

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С
ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(10) Номер международной публикации
WO 2012/108786 A2

(43) Дата международной публикации
16 августа 2012 (16.08.2012)

WIPO | РСТ

- (51) Международная патентная классификация:
C07F 9/113 (2006.01)
- (21) Номер международной заявки: PCT/RU2011/001034
- (22) Дата международной подачи:
28 декабря 2011 (28.12.2011)
- (25) Язык подачи: Русский
- (26) Язык публикации: Русский
- (30) Данные о приоритете:
2011103976 04 февраля 2011 (04.02.2011) RU
- (71) Заявитель (для всех указанных государств, кроме US):
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ ГАМАВЕТФАРМ (ООО
ГАМАВЕТФАРМ) (OBSHESTVO S
OGRANICHENNOY OTVETSTVENNOSTYU
GAMAVETFARM (ООО ГАМАВЕТФАРМ))**
[RU/RU]; ул. Гамалеи, 18, Москва, 123098, Moscow
(RU).
- (72) Изобретатель; и
- (75) Изобретатель/Заявитель (только для US):
**ДАНИЛОВ, Леонид Леонидович (DANILOV, Leonid
Leonidovich)** [RU/RU]; ул. Коштыянца, 7-18, Москва,
117454, Moscow (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, 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, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

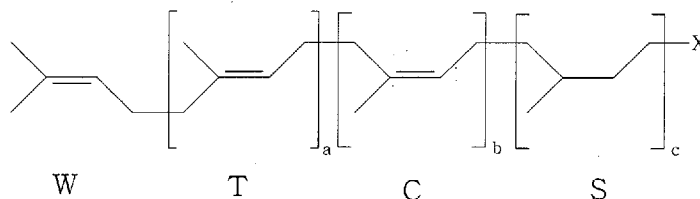
(84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована:

— без отчёта о международном поиске и с повторной публикацией по получении отчёта (правило 48.2(g))

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING POLYPRENYL PHOSPHATES

(54) Название изобретения : СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИПРЕНИЛФОСФАТОВ



(57) Abstract: The invention relates to organic chemistry and can be used in isoprenoid chemistry to achieve the technical result of producing a universal, workable and economical method for producing polyprenyl phosphates. This result is achieved in that in the method for producing polyprenyl phosphates of general structural formula (I), where each isoprene unit contains 5 carbon atoms, W signifies a ω -end isoprene unit, T signifies a trans-isoprene unit, C signifies a cis-isoprene unit, S signifies a 2,3-dihydroisoprene unit, $a = 0-10$, $b = 0-39$, $c = 0-1$, $a + b + c = 4-40$, and X signifies a group of the formula OPO_3MM' , wherein M and M' are identical or different and are a hydrogen cation or a monovalent inorganic or organic cation, or M and M' together are a bivalent inorganic or organic cation, the phosphorylation of the relevant polyprenol or a mixture of oligomer homologues of the given formula, where X signifies a hydroxyl group, using a substituted ammonium salt of phosphoric acid in the presence of a condensing agent is carried out in a medium consisting of a first aprotic organic solvent; and a polyprenyl phosphate in the form of mono- or di-substituted salts thereof with monovalent cations or in the form of salts thereof with bivalent cations is isolated by extraction and precipitation.

(57) Реферат: Изобретение относится к органической химии. Его использование в химии изопреноидов позволяет получить технический результат в виде универсального, технологичного и экономичного способа получения полипренилфосфатов. Этот результат достигается благодаря тому, что в способе получения полипренилфосфатов, имеющих общую структурную формулу (I) где каждое изопреновое звено содержит 5 атомов

[продолжение на следующей странице]



углерода, W означает со-концевое изопреновое звено, Т означает транс-изопреновое звено, С означает цис-изопреновое звено, S означает 2,3-дигидроизопреновое звено, $a = 0-10$, $b = 0-39$, $c = 0-1$, $a + b + c = 4-40$, X означает группу формулы $\text{OPO}_3\text{MM}'$, причём М и М' являются одинаковыми или разными и представляют собой катион водорода или одновалентный неорганический или органический катион, либо М и М' вместе являются двухвалентным неорганическим или органическим катионом, осуществляют реакцию фосфорилирования соответствующего полипренола или смеси олигомергомологов указанной формулы, где Х означает гидроксигруппу, замещённой аммониевой солью фосфорной кислоты в присутствии конденсирующего агента в среде первого апротонного органического растворителя; и выделяют полипренилфосфат экстракцией и осаждением в виде его моно- или дизамещённых солей с одновалентными катионами или солей с двухвалентными катионами.

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИПРЕНИЛФОСФАТОВ

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к органической химии, конкретнее – к химии изопреноидов.

Уровень техники

Полипренилфосфаты представляют собой липидорастворимые витаминоподобные вещества, контролирующие непосредственно или опосредованно многие физиологические процессы у всех живых организмов – от бактерий до человека (см., например, обзор Swiezewska E. and Danikiewicz W. Polyisoprenoids: structure, biosynthesis and function.// Progr. lip. res., 2005, v.44, p. 235-258). С химической точки зрения они являются моноэфирами фосфорной кислоты с линейными длинноцепными изопреноидными спиртами – полипренолами, относящимися к классу изопреноидов. В клетках живых организмов полипренолы и полипренилфосфаты существуют и функционируют в виде семейств олигомергомологов с преобладанием одного или двух соединений, и в таком виде их выделяют из природных объектов. Выделение полипренилфосфатов из природных источников нерентабельно вследствие малого их содержания, сложности и высокой трудоёмкости процесса. Поэтому их получают из полипренолов растений как наиболее доступного возобновляемого сырья путем химического фосфорилирования. Полипренилфосфаты являются незаменимыми коферментами гликозилтрансфераз, осуществляющих биосинтез углеводсодержащих биополимеров клетки; их содержание в биомембранах контролирует интенсивность этого процесса. Синтетические полипренилфосфаты использовались и используются для выяснения *in vitro* механизма действия этих соединений внутри клеток организма, в основном закономерностей взаимодействия с полученными из этих клеток препаратами гликозилтрансфераз (см., например, обзор Danilov L.L. and Druzhinina T.N. Chemical synthesis of dolichyl phosphates, their analogues and derivatives and application of these compounds in biochemical assays.// Acta biochim. polon., 2007, v. 54, № 4, p. 695 – 701).

В последние несколько лет полипренилфосфаты стали применять для идентификации клонированных гликозилтрансфераз, субстратами которых они являются, и раз-

работки модельных *in vitro* биохимических тест-систем, с помощью которых ведутся поиски новых эффективных антибиотиков, ингибирующих эти ферменты и по новому принципу блокирующих рост и размножение патогенных микроорганизмов, выработавших резистентность к существующим лекарственным препаратам (Borman S. Drug design: first glimpses of cell-wall-forming enzyme will aid search for new antibiotics.// Chem. eng. news, 2007, March 12, p.9).

С 80-х годов XX века началось исследование физиологического действия эндогенных (введённых извне) полипренилфосфатов и была показана их физиологическая активность (заявки ЕПВ № 0149847, 1984, и № 0165436, 1985). Тем не менее, вследствие нетехнологичности способов получения до создания лекарственных препаратов на их основе дело не доходило.

В 90-е годы XX века в России было разработано средство для профилактики и лечения инфекционных заболеваний и коррекции патологических состояний живого организма, основными активными ингредиентами которого являются полипренилфосфаты (патент РФ № 2129867, 1999; патент США № 6525035, 2003).

Для успешного производства и реализации подобных препаратов в достаточных количествах большое значение имеет способ получения их активных ингредиентов, который должен быть прост, технологичен и экономичен.

В литературе до 1980 г. было описано несколько методов фосфорилирования полипренолов, неуниверсальных, технически сложных или дающих невысокие выходы (см.: Danilov L.L. and Shibaev V.N. Phosphopolyprenols and their glycosyl esters: chemical synthesis and biochemical application.// In: Studies in natural products chemistry (Atta-ur-Rahman ed., Elsevier, Amsterdam –Oxford – New York - Tokyo), 1991, v.8, p. 63 – 114; Shibaev V.N. and Danilov L.L. Synthesis of intermediates in dolichol pathway of protein glycosylation.// In: Glycopeptides and related compounds: synthesis, analysis and applications (D.C. Large and C.D. Warren eds., Marcel Dekker Inc., New York – Basel – Hong Kong), 1997, p. 427 – 504).

Первый простой и эффективный метод фосфорилирования с помощью POCl_3 (Danilov L.L., Chojnacki T. A simple procedure for preparing dolichyl monophosphates by the use of POCl_3 .// FEBS Lett., 1981, v. 131, p. 310-312), оказался применимым только для получения 2,3-дигидрополипренилфосфатов (долихилфосфатов). С небольшими модификациями на его основе был разработан способ получения фосфатов этого подкласса полипренолов (заявка ЕПВ № 0149847, 1985; патенты США № 4792615, 1986, и № 5306714, 1994).

В 1988 г. был разработан простой универсальный способ получения полипренилфосфатов (в том числе их 2,3-дигидроаналогов) взаимодействием $C_{15} - C_{95}$ - полипренолов с замещёнными аммониевыми солями фосфорной кислоты и трихлорацетонитрилом в среде апротонного органического растворителя при молярном соотношении полипренол : соль фосфорной кислоты : трихлорацетонитрил 1 : (4-10) : (25-50) с последующей последовательной обработкой продукта реакции аммиаком, гидролизом водным раствором 4-диметиламинопиридина или N-метилимидазола и выделением и очисткой целевых соединений методом колоночной анионообменной хроматографии (авторское свидетельство СССР № 1432065, 1988), принятый в качестве ближайшего аналога (см. далее сравнительный пример 16). В результате получали аммониевые соли полипренилфосфатов.

Позже были описаны основанные на этом принципе фосфорилирования сходные методики (с гидролизом и без него) получения полипренилфосфатов и их модифицированных производных (Данилов Л.Л., Мальцев С.Д., Шibaев В.Н. Фосфорилирование полипренолов тетра-н-бутил-аммонийфосфатом в присутствии трихлорацетонитрила. //Биоорган. химия, 1988, т. 14, № 9, с. 1287-1289; Danilov L.L. and Shibaev V.N. Phosphopolyprenols and their glycosyl esters: chemical synthesis and biochemical application.// In: Studies in natural products chemistry (Atta-ur-Rahman ed., Elsevier, Amsterdam – Oxford – New York – Tokyo), 1991, v.8, p. 63-114).

Недавно предложен способ получения полипренилфосфатов, основанный на другом принципе – взаимодействии полипренолов с пиррофосфорной кислотой в присутствии азотистого основания в среде апротонного органического растворителя с последующим основным гидролизом образующегося в процессе реакции симметричного диэфира пиррофосфорной кислоты и очисткой полученных полипренилмонофосфатов методами колоночной хроматографии (заявка на патент Китая № 1709894, 2008), не дающий поэтому особых преимуществ по сравнению с вышеуказанными способом и его модификациями.

Основными недостатками способов в приведённых выше аналогах являются следующие:

- 1) неоптимизированное соотношение реагентов при проведении реакции;
- 2) в ряде случаев – необходимость проведения гидролиза для увеличения выхода требуемого соединения;
- 3) выделение и очистка целевых соединений с помощью колоночной анионообменной хроматографии;

- 4) применение для этих целей дорогостоящих импортных сорбентов, таких как DEAE-целлюлоза DE-52;
- 5) затраты на выделение и очистку большого количества растворителей;
- 6) получение очищенных полипренилфосфатов в виде неустойчивых к хранению и трудно солюбилизируемых в водных средах аммониевых солей (следствие использования ацетата аммония при анионообменной хроматографии в качестве вытесняющей соли).

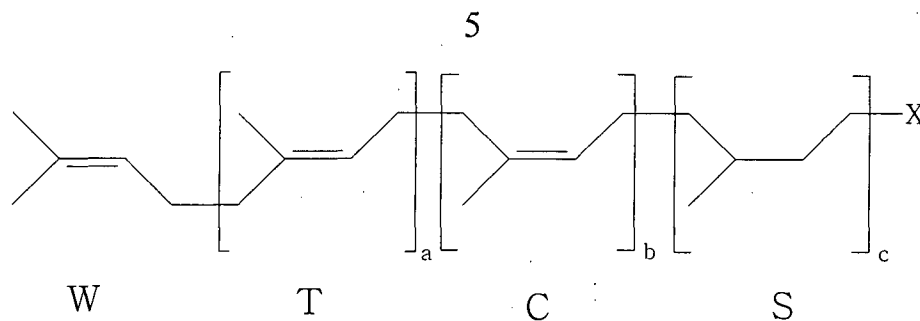
Аммониевые соли полипренилфосфатов, удобные для получения и выделения в лабораторных условиях в миллиграммовых количествах, были использованы и часто используются до настоящего времени для проведения биохимических экспериментов в бесклеточных ферментных системах (Danilov L.L. and Druzhinina T.N. Chemical synthesis of dolichyl phosphates, their analogues and derivatives and application of these compounds in biochemical assays.// Acta biochim. polon., 2007, v. 54, № 4, p. 695-701). Однако они малоприспособлены для производства лекарственных средств в коммерческих масштабах и изучения механизма физиологического и терапевтического действия полипренилфосфатов на клеточном и более высоких уровнях вплоть до организменного, где требуются фармацевтически приемлемые, устойчивые и солюбилизируемые в водных средах соли полипренилфосфатов. Природа катионов и степень замещения ими фосфатной группы может оказывать существенное влияние на физико-химические свойства этих веществ. Кроме того, известно, что различные катионы сами по себе обладают неодинаковым физиологическим действием на организм.

Таким образом, разработка простого, технологичного и экономичного способа получения полипренилфосфатов с широким спектром физиологически приемлемых катионов важна как для создания нового поколения лекарственных препаратов на их основе, так и для усовершенствования методов их биологических испытаний.

Раскрытие изобретения

Задачей изобретения является разработка универсального, технологичного и экономичного способа получения полипренилфосфатов.

Для решения этой задачи и достижения указанного результата в настоящем изобретении предложен способ получения полипренилфосфатов, имеющих общую структурную формулу:



где каждое изопреновое звено содержит 5 атомов углерода, W означает ω -концевое изопреновое звено, T означает транс-изопреновое звено, C означает цис-изопреновое звено, S означает 2,3-дигидроизопреновое звено, $a = 0-10$, $b = 0-39$, $c = 0-1$, $a + b + c = 4-40$, X означает группу формулы $\text{OPO}_3\text{MM}'$, причём M и M' являются одинаковыми или разными и представляют собой катион водорода или одновалентный неорганический или органический катион, либо M и M' вместе являются двухвалентным неорганическим или органическим катионом. Заявленный способ заключается в том, что: осуществляют реакцию фосфорилирования соответствующего полипrenoла или смеси олигомергомологов указанной формулы, где X означает гидроксигруппу, замещённой аммониевой солью фосфорной кислоты в присутствии конденсирующего агента в среде первого апротонного органического растворителя и выделяют полипребенилфосфат экстракцией и осаждением в виде его моно- или дизамещённых солей с одновалентными катионами или солей с двухвалентными катионами.

Особенность способа по настоящему изобретению состоит в том, что молекулы полипrenoла могут содержать не менее 5 изопреновых звеньев (не менее 25 атомов углерода), предпочтительно от 6 до 20 изопреновых звеньев (от 30 до 100 атомов углерода).

Ещё одна особенность способа по настоящему изобретению состоит в том, что в качестве замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты можно использовать либо дигидрофосфаты, выбранные из группы, состоящей из дигидрофосфата диизопропилэтиламмония, дигидрофосфата тетраметиламмония, дигидрофосфата тетраэтиламмония, дигидрофосфата тетрабутиламмония и дигидрофосфата цетилтриметиламмония, либо гидрофосфат бис(диизопропилэтиламмония). Предпочтительно в качестве замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты используют дигидрофосфат тетрабутиламмония.

Ещё одна особенность способа по настоящему изобретению состоит в том, что в качестве конденсирующего агента можно использовать трихлорацетонитрил или дигексилькарбодиимид. Предпочтительно в качестве конденсирующего агента используют трихлорацетонитрил. При этом молярное отношение реагентов может быть

выбрано так, что на 1 моль-экв. полипренола приходится от 0,1 до 10 моль-экв. замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты и от 0,1 до 10 моль-экв. трихлорацетонитрила. Предпочтительно, это молярное соотношение полипренола, замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты и трихлорацетонитрила близко к 1:1:1.

Ещё одна особенность способа по настоящему изобретению состоит в том, что в качестве первого апротонного органического растворителя можно использовать растворитель из группы, состоящей из бензола, толуола, хлористого метилена, хлороформа, диметилформамида, или смеси одного из этих растворителей с ацетонитрилом.

Особенность способа по настоящему изобретению состоит также в том, что полипренилфосфат можно выделять в виде его дизамещённой соли с одновалентным катионом в ходе выполнения этапов, на которых: отгоняют первый апротонный органический растворитель из реакционной смеси или её части; удаляют водорастворимые примеси из полученного в результате упомянутой отгонки остатка путём экстракции в системе первый органический растворитель - вода; отгоняют органическую фазу; осаждают неочищенную дизамещённую соль полипренилфосфата обработкой раствором соли одновалентного металла и гидроксида этого одновалентного металла в спирте; последовательно экстрагируют нефосфорилированные соединения спиртом и вторым апротонным органическим растворителем, в котором не растворяется соль полипренилфосфата; и получают дизамещённую соль полипренилфосфата со степенью чистоты не ниже 95 % масс.

При этом в качестве первого органического растворителя в системе органический растворитель - вода можно применять вещество, выбранное из группы, состоящей из петролейного эфира, бензола, толуола, хлороформа, хлористого метилена, бутанола, изоамилового спирта или их смеси; в качестве спирта при экстрагировании можно применять вещество, выбранное из группы, состоящей из метанола, этанола, пропанола, изопропанола и их смеси; для осаждения можно применять раствор, содержащий от 1 до 10 % масс. соединения, выбранного из группы, состоящей из формиата, ацетата, хлорида, бромида или йодида лития, натрия или калия в спирте, и содержащий от 0 до 10 % масс. гидроксида соответствующего металла; в качестве второго апротонного органического растворителя можно применять соединение, выбранное из группы, состоящей из ацетонитрила, ацетона и их смеси.

Ещё одна особенность способа по настоящему изобретению состоит также в том, что полипренилфосфат можно выделять в виде его монозамещённой соли с одновалентным катионом или соли с двухвалентным катионом в ходе выполнения этапов, на

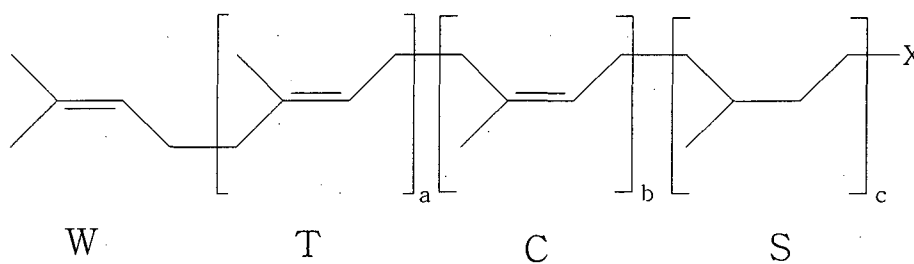
которых: отгоняют первый апротонный органический растворитель из реакционной смеси или её части; удаляют водорастворимые примеси из полученного в результате отгонки остатка обработкой его раствора во втором органическом растворителе водным раствором соли аммония, одно- или двухвалентного металла или органического основания с сильной кислотой с последующей отгонкой второго органического растворителя и удалением водной фазы; экстрагируют нефосфорилированные примеси растворением полученного воскообразного остатка в третьем органическом растворителе и прибавлением второго апротонного органического растворителя, в котором нерастворима соль полипренилфосфата, с последующей отгонкой третьего органического растворителя и одновременным осаждением целевого продукта; удаляют надосадочную жидкость; и получают монозамещённую соль полипренилфосфата или его соль с двухвалентным катионом со степенью чистоты не ниже 95% масс.

При этом в качестве второго органического растворителя можно применять соединение, выбранное из группы, состоящей из спирта или его смеси с четырёххлористым углеродом, пентаном, гексаном, хлористым метиленом, хлороформом или диэтиловым эфиром; спирт можно выбрать из группы, состоящей из метанола, этанола, пропанола или изопропанола; в качестве водного раствора соли применяют водный раствор с концентрацией от 0,5 до 10 % масс. соединения, выбранного из группы, состоящей из нитрата, бромиды, хлорида, сульфата или гидросульфата лития, натрия, калия, аммония, гидроксиэтиламмония, гидроксиэтилдиметиламмония, холина, триэтиламмония или триэтанолламмония в качестве одновалентного катиона, а также кальция, магния, марганца или цинка в качестве двухвалентного катиона; в качестве третьего органического растворителя можно применять низкокипящее соединение, выбранное из группы, состоящей из диэтилового эфира, хлористого метилена, пентана, гексана и их смеси; а в качестве второго апротонного органического растворителя можно применять соединение, выбранное из группы, состоящей из ацетонитрила, ацетона или их смеси.

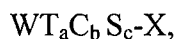
Подробное описание предпочтительных вариантов осуществления

Изобретение, как уже отмечено, относится к способу получения полипренилфосфатов (сложных эфиров фосфорной кислоты и полипренолов) из соответствующих полипренолов. Полипренолами называются линейные изопреноидные спирты, содержащие не менее 5 изопреновых звеньев, соединённых по принципу «голова к хвосту», и содержащие гидроксигруппу, как правило, при атоме углерода C1. Полипренолы,

включая 2,3-дигидропроизводные, и получаемые из них соответствующие фосфаты, могут быть выражены следующей общей формулой:



которая в сокращённой записи согласно рекомендациям IUPAC – IUB (IUPAC – IUB joint comission on biochemical nomenclature, Prenol nomenclature recommendations.// Eur. J. Biochem., v.167, 1987, p. 181 – 184.) может быть представлена как



где каждое изопреновое звено содержит 5 атомов углерода, W означает ω-концевое изопреновое звено, T означает транс-изопреновое звено, C означает цис-изопреновое звено, S означает 2,3-дигидроизопреновое звено, $a = 0-10$, $b = 0-39$, $c = 0-1$, $a + b + c = 4-40$; для полипренолов X означает OH, для полипренилфосфатов X означает OPO_3MM' , причём M и M' являются одинаковыми или разными и представляют собой катион водорода или одновалентный неорганический или органический катион, либо M и M' вместе являются двухвалентным неорганическим или органическим катионом.

Природные источники в основном содержат смеси олигомергомологов полипренолов и соответствующих полипренилфосфатов, содержащие от 30 до 100 атомов углерода (от 6 до 20 изопреновых звеньев). Индивидуальные полипренолы могут быть выделены из природных смесей олигомергомологов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) на обращённой фазе и фосфорилированы с той же эффективностью. Поскольку все живые организмы, включая человека, продуцируют смеси олигомергомологов, а индивидуальные полипренилфосфаты обладают биологической активностью, сходной с природной смесью, содержащей в среднем то же количество изопреновых звеньев, но их стоимость гораздо выше, для производства лекарственных препаратов применение индивидуальных полипренилфосфатов сомнительно. Химический синтез полипренолов многостадийен, трудоемок и дорог. Поэтому в настоящем изобретении в качестве примеров исходных полипренолов, в основном называемых по источнику выделения, выбраны – но без ограничения ими – следующие (цифры, набранные далее жирным шрифтом, указывают номера нижеследующих примеров):

а) пинопренол **1** (сумма полипренолов, выделенных из древесной зелени хвойных пород, в частности сосны (род *Pinus*) или пихты (род *Abies*), $WT_2C_{10-16}-OH$, обозначаемый как C_{65-95} -полипренол, содержащий в среднем около 16 изопреновых звеньев);

б) 2,3-дигидропинопренол **2** ($WT_2C_{9-15}S-OH$, обозначаемый как C_{65-95} 2,3-дигидрополипренол, который может быть получен избирательным восстановлением α -изопренового звена пинопренола **1**);

в) морапренол **3** (сумма полипренолов, выделенных из листьев деревьев, в частности шелковицы (род *Morus*), $WT_3C_{5-9}-OH$, обозначаемый как C_{45-65} -полипренол, содержащий в среднем около 11 изопреновых звеньев);

г) бетулапренол **4** (сумма полипренолов, выделенных из древесины, в частности березы (род *Betula*), $WT_2C_{3-6}-OH$, обозначаемый как C_{30-45} -полипренол, содержащий в среднем около 7 изопреновых звеньев).

В качестве примеров получаемых полипренилфосфатов (в виде моно- или дивалентных солей с одновалентными катионами или солей с двухвалентными катионами) выбраны – но без ограничения ими – следующие:

д) динатриевая соль пинопренилфосфата **5** ($WT_2C_{10-16}-OPO_3^{2-}2Na^+$);

е) динатриевая соль морапренилфосфата **6** ($WT_3C_{5-9}-OPO_3^{2-}2Na^+$);

ж) моновалентная соль пинопренилфосфата **7**

($WT_2C_{10-16}-OPO_3H^-Na^+$);

з) моноаммониевая соль пинопренилфосфата **8**

($WT_2C_{10-16}-OPO_3H^-NH_4^+$);

и) моно(диметилгидроксиэтил)аммониевая соль пинопренилфосфата **9** ($WT_2C_{10-16}-OPO_3H^- (CH_3)_2NH^+CH_2CH_2OH$);

к) моновалентная соль 2,3-дигидропинопренилфосфата **10**

($WT_2C_{9-15}S-OPO_3H^-Na^+$);

л) моновалентная соль морапренилфосфата **11** ($WT_3C_{5-9}-OPO_3H^-Na^+$);

м) моноаммониевая соль морапренилфосфата **12**

($WT_3C_{5-9}-OPO_3H^-NH_4^+$);

н) магниевая соль морапренилфосфата **13** ($WT_3C_{5-9}-OPO_3^{2-}Mg^{2+}$);

о) моновалентная соль бетулапренилфосфата **14**

($WT_2C_{3-6}-OPO_3H^-Na^+$);

п) моноаммониевая соль бетулапренилфосфата **15**

($WT_2C_{3-6}-OPO_3H^-NH_4^+$).

Способ по настоящему изобретению осуществляют следующим образом.

Сначала исходные полипренолы фосфорилируют замещённой аммониевой солью фосфорной кислоты и трихлорацетонитрилом, играющим роль конденсирующего агента, в среде первого апротонного органического растворителя.

В качестве замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты могут быть применены дигидрофосфаты диизопропилэтиламмония, тетраметиламмония, тетраэтиламмония, тетрабутиламмония или цетилтриметиламмония, а также гидрофосфат бис(диизопропилэтиламмония), предпочтительно дигидрофосфат тетрабутиламмония.

Конденсирующим агентом может быть, помимо трихлорацетонитрила, дициклогексилкарбодиимид. Молярное отношение полипренола, замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты и трихлорацетонитрила может находиться в пределах 1 : (0,1-10) : (0,1-10), предпочтительно около 1 : 1 : 1.

В качестве первого апротонного органического растворителя для проведения фосфорилирования могут быть применены бензол, толуол, хлористый метилен, хлороформ, диметилформамид или смесь одного из этих растворителей с ацетонитрилом. Реакцию можно проводить при температуре 0 – 70 °С в течение 0,5 – 72 ч.

Указанное выделение полипренилфосфата в виде его дизамещённой соли с одновалентным катионом осуществляют в ходе выполнения следующих этапов.

Реакционную смесь, полученную в реакции фосфорилирования, или её часть упаривают досуха и освобождают от водорастворимых примесей жидкостной экстракцией (2-7 раз) в системе первый органический растворитель - вода. В качестве первого органического растворителя для проведения экстракции водорастворимых примесей могут быть применены петролейный эфир, бензол, толуол, хлороформ, хлористый метилен, бутанол, изоамиловый спирт или их смесь.

Далее, органическую фазу упаривают, остаток растворяют в спирте и обрабатывают раствором избытка соли одновалентного металла в спирте, возможно содержащим гидроксид этого металла. При этом осаждается неочищенная дизамещённая соль полипренилфосфата. По достижении полноты осаждения прозрачную надосадочную жидкость удаляют и повторяют указанную операцию. Остаток экстрагируют спиртом 2-7 раз для удаления соли и гидроксида металла и 1-5 раз вторым апротонным растворителем для удаления нефосфорилированных соединений.

В качестве спирта могут быть применены метанол, этанол, пропанол, изопропанол или их смесь.

В качестве осадителя может быть применён 1-10% масс. раствор формиата, ацетата, хлорида, бромида или йодида лития, натрия или калия в спирте, содержащий от 0 до 10 % масс. гидроксида этого металла.

В качестве второго апротонного растворителя может быть применён ацетонитрил, ацетон или их смесь.

Воскообразный остаток высушивают в вакууме при температуре 20-100 °С и получают дизамещённую соль полипренилфосфата со степенью чистоты не менее 95 % масс.

Указанное выделение полипренилфосфата в виде его монозамещённой соли с одновалентным катионом или соли с двухвалентным катионом осуществляют в ходе выполнения следующих этапов.

Реакционную смесь, полученную в реакции фосфорилирования, или её часть упаривают досуха, остаток растворяют во втором органическом растворителе и прибавляют избыток водного раствора соли аммония, одно- или двухвалентного металла или органического основания с сильной кислотой. В качестве второго органического растворителя может быть применён спирт или его смесь с четырёххлористым углеродом, пентаном, гексаном, хлористым метиленом, хлороформом или диэтиловым эфиром. В качестве спирта может быть применён метанол, этанол, пропанол, изопропанол или их смесь. В качестве раствора соли может быть применён 0,5-10% масс. водный раствор нитрата, хлорида, бромида, йодида, сульфата или гидросульфата лития, натрия, калия, аммония, гидроксиэтиламмония, гидроксиэтилдиметиламмония, холина, триэтиламмония, триэтанолламмония в качестве одновалентного катиона или кальция, магния, марганца или цинка в качестве двухвалентного катиона.

Далее, второй органический растворитель отгоняют, водную фазу отделяют от воскообразного продукта. Полученный продукт вновь растворяют во втором органическом растворителе и прибавляют избыток водного раствора вышеуказанной соли.

Затем второй органический растворитель отгоняют, водную фазу отделяют от воскообразного продукта. Операцию повторяют 2-5 раз и получают неочищенный воскообразный полипренилфосфат в виде соответствующей монозамещённой соли или соли двухвалентного металла. Этот воскообразный продукт растворяют в третьем органическом растворителе, прибавляют избыток второго апротонного органического растворителя и отгоняют третий органический растворитель. В качестве третьего органического растворителя может быть применено низкокипящее вещество, например диэтиловый эфир, хлористый метилен, пентан, гексан или их смесь, а в качестве второго

апротонного органического растворителя может быть применён ацетонитрил, ацетон или их смесь.

Прозрачный надосадочный экстракт, содержащий нефосфорилированные примеси, удаляют и операцию повторяют 1-3 раза. Остаток высушивают в вакууме при температуре 20-100 °С и получают воскообразную соль полипренилфосфата со степенью чистоты не менее 95 % масс.

Осуществимость способа по настоящему изобретению показана далее в примерах.

Пример 1. Фосфорилирование пинопренола (1)

150 г (136 ммоль) пинопренола (1) и 60 г (177 ммоль) дигидрофосфата тетра-н-бутиламмония растворяют в 700 мл хлористого метилена, прибавляют 17 мл (170 ммоль) трихлорацетонитрила, доводят хлористым метиленом объём реакционной смеси до 1 л, перемешивают и выдерживают 18 ч. при комнатной температуре.

Пример 2. Фосфорилирование 2,3-дигидропинопренола (2)

0,110 г (0,1 ммоль) 2,3-дигидропинопренола (2) и 0,037 г (0,11 ммоль) дигидрофосфата тетра-н-бутиламмония растворяют в 0,8 мл хлористого метилена, прибавляют 0,011 мл (0,11 ммоль) трихлорацетонитрила, доводят хлористым метиленом объём реакционной смеси до 1 мл, перемешивают и выдерживают 20 ч. при комнатной температуре.

Пример 3. Фосфорилирование морапренола (3)

150 г (196 ммоль) морапренола (3) и 85 г (254 ммоль) дигидрофосфата тетра-н-бутиламмония растворяют в 1,1 л хлористого метилена, прибавляют 23,5 мл (235 ммоль) трихлорацетонитрила, доводят хлористым метиленом объём реакционной смеси до 1,5 л, перемешивают и оставляют на 24 ч. при комнатной температуре.

Пример 4. Фосфорилирование бетулапренола (4)

5,31 г (10,6 ммоль) бетулапренола (4) и 4,0 г (12 ммоль) дигидрофосфата тетра-н-бутиламмония растворяют в 40 мл хлористого метилена, прибавляют 1,4 мл (14 ммоль) трихлорацетонитрила, доводят хлористым метиленом объём реакционной смеси до 60 мл, перемешивают и выдерживают 25 ч. при комнатной температуре.

Пример 5. Получение динатриевой соли пинопренилфосфата (5)

Реакционную смесь, полученную в примере 1, упаривают досуха в вакууме, остаток растворяют в 800 мл н-бутанола и экстрагируют 200 мл дистиллированной воды (4 раза). Органическую фазу упаривают досуха в вакууме, остаток растворяют в 300 мл этанола, прибавляют при перемешивании раствор 38 г ацетата натрия и 5 г гидроксида натрия в 1 л этанола и выдерживают при 4 °С до полного осветления надосадочной жидкости. Супернатант (т.е. надосадочную жидкость) удаляют, к остатку прибавляют 400 мл этанола, перемешивают при 60 °С в течение 1 ч., прибавляют при перемешивании 500 мл вышеуказанного раствора ацетата натрия и гидроксида натрия в этаноле и вновь выдерживают при 4 °С до полного осветления надосадочной жидкости. После удаления надосадочной жидкости экстрагируют остаток 400 мл этанола при 60 °С и перемешивании в течение 1 ч. с последующим охлаждением при 4 °С и удалением надосадочной жидкости. Процедуру повторяют 2 раза. Остаточный этанол отгоняют в вакууме и остаток экстрагируют 4 раза по 500 мл ацетона 2 ч. при 60 °С и перемешивании, сливая надосадочную жидкость после охлаждения до комнатной температуры и полного формирования осадка. Воскообразный остаток высушивают в вакууме при 60 °С в течение 2 ч. и получают 144 г (117 ммоль) динатриевой соли пинопренилфосфата (5) с выходом 86 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,30 (1H, t, J 7,0 Гц, $\text{HC}=\text{C}$), 5,05 (15H, м, $\text{CH}=\text{C}$), 4,30 (2H, уш.дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O-}$), 1,95 (60H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,68 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-C}=\text{C}$), 1,60 (39H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$, Z-звено и W_Z-звено), 1,51 (9H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$, E-звено и W_E-звено). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,4, с.

Пример 6. Получение динатриевой соли морапренилфосфата (6)

Реакционную смесь, полученную в примере 3, упаривают досуха в вакууме, остаток растворяют в 1,2 л н-бутанола и экстрагируют 300 мл дистиллированной воды (4 раза). Органическую фазу упаривают досуха в вакууме, остаток растворяют в 400 мл этанола, прибавляют при перемешивании раствор 55 г ацетата натрия и 7 г гидроксида натрия в 1,5 л этанола и выдерживают при 4 °С до полного осветления надосадочной жидкости. Надосадочную жидкость удаляют, к остатку прибавляют 550 мл этанола, перемешивают при 60 °С в течение 1 ч., прибавляют при перемешивании 700 мл вышеуказанного раствора ацетата натрия и гидроксида натрия в этаноле и вновь выдерживают при 4 °С до полного осветления надосадочной жидкости. После ее удаления экстрагируют остаток 550 мл этанола при 60 °С и перемешивании в течение 1 ч. с последующим охлаждением при 4 °С и удалением надосадочной жидкости. Процедуру по-

вторяют 2 раза. Остаточный этанол отгоняют в вакууме, и остаток экстрагируют 4 раза по 700 мл ацетона 2 ч. при 60 °С и перемешивании, сливая надосадочную жидкость после охлаждения до комнатной температуры и полного формирования осадка. Воскообразный остаток высушивают в вакууме при 60 °С в течение 2 ч и получают 143 г (161 ммоль) динатриевой соли морапренилфосфата (6) с выходом 82 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,30 (1H, t, J 7,0 Гц, $\text{HC}2=$), 5,05 (10H, м, $\text{CH}=\text{}$), 4,30 (2H, уш.дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O}-$), 1,95 (40 H, м, CH_2-), 1,68 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-C}3=$), 1,60 (21H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, Z-звено и W_Z -звено), (12H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, E-звено и W_E -звено). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,1, с.

Пример 7. Получение моонатриевой соли пинопренилфосфата (7)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 1, отбирают 147 мл, содержавшие исходно 22 г (20 ммоль) пинопренола (1), и упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 200 мл этанола, прибавляют 200 мл 5 %-ного водного раствора NaCl, перемешивают и отгоняют этанол в вакууме. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 100 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 200 мл этанола и 200 мл 5 %-ного водного раствора NaCl и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Операцию повторяют ещё 2 раза. Остаток ополаскивают 20 мл дистиллированной воды и 20 мл этанола, растворяют в 50 мл хлористого метилена, прибавляют 250 мл ацетона, перемешивают и отгоняют хлористый метилен. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют. Остаток растворяют в 50 мл хлористого метилена и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещество высушивают в вакууме при 50-60 °С и получают 21 г (17 ммоль) моонатриевой соли пинопренилфосфата (6); выход 85 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,30 (1H, t, J 7,0 Гц, $\text{HC}2=$), 5,05 (15H, м, $\text{CH}=\text{}$), 4,30 (2H, уш.дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O}-$), 1,95 (60H, м, CH_2-), 1,68 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-C}3=$), 1,60 (39H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, Z-звено и W_Z -звено), 1,51 (9H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, E-звено и W_E -звено). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 4,3, с.

Пример 8. Получение моноаммониевой соли пинопренилфосфата (8)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 1, отбирают 5,8 мл, содержавшие исходно 0,90 г (0,80 ммоль) пинопренола (1), и упаривают досуха в ва-

кууме. Остаток растворяют в 10 мл хлористого метилена и 20 мл метанола, прибавляют 20 мл 5 %-ного водного раствора NH_4Cl , перемешивают, и органические растворители отгоняют в вакууме. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 10 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 20 мл метанола и 20 мл 5 %-ного водного раствора NH_4Cl и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Операцию повторяют ещё 2 раза. Остаток ополаскивают 3 мл дистиллированной воды и 3 мл метанола, растворяют в 5 мл пентана, прибавляют 25 мл ацетона, перемешивают и отгоняют пентан. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют. Остаток растворяют в 5 мл пентана и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещество высушивают в вакууме и получают 0,88 г (0,72 ммоль) моноаммониевой соли пинопренилфосфата (7); выход 90 %.

Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3 - CD_3OD , 5:1); δ , м.д.: 5,30 (1H, t, J 7,0 Гц, $\text{HC}2=$), 5,05 (15H, м, $\text{CH}=\text{}$), 4,30 (2H, дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O}-$), 1,95 (60H, м, CH_2-), 1,68 (3H, с, $\text{CH}_3-\text{C}3=$), 1,60 (39H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, Z-звено и W_Z -звено), 1,51 (9H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, E-звено и W_E -звено). Спектр ^{31}P -ЯМР (CDCl_3 - CD_3OD , 5:1); δ , м.д.: 1,8 (0,96 P, с, пинопренилфосфат), -6,1 (0,02P, уш.д., P_α , пинопренилдифосфат), -7,9 (0,02P, уш.д., P_β , пинопренилдифосфат).

Пример 9. Получение моно(диметилгидроксиэтил)аммониевой соли пинопренилфосфата (9)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 1, отбирают 1,47 мл, содержавшие исходно 0,22 г (0,20 ммоль) пинопренола (1), и упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 3,0 мл этанола, прибавляют 4,0 мл 2,5 %-ного водного раствора хлористого диметилгидроксиэтиламмония, перемешивают и этанол отгоняют в вакууме. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 2,0 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 3,0 мл этанола и 4,0 мл 2,5 %-ного водного раствора хлористого диметилгидроксиэтиламмония и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Остаток ополаскивают 2 мл дистиллированной воды и 2 мл этанола, растворяют в 1,0 мл диэтилового эфира, прибавляют 10 мл ацетона, перемешивают и отгоняют эфир. По достижении прозрачности надосадочной жид-

кости её удаляют. Остаток растворяют в 1,0 мл эфира и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещество высушивают в вакууме при 50-60 °С и получают 0,23 г (0,18ммоль) моно(диметилгидроксиэтил)аммониевой соли пинопренилфосфата (9); выход 90 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,29 (1H, t, J 7,0 Гц, $\text{HC}=\text{C}$), 5,04 (15H, м, $\text{CH}=\text{C}$), 4,32 (2H, дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O-}$), 3,90 (6H, с, $\text{CH}_3\text{N-}$), 3,25 (2H, м, $\text{CH}_2\text{N-}$), 1,92 (60 H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,68 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-C}=\text{C}$), 1,60 (39H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$, Z-звено и W_Z -звено), 1,51 (9H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$, E-звено и W_E -звено). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 1,5 (0,95P, с, пинопренилфосфат), -8,6 (0,025P, уш.д., P_α , пинопренилдифосфат), -9,4 (0,025P, уш.д., P_β , пинопренилдифосфат).

Пример 10. Получение моноватриевой соли 2,3- дигидропинопренилфосфата (10)

Реакционную смесь, полученную в примере 2, упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 1 мл изопропанола, прибавляют 5 мл 5 %-ного водного раствора NaCl, перемешивают и отгоняют изопропанол в вакууме. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 1 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 1 мл изопропанола и 5 мл 5 %-ного водного раствора NaCl и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Операцию повторяют ещё 2 раза. Остаток ополаскивают 1 мл дистиллированной воды и 1 мл спирта, растворяют в 0,5 мл хлористого метилена, прибавляют 5 мл ацетона, перемешивают и отгоняют хлористый метилен. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют. Остаток растворяют в 0,5 мл хлористого метилена и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещества высушивают в вакууме при 50-60 °С и получают 0,100 г (0,083 ммоль) моноватриевой соли 2,3-дигидропинопренилфосфата (10); выход 83 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CCl}_4\text{-CD}_3\text{OD}$, 2:1); δ , м.д.: 5,00 (15H, м, $\text{CH}=\text{C}$), 3,95 (2H, м, $\text{CH}_2\text{O-}$), 1,97 (58H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,60 (39H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$, Z-звено и W_Z -звено), 1,53 (9H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{C}$, E-звено и W_E -звено), 1,37-1,04 (5H, CH-C_3 , $\text{CH}_2\text{-C}_2$ и $\text{CH}_2\text{-C}_4$), 0,83 (3H, д, $J_{\text{H,H}}$ 6,0 Гц, $\text{CH}_3\text{-C}_3$). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 4,3, с.

Пример 11. Получение моноватриевой соли морапренилфосфата (11)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 3, отбирают 153 мл, содержавшие исходно 15,3 г (20 ммоль) морапренола (3), и упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 200 мл этанола, прибавляют 200 мл 5 %-ного водного раствора NaCl, перемешивают и отгоняют этанол в вакууме. По охлаждению до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 100 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 200 мл этанола и 200 мл 5 %-ного водного раствора NaCl и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждению до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Операцию повторяют ещё 2 раза. Остаток ополаскивают 20 мл дистиллированной воды и 20 мл спирта, растворяют в 100 мл хлористого метилена, прибавляют 250 мл ацетона, перемешивают и отгоняют хлористый метилен. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют, остаток растворяют в 100 мл хлористого метилена и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещество высушивают в вакууме при 50-60 °C и получают 15,1 г (17,4 ммоль) моноватриевой соли морапренилфосфата (11); выход 87 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,30 (1H, t, J 7,0 Гц, HC2=), 5,05 (10H, м, CH=), 4,30 (2H, уш.дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O-}$), 1,95 (40 H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,68 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-C3=}$), 1,60 (21H, м, $\text{CH}_3\text{C=}$, Z-звено и W_Z -звено), 1,53 (12H, м, $\text{CH}_3\text{C=}$, E-звено и W_E -звено). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 4,1, с.

Пример 12. Моноаммониевая соль морапренилфосфата (12)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 3, отбирают 153 мл, содержавшие исходно 15,3 г (20 ммоль) морапренола (3), и упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 200 мл этанола, прибавляют 200 мл 5 %-ного водного раствора NH_4Cl , перемешивают и отгоняют этанол в вакууме. По охлаждению до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 100 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 200 мл этанола и 200 мл 5 %-ного водного раствора NH_4Cl и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждению до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Операцию повторяют ещё 2 раза. Остаток ополаскивают 20 мл дистиллированной воды и 20 мл спирта, растворяют в 100 мл хлористого метилена, прибавляют 250 мл ацетона, перемешивают и отгоняют хлористый метилен. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют. Остаток растворяют в 100 мл хлористого метилена и повторяют вышеуказанную операцию.

Воскообразное вещество высушивают в вакууме и получают 15,1 г (17,4 ммоль) моноаммониевой соли морапренилфосфата (12); выход 87 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,30 (1H, t, J 7,0 Гц, $\text{HC}2=$), 5,05 (10H, м, $\text{CH}=\text{}$), 4,30 (2H, дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O-}$), 1,95 (40 H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,68 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-C}3=$), 1,60 (21H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, Z-звено и W_Z -звено), 1,52 (12H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, E-звено и W_E -звено). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 1,6 (0,95 P, с, морапренилфосфат), -6,2 (0,025P, уш.д., P_α , морапренилдифосфат), -7,8 (0,025, уш.д., P_β , морапренилдифосфат).

Пример 13. Получение магниевой соли морапренилфосфата (13)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 3, отбирают 15,3 мл, содержавшие исходно 1,53 г (2 ммоль) морапренола (3), и упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 20 мл этанола, прибавляют 20 мл 2,5 %-ного водного раствора MgSO_4 , перемешивают и отгоняют этанол в вакууме. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 10 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 20 мл этанола и 20 мл 2,5 %-ного водного раствора MgSO_4 и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Остаток ополаскивают 5 мл дистиллированной воды и 5 мл этанола, растворяют в 5 мл хлористого метилена, прибавляют 25 мл ацетона, перемешивают и отгоняют хлористый метилен. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют, остаток растворяют в 5 мл хлористого метилена и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещество высушивают в вакууме при 50-60 °C и получают 1,56 г (1,8 ммоль) магниевой соли морапренилфосфата (13); выход 90 %.

Спектр ^1H -ЯМР (CDCl_3); δ , м.д.: 5,14 (10H, м, $\text{CH}=\text{}$), 2,12 (38H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,70 (21H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, Z-звено и W_Z -звено), 1,61 (12H, м, $\text{CH}_3\text{C}=\text{}$, E-звено и W_E -звено). Спектр ^{31}P -ЯМР (CDCl_3); δ , м.д.: 1,3 (очень уширенный синглет очень малой интенсивности).

Пример 14. Получение моноватриевой соли бетулапренилфосфата (14)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 4, отбирают 30 мл, содержавшие исходно 2,65 г (5,3 ммоль) бетулапренола (4), и упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 20 мл метанола, прибавляют 40 мл 5 %-ного водного раствора NaCl , перемешивают и отгоняют метанол в вакууме. По охлаждении до комнат-

ной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 20 мл диэтилового эфира, прибавляют при перемешивании 20 мл метанола и 40 мл 5 %-ного водного раствора NaCl и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Операцию повторяют ещё 2 раза. Остаток ополаскивают 10 мл дистиллированной воды и 10 мл метанола, растворяют в 20 мл эфира, прибавляют 50 мл ацетона, перемешивают и отгоняют эфир. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют. Остаток растворяют в 20 мл эфира и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещество высушивают в вакууме при 50-60 °С и получают 2,71 г (4,5 ммоль) моноватриевой соли бетулапренилфосфата (14); выход 85 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,31 (1H, t, J 7,0 Гц, HC2=), 5,04 (6H, м, CH=), 4,28 (2H, уш.дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O-}$), 2,02 (24 H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,67 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-C3=}$), 1,59 (12H, м, $\text{CH}_3\text{C=}$, Z-звено и W_Z-звено), 1,51 (9H, м, $\text{CH}_3\text{C=}$, E-звено и W_E-звено). Спектр ^{31}P -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 4,3, с.

Пример 15. Получение моноаммониевой соли бетулапренилфосфата (15)

От конечной реакционной смеси, полученной как в примере 4, отбирают 30 мл, содержавшие исходно 2,65 г (5,3 ммоль) бетулапренола (4), и упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 20 мл этанола, прибавляют 40 мл 5 %-ного водного раствора NH_4Cl , перемешивают и отгоняют этанол в вакууме. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Воскообразный продукт растворяют в 20 мл хлористого метилена, прибавляют при перемешивании 20 мл этанола и 40 мл 5 %-ного водного раствора NH_4Cl и отгоняют в вакууме органические растворители. По охлаждении до комнатной температуры и достижении полной прозрачности водной фазы её удаляют. Операцию повторяют ещё 2 раза. Остаток ополаскивают 10 мл дистиллированной воды и 10 мл этанола, растворяют в 20 мл хлористого метилена, прибавляют 50 мл ацетона, перемешивают и отгоняют хлористый метилен. По достижении прозрачности надосадочной жидкости её удаляют. Остаток растворяют в 20 мл хлористого метилена и повторяют вышеуказанную операцию. Воскообразное вещество высушивают в вакууме и получают 2,90 г (4,8 ммоль) моноаммониевой соли бетулапренилмонофосфата (14); выход 90 %.

Спектр ^1H -ЯМР ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$, 5:1); δ , м.д.: 5,31 (1H, t, J 7,0 Гц, HC2=), 5,04 (6H, м, CH=), 4,28 (2H, дд, $J_{\text{H,H}}=J_{\text{H,P}}=6,0$, $\text{CH}_2\text{O-}$), 2,02 (24 H, м, $\text{CH}_2\text{-}$), 1,67 (3H, с, $\text{CH}_3\text{-}$

C3=), 1,61 (12H, м, CH₃C=, Z-звено и W_Z-звено), 1,52 (9H, м, CH₃C=, E-звено и W_E-звено). Спектр ³¹P-ЯМР (CDCl₃-CD₃OD, 5:1); δ, м.д.: 1,8 (0,96 P, с, бетулапренилфосфат), -6,1 (0,02P, уш.д., P_α, бетулапренилдифосфат), -7,9 (0,02P, уш.д., P_β, бетулапренилдифосфат).

Пример 16 (сравнительный со способом ближайшего аналога). Получение морапренилфосфата

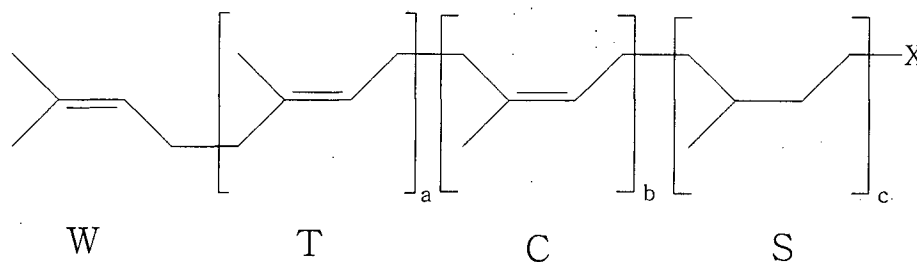
Морапренол (α-ненасыщенный C₅₅-полипренол из листьев шелковицы, 100 мг, 0,13 ммоль) растворяют в 0,5 мл (5 ммоль) трихлорацетонитрила и прибавляют при встряхивании 1,2 мл раствора моно-(тетра-н-бутиламмоний)-фосфата (0,54 ммоль) в абсолютном ацетонитриле. Через 10 мин. растворители удаляют в вакууме, 2 раза отгоняют от остатка по 1 мл толуола. Остаток растворяют в 1,5 мл тетрагидрофурана и прибавляют 0,3 мл 25 %-ного аммиака. Через 10-15 мин прибавляют 5 мл толуола и 5 мл метанола. Перемешивают, дают отстояться, надосадочную жидкость отделяют, осадок промывают дважды смесью толуол-метанол, 1:1. Раствор и промывную жидкость упаривают досуха, 2 раза с 3 мл пропанола для удаления толуола, растворяют в 1 мл пропанола и постепенно при встряхивании прибавляют 40 мл дистиллированной воды. К раствору прибавляют 30 мг (0,265 ммоль) 4-диметиламинопиридина и кипятят 8 ч. с обратным холодильником. Прибавляют при охлаждении 60 мл пропанола, упаривают досуха на роторном испарителе, остаток растворяют в смеси хлороформ-метанол, 2:1 (30 мл) и перемешивают 1 ч. с избытком Дауэкса 50×8 (Py⁺). Смолу отфильтровывают, промывают этой же смесью растворителей, прибавляют 0,5 мл 25 %-ного аммиака и упаривают раствор досуха. Остаток растворяют в толуоле и через 3 ч. при 4 °C осадок удаляют. Толуольный раствор упаривают, остаток растворяют в 50 мл смеси хлороформ-метанол, 2:1, наносят на колонку с DEAE-целлюлозой DE-52 (OAc⁻), 1×10 см, уравновешенную той же смесью растворителей, промывают колонку 30 мл этой смеси и 30 мл метанола и элюируют целевой продукт 40 мМ раствором ацетата аммония в метаноле (50 мл). Продукт однороден по ТСХ в системе хлороформ-метанол-вода, 60:25:4, отношение кислотолабильного фосфата и полипренола составляет 1,05:1 (теоретически 1:1). Выход 0,11 ммоль (85 %).

Таким образом, из вышесказанного очевидно, что предложенный способ получения полипренилфосфатов значительно проще, технологичнее и экономичнее способа по ближайшему аналогу. Он может быть применён как в микро-, так и в макромасшта-

бах, в том числе в масштабах, необходимых для разработки и производства лекарственных препаратов нового поколения, содержащих ряд физиологически и терапевтически приемлемых солей указанных соединений в качестве активных ингредиентов.

Формула изобретения

1. Способ получения полипренилфосфатов, имеющих общую структурную формулу:



где каждое изопреновое звено содержит 5 атомов углерода, W означает ω -концевое изопреновое звено, T означает транс-изопреновое звено, C означает цис-изопреновое звено, S означает 2,3-дигидроизопреновое звено, $a = 0-10$, $b = 0-39$, $c = 0-1$, $a + b + c = 4-40$, X означает группу формулы $\text{OPO}_3\text{MM}'$, причём M и M' являются одинаковыми или разными и представляют собой катион водорода или одновалентный неорганический или органический катион, либо M и M' вместе являются двухвалентным неорганическим или органическим катионом,

закрывающийся в том, что:

- осуществляют реакцию фосфорилирования соответствующего полипренола или смеси олигомергомологов указанной формулы, где X означает гидроксигруппу, замещённой аммониевой солью фосфорной кислоты в присутствии конденсирующего агента в среде первого апротонного органического растворителя; и
- выделяют полипренилфосфат экстракцией и осаждением в виде его моно- или дизамещённых солей с одновалентными катионами или солей с двухвалентными катионами.

2. Способ по п. 1, в котором молекулы полипренола содержат не менее 6 изопреновых звеньев, или не менее 30 атомов углерода.

3. Способ по п. 2, в котором молекулы полипренола содержат от 6 до 20 изопреновых звеньев, или от 30 до 100 атомов углерода.

4. Способ по п. 1, в котором в качестве замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты используют либо дигидрофосфаты, выбранные из группы, состоящей из дигидрофосфата диизопропилэтиламмония, дигидрофосфата тетраметиламмония, дигидрофосфата тетраэтиламмония, дигидрофосфата тетрабутиламмония и дигидрофосфата цетилтриметиламмония, либо гидрофосфат бис(диизопропилэтиламмония).

5. Способ по п. 4, в котором в качестве замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты используют дигидрофосфат тетрабутиламмония.

6. Способ по п. 1, в котором в качестве конденсирующего агента используют трихлорацетонитрил или дициклогексилкарбодиимид.

7. Способ по п. 6, в котором выбирают молярное отношение реагентов так, что на 1 моль-экв. полипренола приходится от 0,1 до 10 моль-экв. замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты и от 0,1 до 10 моль-экв. трихлорацетонитрила.

8. Способ по п. 7, в котором упомянутое молярное соотношение полипренола, замещённой аммониевой соли фосфорной кислоты и трихлорацетонитрила близко к 1 : 1 : 1.

9. Способ по п. 1, в котором в качестве первого апротонного органического растворителя используют растворитель из группы, состоящей из бензола, толуола, хлористого метилена, хлороформа, диметилформамида, или смеси одного из этих растворителей с ацетонитрилом.

10. Способ по п. 1, в котором упомянутый полипренилфосфат выделяют в виде его дизамещённой соли с одновалентным катионом в ходе выполнения этапов, на которых:

- отгоняют первый апротонный органический растворитель из реакционной смеси или её части;
- удаляют водорастворимые примеси из полученного в результате упомянутой отгонки остатка путём экстракции в системе первый органический растворитель - вода;
- отгоняют органическую фазу, остаток растворяют в спирте;
- осаждают неочищенную дизамещённую соль полипренилфосфата обработкой раствором соли одновалентного металла и гидроксида этого одновалентного металла в спирте;
- последовательно экстрагируют нефосфорилированные соединения спиртом и вторым апротонным органическим растворителем, в котором не растворяется соль полипренилфосфата; и
- получают дизамещённую соль полипренилфосфата со степенью чистоты не ниже 95 % масс.

11. Способ по п. 10, в котором в качестве первого органического растворителя в упомянутой системе органический растворитель - вода применяют вещество, выбранное из группы, состоящей из петролейного эфира, бензола, толуола, хлороформа, хлористого метилена, бутанола, изоамилового спирта или их смеси.

12. Способ по п. 10, в котором в качестве упомянутого спирта при упомянутом осаждении и экстрагировании применяют вещество, выбранное из группы, состоящей из метанола, этанола, пропанола, изопропанола и их смеси.

13. Способ по п. 10, в котором для упомянутого осаждения применяют раствор, содержащий от 1 до 10 % масс. соединения, выбранного из группы, состоящей из формиата, ацетата, хлорида, бромида или йодида лития, натрия или калия в спирте, и содержащий от 0 до 10 % масс. гидроксида соответствующего металла.

14. Способ по п. 10, в котором в качестве второго апротонного органического растворителя применяют соединение, выбранное из группы, состоящей из ацетонитрила, ацетона и их смеси.

15. Способ по п. 1, в котором упомянутый полипренилфосфат выделяют в виде его монозамещённой соли с одновалентным катионом или соли с двухвалентным катионом в ходе выполнения этапов, на которых:

- отгоняют первый апротонный органический растворитель из реакционной смеси или её части;

- удаляют водорастворимые примеси из полученного в результате упомянутой отгонки остатка обработкой его раствора во втором органическом растворителе водным раствором соли аммония, одно- или двухвалентного металла или органического основания с сильной кислотой с последующей отгонкой упомянутого органического растворителя и удалением водной фазы;

- экстрагируют нефосфорилированные примеси растворением полученного воскообразного остатка в третьем органическом растворителе и прибавлением второго апротонного органического растворителя, в котором нерастворима соль полипренилфосфата, с последующей отгонкой третьего органического растворителя и одновременным осаждением целевого продукта;

- удаляют надосадочную жидкость; и

- получают монозамещённую соль полипренилфосфата или его соль с двухвалентным катионом со степенью чистоты не менее 95 % масс.

16. Способ по п. 15, в котором в качестве второго органического растворителя применяют соединение, выбранное из группы, состоящей из спирта или его смеси с четырёххлористым углеродом, пентаном, гексаном, хлористым метиленом, хлороформом или диэтиловым эфиром.

17. Способ по п. 15, в котором упомянутый спирт выбран из группы, состоящей из метанола, этанола, пропанола, изопропанола и их смеси.

18. Способ по п. 15, в котором в качестве упомянутого водного раствора соли применяют водный раствор с концентрацией от 0,5 до 10 % масс. соединения, выбранного из группы, состоящей из нитрата, бромида, хлорида, сульфата или гидросульфата лития, натрия, калия, аммония, гидроксиэтиламмония, гидроксиэтилдиметиламмония, холина, триэтиламмония или триэтаноламмония в качестве одновалентного катиона, а также кальция, магния, марганца или цинка в качестве двухвалентного катиона.

19. Способ по п. 15, в котором в качестве упомянутого третьего органического растворителя применяют низкокипящее соединение, выбранное из группы, состоящей из диэтилового эфира, хлористого метилена, пентана, гексана и их смеси.

20. Способ по п. 15, в котором в качестве упомянутого второго апротонного органического растворителя применяют соединение, выбранное из группы, состоящей из ацетонитрила, ацетона и их смеси.