattamento della miscela di prodotti di fosforilazione, ottenuta partendo dal derivato dopaminico di formula I, con un acido minerale forte consiste in una reazione di isomerizzazione rappresentata nello schema seguente.

Schema 2

in cui R ed R₁ hanno i significati già riportati,
ed in una contemporanea cristallizzazione del monofosfato di
formula II sotto forma di sale con l'acido usato.

La reazione di isomerizzazione, che di per sè costituisce un
ulteriore oggetto della presente invenzione, viene effettuata
sciogliendo la miscela di 3-O-fosfato di formula IV e di 4-O-
fosfato di formula II, ottenuta per fosforilazione diretta, in
un acido minerale forte eventualmente in presenza di un solven-
te.

La reazione può essere effettuata anche direttamente nello
stesso ambiente di reazione della fosforilazione dopo decomposi-
zione secondo tecniche usuali dell'eventuale eccesso di agente
fosforilante presente.

Esempi di acidi minerali forti sono acido cloridrico, acido

- 7 -

bromidrico ed acido solforico.

Preferibilmente viene utilizzato acido cloridrico concentrato.

Solventi adatti sono alcoli inferiori quali ad esempio metanolo, eteri quali ad esempio dietilenglicol dimetil etere e diossano, chetoni quali ad esempio acetone o miscele tra acqua e un solvente organico miscibile in acqua.

Per semplice raffreddamento della soluzione acida, generalmente a temperature comprese tra 0° e 10°C, il 4-O-fosfato di formula II si separa poi dal mezzo di reazione come sale dell'acido utilizzato.

E' importante sottolineare come, indipendentemente dal rapporto 3-O-fosfato di formula IV e 4-O-fosfato di formula II nella miscela di partenza, l'isomerizzazione del composto IV è praticamente completa consentendo l'ottenimento dell'isomero 4-O-fosfato con rese molto elevate.

Inoltre il derivato dopaminico I non reagito eventualmente presente nella miscela di fosforilazione si concentra nelle acque di cristallizzazione dalle quali può poi essere facilmente recuperato per essere sottoposto nuovamente a fosforilazione.

Come riportato nello Schema 1, il 4-O-fosfato di formula II può essere esterificato per ottenere i diesteri fosforici di formula III.

La reazione di esterificazione può essere eseguita secondo diverse procedure note.

Abbiamo inoltre trovato e ciò costituisce un ulteriore aspetto

- 8 -

della presente invenzione, che la reazione di esterificazione viene vantaggiosamente eseguita per trattamento di una soluzione di un composto di formula II, in un adatto solvente organico non protico ed in presenza di un tetraalchilammonio idrossido, con un composto di formula



in cui R_2 ha i significati riportati ed X rappresenta un gruppo uscente quale un alogeno, preferibilmente iodio, o un gruppo alchil o arilsolfonilossi, preferibilmente un gruppo metansolfonilossi.

Preferibilmente l'esterificazione viene effettuata utilizzando tetrametilammonio idrossido in un solvente organico non protico scelto tra acetonitrile e toluene.

Per quanto a noi noto la suddetta reazione di esterificazione dei monofosfati non è mai stata descritta nella preparazione dei 4-O-fosfato-diesteri di composti analoghi alle catecolammine.

Vale la pena di evidenziare la selettività dell'esterificazione nella preparazione dei diesteri 4-O-fosfati di catecolammine.

E' importante sottolineare come solo l'utilizzo del tetraalchilammonio idrossido consenta di ottenere il diestere fosforico di formula III con alte rese e soprattutto con elevata selettività e purezza.

Non si osservano infatti al termine della reazione sottoprodotti di isomerizzazione o la formazione di triesteri fosforici.

La suddetta selettività nella reazione di esterificazione è

- 9 -

ancora più sorprendente in considerazione del fatto che effettuando la reazione secondo metodi noti per esempio con alcoli in presenza di N,N-dicicloesilcarbodiimide oppure attivando preventivamente il fosfato come cloruro (ad esempio per trattamento con cloruro di tionile) si ottengono significative quantità di sottoprodotti dovuti ad una indesiderata isomerizzazione.

Anche quando la reazione di esterificazione viene condotta in presenza di basi diverse da tetraetilammonio idrossidi quali idrossidi di metalli alcalini o alcalino-terrosi, carbonati o bicarbonati, si ottiene il diestere fosforico III con basse rese e in miscela con diversi sottoprodotti che ne rendono difficile la purificazione.

Appare chiaro al tecnico del ramo che prima di effettuare la reazione di esterificazione può essere necessario proteggere il gruppo amminico del composto di formula II.

Per la reazione di protezione vengono utilizzati agenti protettori noti in chimica organica quali gli alogenuri di derivati dell'acido carbonico.

Gruppi protettori preferiti sono benzilossicarbonile e t.buto-sicarbonile.

Al termine della reazione di esterificazione l'eventuale gruppo protettore viene poi rimosso secondo tecniche convenzionali ad esempio l'idrogenazione catalitica, per ottenere i composti di formula III.

In alternativa, come già detto, i composti di formula II e III

- 10 -

in cui uno tra R ed R_1 è diverso da idrogeno possono essere preparati dai corrispondenti composti di formula II o III in cui almeno uno tra R ed R_1 rappresenta un atomo di idrogeno.

Anche in questo caso può essere necessario utilizzare opportuni gruppi proteggenti secondo tecniche note all'esperto del ramo.

Allo scopo di meglio illustrare la presente invenzione senza tuttavia limitarla vengono ora forniti i seguenti esempi.

Esempio 1

Preparazione di N-metil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato

Metodo A

In un pallone da 10 litri contenente anidride fosforica (781,5 g; 5,5 moli) viene gocciolato, sotto forte agitazione ed in corrente di azoto, acido fosforico all'85% (392,8 ml; 5,775 moli; $d=1,695$) mantenendo la temperatura intorno a 150°C.

Al termine dell'aggiunta la sospensione viene mantenuta a 150°C fino a dissoluzione completa.

La soluzione limpida densa così ottenuta viene raffreddata a 40°C e quindi viene aggiunta N-metil-dopamina cloridrato (800 g; 3,931 moli).

La miscela viene scaldata a 150°C in 30 minuti, raffreddata a 60°C e diluita velocemente con acqua (2,4 l).

Dopo ulteriori 30 minuti a 80°C, la soluzione viene ulteriormente diluita con acqua fino ad un volume totale di 12 l.

All'analisi HPLC [Colonna scambio anionico, Spherisorb SAX 5

- 11 -

micron (Phase separation), fase mobile $0,02 \text{ M } \text{NM}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ la miscela risulta essere costituita da N-metil-dopamina (11%), N-metil-dopamina 3-O-diidrogenofosfato (29%) ed N-metil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato (31%).

La soluzione è caricata su una colonna di resina fortemente acida a scambio Dowex M 15.

Dopo aver lavato la colonna con acqua (16 l), il prodotto viene eluito con HCl 1N (50 l) che viene raccolto e concentrato a piccolo volume.

Il residuo è ripreso con etanolo assoluto (2 l) ottenendo un primo getto di prodotto (478 g).

Le acque madri vengono evaporate ed il residuo è ripreso con etanolo (0,5 l) ottenendo altri 110 g di composto; ripetendo l'operazione si ottengono ancora 30,5 g.

I tre getti sono riuniti per un totale di 618 g (resa 55,5%) di N-metil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato.

Metodo B

La reazione di fosforilazione è stata ripetuta secondo le modalità descritte per il metodo A partendo da 80 g (0,393 moli) di N-metil-dopamina cloridrato.

La miscela di reazione è diluita direttamente con HCl concentrato (400 ml), mantenendo sotto agitazione per 4 ore e raffreddata a $5-10^\circ\text{C}$ per 48 ore.

Il precipitato separatosi viene filtrato, risospeso in acetone sotto agitazione, filtrato nuovamente ed essiccato sotto vuoto

- 12 -

ottenendo N-metil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato (56,3 g; resa 50%).

Esempio 2

Preparazione di N-metil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato

In un pallone contenente acqua (2,7 l) in atmosfera di azoto, vengono aggiunte contemporaneamente una soluzione di idrossido di sodio al 40% (420 ml) ed N-metil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato (1,196 kg; 4,216 moli), preparata come descritto nell'esempio 1, mantenendo la temperatura compresa tra 15 e 20°C ed il pH della sospensione tra 3 e 5.

Al termine delle aggiunte (pH finale circa 4) e dopo aver mantenuto sotto forte agitazione per altri 30 minuti, la sospensione viene filtrata.

Il solido viene lavato con acqua, con etanolo ed essiccato sotto vuoto ottenendo N-metil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato (1,005 kg; resa 96%).

P.f.=207-209°C

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 2,75 (3H, s); 3,00 (2H, t); 3,47 (2H, t); 6,88 (1H, dd); 6,95 (1H, d); 7,29 (1H, d).

Esempio 3

Preparazione di dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato

Una miscela di dopamina 3-O-diidrogenofosfato e dopamina 4-O-diidrogenofosfato in rapporto 1:1 (123,6 g; 0,530 moli) viene sciolta in HCl concentrato (300 ml) e raffreddata a 5-10°C per 48 ore.

- 13 -

Il precipitato che si separa viene filtrato, sospeso in acetone, mantenuto sotto agitazione per 30 minuti, rifiltrato ed essiccato sotto vuoto.

Si ottiene dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato (56 g).

Ulteriore prodotto (36 g) viene ottenuto evaporando a secco l'acetone e le acque di cristallizzazione, ridisciogliendo il residuo ottenuto in HCl concentrato (200 ml), raffreddando la soluzione e filtrando il solido separatosi per raffreddamento.

In totale si ottengono 92 g di dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato (resa 64%) con p.f. 147-150°C.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 2,90 (2H, t); 3,25 (2H, t); 6,63 (1H, dd); 6,90 (1H, d); 7,22 (1H, dd).

Operando in maniera analoga e variando opportunamente le condizioni di cristallizzazione sono stati ottenuti i seguenti composti.

N-etildopamina-4-O-diidrogenofosfato cloridrato

P.f.=150°C (dec.)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 1,27 (3H, t); 2,94 (2H, t); 3,08 (2H, q); 3,28 (2H, t); 6,82 (1H, dd); 6,90 (1H, d); 7,23 (1H, dd).

N,N-di-n.propildopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato

P.f.=181-186°C (sale interno)

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 0,97 (6H, t); 1,65-1,78 (4H, m); 2,99 (2H, t); 3,11-3,16 (4H, m); 3,48 (2H, m); 6,83 (1H, dd); 6,90 (1H, d).

- 14 -

Esempio 4

Preparazione di N-benzilossicarbonildopamina-4-O-diidrogenofosfato

Ad una miscela di dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato (80 g; 0,295 moli), ottenuta come descritto nell'esempio 3, in NaOH 2N (594 ml; 1,188 moli) si gocciolano contemporaneamente, ad una temperatura compresa tra 5 e 10°C, una soluzione di clorocarbonato di benzile al 50% in toluene (0,297 moli) ed una soluzione di NaOH 2N (163 ml; 0,327 moli).

Dopo 3 ore a 5°C, la miscela di reazione viene acidificata a pH 1,5 con HCl 3N.

Il precipitato viene filtrato, ripreso con etere etilico, triturato e rifiltrato.

Si ottiene N-benzilossicarbonildopamina 4-O-diidrogenofosfato sale sodico (97 g; resa 84%; p.f.=189-191°C) che viene sospeso in acetato d'etile (900 ml).

Alla sospensione viene aggiunto HCl 0,3N (829 ml).

La miscela viene mantenuta sotto agitazione fino a dissoluzione completa quindi la fase organica viene separata.

La fase acquosa viene estratta altre due volte con acetato d'etile. Gli estratti riuniti vengono evaporati a secco sotto vuoto ad una temperatura non superiore ai 30°C.

Il residuo è ripreso con cloruro di metilene ottenendo così N-benzilossicarbonildopamina 4-O-diidrogenofosfato (79 g; resa 86%; p.f.=132-134°C).

- 15 -

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 2,70 (2H, t); 3,36 (2H, t); 5,05 (2H, s); 6,73 (1H, dd); 6,83 (1H, d); 7,16 (1H, dd); 7,30-7,48 (5H, m).

Esempio 5

Preparazione di N-benzilossicarbonildopamina 4-O-etilidrogenofosfato sale d'ammonio

Ad una sospensione di N-benzilossicarbonildopamina 4-O-diidrogenofosfato (40g; 0,109 moli), preparata come descritto nell'esempio 4, in etanolo (400 ml) si aggiunge una soluzione di tetrametilammonio idrossido al 20% in metanolo (0,218 moli).

Dopo dissoluzione completa la soluzione viene evaporata a secco, il residuo viene ripreso con acetonitrile (800 ml) e si aggiunge ioduro d'etile (34 g; 0,218 moli).

Dopo tre ore, il precipitato viene filtrato e la soluzione evaporata a secco sotto vuoto.

Il residuo ottenuto viene ripreso con HCl 0,1N (1,09 l) ed estratto con acetato d'etile.

La fase organica viene lavata con una soluzione satura di NaCl (150 ml), alcalinizzato con ammoniaca (10 ml) ed evaporato a secco.

Il residuo viene ripreso con cloruro di metilene e si ottiene N-benzilossicarbonildopamina 4-O-etilidrogenofosfato sale di ammonio (42 g; resa 93%), come olio puro in cromatografia su strato sottile (eluente $\text{CH}_3\text{COOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{toluene}:\text{acetone}:\text{n.butanol}$ = 1:1:1:1:1, rivelazione vapori di I_2).

- 16 -

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 1,25 (3H, t); 2,72 (2H, t); 3,37 (2H, t); 4,03 (2H, q); 5,06 (2H, s); 6,76 (1H, dd); 6,85 (1H, d); 7,18 (1H, dd); 7,32-7,49 (5H, m).

Operando in maniera analoga è stato ottenuto il seguente composto:

N-benzilossicarbonildopamina 4-O-(3-pivaloilossipropil)idrogeno-fosfato sale d'ammonio

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 1,00 (9H, s); 1,83 (2H, quintetto); 2,61 (2H, t); 3,26 (2H, t); 3,93-4,02 (4H, m); 4,93 (2H, s); 6,58 (1H, dd); 6,78 (1H, d); 7,10 (2H, d); 7,15-7,25 (5H, m).

Esempio 6

Preparazione di dopamina 4-O-etilidrogenofosfato

Una miscela di N-benzilossicarbonildopamina 4-O-etilidrogenofosfato (42 g; 0,101 moli), ottenuta come descritto nell'esempio 5, e palladio al 10% supportato su carbone (10 g) in etanolo al 95% (800 ml) è sottoposta ad idrogenazione.

Cessato l'assorbimento di idrogeno, il catalizzatore viene filtrato e la soluzione è concentrata a circa 80 ml di volume.

Si separa dopamina 4-O-etilidrogenofosfato (16,7 g; resa 63%).

P.f.=180-182°C

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 1,28 (3H, t); 2,95 (2H, t); 3,28 (2H, t); 4,08 (2H, q); 6,84 (1H, dd); 6,93 (1H, d); 7,25 (1H, dd).

Operando in maniera analoga è stato ottenuto il seguente compo-

- 17 -

sto:

Dopamina 4-O-(3-pivaloilossipropil)idrogenofosfato

P.f.=203-205°C

¹H-NMR (300 MHz, D₂O): delta (ppm): 1,12 (9H, s); 1,99 (2H, q); 2,93 (2H, t); 3,27 (2H, t); 4,05-4,12 (4H, m); 6,82 (2H, dd); 6,90 (2H, d); 7,23 (2H, d).

Esempio 7

Preparazione di N-(L-gammaglutammildopamina) 4-O-diidrogenofosfato

Ad una sospensione di dopamina 4-O-diidrogenofosfato cloridrato (161 g; 0,6 moli), preparata come descritto nell'esempio 3, e sodio bicarbonato (151,6 g; 1,8 moli) in acqua (2 l) si aggiungono acido N-benzilossicarbonil-L-glutammico-alfa-benzil-gamma-(N-succinimmido) diestere (309 g; 0,66 moli) ed etanolo assoluto (1 l).

La miscela di reazione è scaldata a 50-55°C e dopo un'ora si ha dissoluzione completa.

Dopo oltre due ore si evapora una parte del solvente (circa 1 l) e quindi la soluzione è lavata con acetato d'etile, acidificata con HCl concentrato ed estratta con acetato d'etile.

Gli estratti organici riuniti sono lavati con una soluzione acquosa di NaCl al 15% (3 x 400 ml), anidrificati su solfato di sodio, filtrati, alcalinizzati con ammoniaca, diluiti con etanolo ed infine evaporati a secco.

Si ottiene un residuo, N-benzilossicarbonil-L-glutammil-gamma-

- 18 -

benzil estere dopamina 4-O-diidrogenofosfato sale d'ammonio, che viene utilizzato per il passaggio successivo senza ulteriori purificazioni.

Il grezzo è sciolto in acqua (1,5 l), la soluzione è diluita con etanolo (1,5 l) e quindi si aggiunge palladio al 10% supportato su carbone (72 g; 50% di H_2O).

La sospensione è sottoposta ad idrogenazione ad una pressione iniziale di 20-25 atmosfere e ad una temperatura di 25-30°C.

Dopo 5 ore, cessato l'assorbimento di idrogeno, il catalizzatore viene filtrato e la soluzione viene evaporata fino ad un volume di 600 ml.

La soluzione così ottenuta viene acidificata con HCl concentrato (75 ml), si aggiunge carbone e si filtra lavando con acqua fino ad un volume totale della soluzione di 850 ml.

Si diluisce ulteriormente la soluzione con etanolo assoluto (1,8 l) e si innesca la cristallizzazione con alcuni cristalli di prodotto (0,5 g).

Il prodotto precipita molto rapidamente e dopo 2 ore viene filtrato, lavato prima con etanolo al 70% (250 ml) e poi con etanolo (500 ml).

Dopo essiccamento a 50°C sotto vuoto per una notte si ottiene N-(L-gamma-glutammildopamina) 4-O-diidrogenofosfato (105 g; resa 58%).

1H -NMR (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 2,08 (2H, q); 2,39 (2H, t); 2,76 (2H, t); 3,39-3,57 (2H, m); 4,79 (1H, t); 6,78 (1H, dd);

- 19 -

6,85 (1H, d); 7,18 (1H, dd).

Operando in maniera analoga sono stati ottenuti i seguenti composti:

bis/ $\bar{N}$ -(L-gamma-glutammildopamina)4-O-etilidrogenofosfato/sale di calcio

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 1,28 (3H, t); 2,01-2,08 (2H, m); 2,32-2,38 (2H, m); 3,76 (2H, t); 3,45 (2H, t); 3,68 (1H, t); 4,06 (2H, q); 6,79 (1H, dd); 6,87 (1H, d); 7,20 (1H, dd).

bis/ $\bar{N}$ -(L-gamma-glutammildopamina) 4-O-(3-pivaloilossipropil)i-drogenofosfato/ sale di calcio

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 1,13 (9H, s); 1,95-2,18 (4H, m); 2,32-2,38 (2H, m); 2,76 (2H, t); 3,45 (2H, t); 3,67-3,72 (2H, m); 4,04-4,15 (4H, m); 6,78 (1H, dd); 6,86 (1H, d); 7,18 (1H, d).

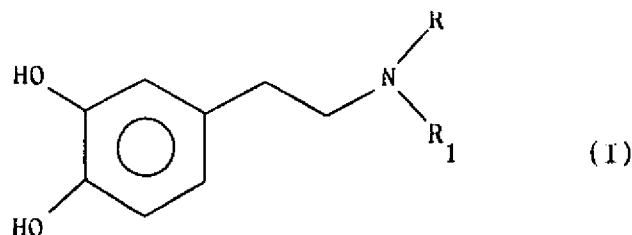
N-glicil-dopamina 4-O-diidrogenofosfato

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, D_2O): delta (ppm): 2,76 (2H, t); 3,48 (2H, t); 3,70 (2H, s); 6,78 (1H, dd); 6,84 (1H, d); 7,17 (1H, dd).

- 20 -

Rivendicazioni

1) Un processo di preparazione di 4-O-fosfati di dopamina o di suoi derivati che comprende la monofosforilazione di un composto di formula

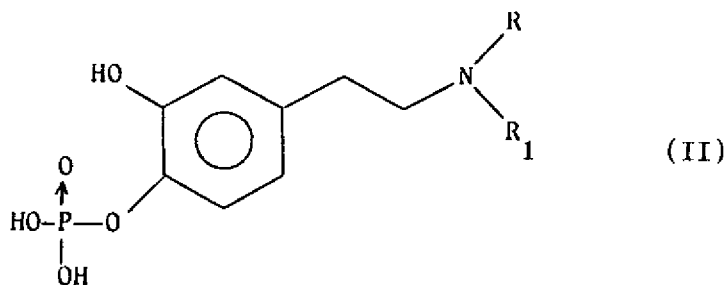


in cui

R rappresenta un atomo di idrogeno, un alchile C_1-C_6 , un fenilalchile C_1-C_6 eventualmente sostituito da gruppi alcossi, alchili o da atomi di alogeno oppure un acile di un amminoacido naturale; ed

R_1 rappresenta un atomo d'idrogeno, un alchile C_1-C_6 , o un fenilalchile C_1-C_6 eventualmente sostituito da gruppi alcossi alchili o da atomi di alogeno;

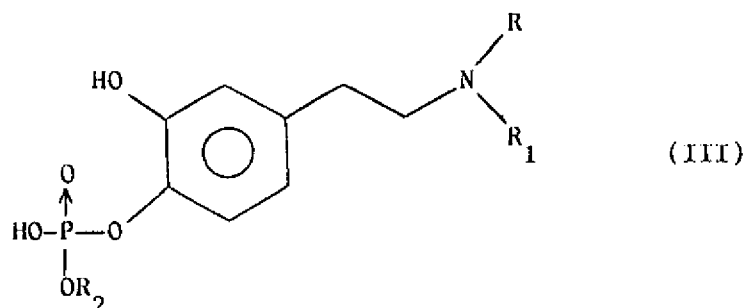
l'isomerizzazione della miscela di 3-O-fosfato e 4-O-fosfato così ottenuta per trattamento con acidi minerali forti per ottenere un composto di formula



in cui R ed R_1 hanno i significati sopra riportati;

- 21 -

ed eventualmente l'esterificazione del composto di formula II per ottenere un composto di formula



in cui R ed R_1 hanno i significati sopra riportati,

ed R_2 rappresenta un fenilalchile avente da 1 a 3 atomi di carbonio nella porzione alchilica o un alchile C_1-C_6 eventualmente sostituiti da ossidrili, gruppi alcossi, acilossi, ammino, carbossi o alcossicarbonile.

2) Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui l'isomerizzazione viene effettuata per trattamento con un acido minerale forte scelto tra acido cloridrico, acido bromidrico ed acido solforico eventualmente in presenza di un solvente.

3) Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui l'esterificazione viene effettuata per trattamento di una soluzione di un composto di formula II, in un adatto solvente organico non protico ed in presenza di un tetraalchilammonio idrossido, con un composto di formula



in cui

R_2 ha i significati riportati nella rivendicazione 1, ed

X rappresenta un gruppo uscente quale un alogeno o un gruppo

- 22 -

alchil o arilsolfonilossi.

4) Un processo secondo la rivendicazione 3 in cui il tetraalchilammonio idrossido è tetrametilammonio idrossido.

Dott. Stefano Panossian

