

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037846**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.05.27

(21) Номер заявки
201891259

(22) Дата подачи заявки
2016.12.09

(51) Int. Cl. **C07C 403/22** (2006.01)
C07C 309/18 (2006.01)
C07C 309/23 (2006.01)
C07C 313/04 (2006.01)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ АЛКИЛОВОГО ЭФИРА N-РЕТИНОИЛЦИСТЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ

(31) **1551615-6**

(32) **2015.12.09**

(33) **SE**

(43) **2019.01.31**

(86) **PCT/SE2016/051238**

(87) **WO 2017/099662 2017.06.15**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ОАСМИА ФАРМАСЬЮТИКАЛ АБ
(SE)

(72) Изобретатель:
**Баброу Дзианис, Будникава Марина,
Бьерклунд Микаель, Алексов Юлиан**
(SE)

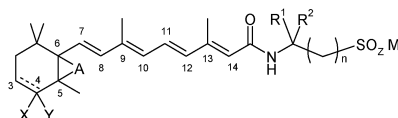
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) EP-B1-1534672
US-A1-20040048923
US-A1-20030050343
US-A1-4459404
US-B1-7321064

Arsenov D. V.; Babitskaya S. V.; Vashkevich I. I.; Dad'kov, I. D.; Kisel' M. A.; Kuz'mitskii B. B.; Strel'chenok O. A. "Modification of the antitumor effect of doxorubicin by phosphorylated retinoids conjugated to alpha-fetoprotein" In: Pharm Chem J, 2001, Dec, Vol. 35, No. 12, pp. 657-660; p. 660, left column, first paragraph

Arsenov D. V.; Dad'kov I. G.; Kisel' M. A.; Kuz'mitskii B. B.; Strel'chenok O. A. "Synthesis of N-(all-trans-retinoyl)doxorubicin and study of the antitumor activity of its complex with blood serum proteins" In: Pharm Chem J, 2001, Apr., Vol. 35, No. 4, pp. 186-189; p. 188, section "Experimental chemical part"

(57) Изобретение относится к способу получения производных N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты формулы 1



где способ включает использование ретиноевой кислоты, хлорформиата, аминокансульфоновой кислоты, выбранной из группы, включающей цистеиновую кислоту и ее алкиловый эфир, цистеинсульфиновую кислоту и ее алкиловый эфир, гомоцистеиновую кислоту и ее алкиловый эфир, гомоцистеинсульфиновую кислоту и ее алкиловые эфиры, таурин и его производные, и органический растворитель и основание, смешивание указанных компонентов в отсутствии окисляющих соединений с получением реакционной смеси, включающей жидкую фазу, где жидкая фаза является единственной фазой и производные N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты образуются в указанной жидкой фазе.

B1**037846****037846****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение в целом относится к способу получения производных N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты.

Уровень техники

В US 7030158 раскрыт метиловый эфир N-(полностью-транс-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты и метиловый эфир N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты. Эти соединения получают путем растворения полностью-транс- или 13-цис-ретиноевой кислоты и триэтиламина в безводном тетрагидрофуране с последующим добавлением ацетонитрила и бутилхлорформиата. Через некоторое время полученную смесь добавляют к раствору производного L-цистеиновой кислоты, бикарбоната натрия, метанола, тетрагидрофурана и воды. Следовательно, образование метилового эфира N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты и/или метилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты не происходит в одной фазе.

Объектом настоящего изобретения является дополнительное упрощение сложности и дополнительное упрощение способа получения алкилового эфира N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты и алкилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты.

Другим объектом настоящего изобретения является дополнительное повышение выхода. Кроме того, настоящее изобретение позволяет значительно уменьшить продолжительность реакции, как функции выхода, альтернативно, обеспечивает повышенный выход сравнимой продолжительности реакции.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к способу получения производных N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты, где способ включает смешивание в отсутствие окисляющих соединений ретиноевой кислоты, хлорформиата и аминокансульфоновой кислоты, органического растворителя и основания, представляющего собой триалкиламин, с получением реакционной смеси, включающей жидкую фазу, где жидкая фаза является единственной фазой и производные N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты образуются в указанной жидкой фазе.

Настоящее изобретение дополнительно включает способ получения алкилового эфира N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты, алкилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты или их смеси, включающий реакцию 13-цис-ретиноевой кислоты, полностью-транс-ретиноевой кислоты или их смеси в реакционной смеси, включающей однофазную жидкую фазу, где продуктом является алкиловый эфир N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты, алкиловый эфир N-(полностью-транс-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты или их смеси, который образуется в указанной жидкой фазе, реакцию проводят в отсутствие окисляющих соединений.

Точнее, настоящее изобретение относится к способу получения производных N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты, способ включает использование ретиноевой кислоты, хлорформиата, аминокансульфоновой кислоты, выбранной из группы, включающей цистеиновую кислоту и ее алкиловый эфир, цистеинсульфиновую кислоту и ее алкиловый эфир, гомоцистеиновую кислоту и ее алкиловый эфир, гомоцистеинсульфиновую кислоту и ее алкиловый эфир, таурин и его производные, и органический растворитель и основание, представляющее собой триалкиламин, смешивание указанных компонентов в отсутствие окисляющих соединений, с получением реакционной смеси, включающей жидкую фазу, где жидкая фаза является единственной фазой и производные N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты образуются в указанной жидкой фазе.

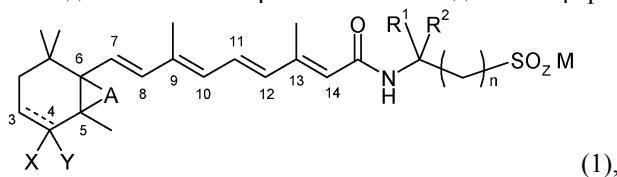
Другим объектом настоящего изобретения является способ получения производных N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты, способ включает использование а) жидкости, включающей соединение, выбранное из группы, включающей аминокансульфоновую кислоту, выбранную из группы, включающей цистеиновую кислоту и ее алкиловый эфир, цистеинсульфиновую кислоту и ее алкиловый эфир, гомоцистеиновую кислоту и ее алкиловый эфир, гомоцистеинсульфиновую кислоту и ее алкиловый эфир, таурин и его производные, спирт и первое основание, представляющее собой триалкиламин, б) ретиноевой кислоты, в) апротонного растворителя, г) второго основания, представляющего собой триалкиламин, и е) хлорформиата, добавление компонентов а), б), в), г) и е) в реакционный сосуд в любом порядке, тем самым получение реакционной смеси, включающей жидкую фазу, смешивание указанной реакционной смеси, где производные N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты образуются в указанном растворе в условиях, характеризующихся отсутствием окисляющих соединений.

В вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способу получения алкилового эфира N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты или алкилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты, где алкильная группа включает от 1 до 4 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 3 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 2 атомов углерода, например, метил и этил. В еще одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения метилового эфира N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты и/или метилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты. Соответственно, алкильная группа алкилового эфира цистеиновой кислоты включает от 1 до 4 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 3 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 2 атомов углерода, например, метил и этил. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу получения натриевых солей алкилового эфира N-(13-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты и/или

или алкилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)цистеиновой кислоты или их смеси, где алкильная группа включает от 1 до 4 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 3 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 2 атомов углерода, например, метил и этил.

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к способу получения производных N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты. Производные можно выбрать из числа соединений формулы 1:



в которой n равно 0-2,

Z равно 2 или 3,

A означает связь или атом кислорода,

X и Y означают H или -OH или вместе означают =O,

имеется двойная связь между атомами углерода 3 и 4 при условии, что X и Y означают H,

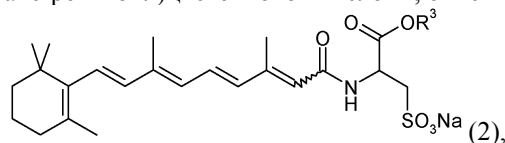
конфигурация двойных связей между атомами углерода 9 и 10, 11 и 12, и 13 и 14 может быть E- или

Z-,

R¹ и R² означают H, алкилы, включающие от 1-4 атомов углерода, или -COOH или его фармацевтически приемлемая соль, или COOR³, где R³ означает алкильную группу, включающую от 1 до 4 атомов углерода,

M означает фармацевтически приемлемый катион.

Особенно предпочтительными производными N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты являются натриевая соль алкилового эфира N-(13-цис-ретиноил)цистеиновой кислоты и натриевая соль алкилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)цистеиновой кислоты, описываемая формулой 2:



в которой R³ означает углеводород, включающий от 1 до 3 атомов углерода.

Одним из реагентов, используемых в способе, предлагаемом в настоящем изобретении, является ретиновая кислота. Подходящие ретиновые кислоты можно выбрать из числа приведенных ниже формул 3-6 и указанных в табл. 1-4.

Формула 3

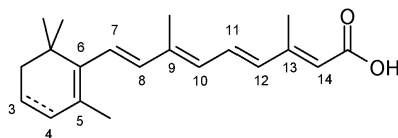


Таблица 1

Название	Конфигурация двойной связи				3, 4-Двойная связь
	13	11	9	7	
полностью-транс-Ретиновая кислота	E	E	E	E	Отсутствует
13-цис-Ретиновая кислота	Z	E	E	E	Отсутствует
11-цис-Ретиновая кислота	E	Z	E	E	Отсутствует
9-цис-Ретиновая кислота	E	E	Z	E	Отсутствует
13, 11-ди-цис-Ретиновая кислота	Z	Z	E	E	Отсутствует
13, 9-ди-цис-Ретиновая кислота	Z	Z	E	E	Отсутствует
полностью-транс-3, 4-Дигидроретиновая кислота	E	E	E	E	Содержится
13-цис-3, 4-Дигидроретиновая кислота	Z	E	E	E	Содержится

Формула 4 (5,6-эпоксиретиновые кислоты)

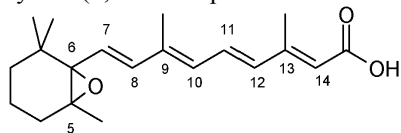


Таблица 2

Название	Конфигурация двойной связи			
	13	11	9	7
полностью-транс-5, 6- Эпоксиретиновая кислота	Е	Е	Е	Е
13-цис-5, 6-Эпоксиретиновая кислота	Z	Е	Е	Е

Формула 5 (5,8-эпоксиретиновые кислоты)

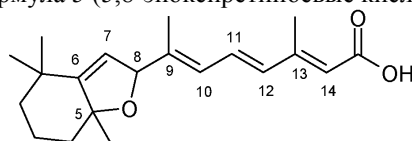


Таблица 3

Название	Конфигурация двойной связи		
	13	11	9
полностью-транс-5, 8- Эпоксиретиновая кислота	Е	Е	Е
13-цис-5, 8-Эпоксиретиновая кислота	Z	Е	Е

Формула 6 (4-гидрокси- и 4-оксоретиновые кислоты)

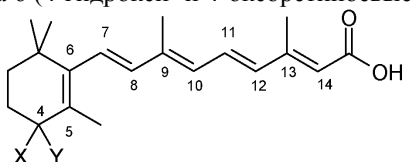


Таблица 4

Название	Заместители и конфигурация двойной связи					
	X	Y	13	11	9	7
полностью-транс-4- Гидроксиретиновая кислота	ОН	Н	Е	Е	Е	Е
13-цис-4- Гидроксиретиновая кислота	ОН	Н	Z	Е	Е	Е
полностью-транс-4- Оксоретиновая кислота	О		Е	Е	Е	Е
13-цис-4- Оксоретиновая кислота	О		Z	Е	Е	Е

Другим реагентом в способе, предлагаемом в настоящем изобретении, являются аминокансульфоновые кислоты.

Аминоалкансульфоновые кислоты выбраны из группы, включающей цистеиновую кислоту, алкиловый эфир цистеиновой кислоты, цистеинсульфиновую кислоту и ее алкиловый эфир, гомоцистеиновую кислоту и ее алкиловый эфир, и таурин и его производные. Подходящие аминоалкансульфоновые кислоты описаны ниже с помощью формул 7-8 и представлены в табл. 5-7.

Формула 7 (сульфоновые кислоты)

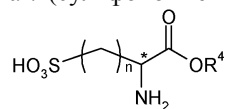


Таблица 5

Название	Заместители		
	n	R ⁴	Конфигурация хирального атома углерода (отмечен звездочкой)
Цистеиновая кислота	1	H	R-, S- или рац-
Метилвый эфир цистеиновой кислоты	1	Me	R-, S- или рац-
Этиловый эфир цистеиновой кислоты	1	Et	R-, S- или рац-
Гомоцистеиновая кислота	2	H	R-, S- или рац-
Метилвый эфир гомоцистеиновой кислоты	2	Me	R-, S- или рац-
Этиловый эфир гомоцистеиновой кислоты	2	Et	R-, S- или рац-

Формула 8 (производные таурина)

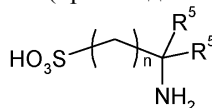


Таблица 6

Название	Заместители	
	n	R ⁵
Аминометансульфоновая кислота	0	H
Таурин (2-аминоэтансульфоновая кислота)	1	H
2-Амино-2-метил-1-пропансульфоновая кислота	1	Me
3-Амино-1-пропансульфоновая кислота (гомотаурин)	2	H

Формула 9 (сульфиновые кислоты)

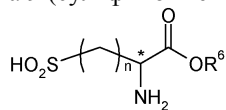


Таблица 7

Название	Заместители		
	n	R ⁶	Конфигурация хирального атома углерода (отмечен звездочкой)
Цистеинсульфиновая кислота	1	H	R-, S- или рац-
Метилвый эфир цистеинсульфиновой кислоты	1	Me	R-, S- или рац-
Этиловый эфир цистеинсульфиновой кислоты	1	Et	R-, S- или рац-
Гомоцистеинсульфиновая кислота	2	H	R-, S- или рац-
Метилвый эфир гомоцистеинсульфиновой кислоты	2	Me	R-, S- или рац-
Этиловый эфир гомоцистеинсульфиновой кислоты	2	Et	R-, S- или рац-

В дополнение к реагентам в растворе также содержатся ретиноевая кислота и аминокансульфовая кислота, хлорформиат. Обычно хлорформиат включает алифатическую группу, включающую от 2 до 6 атомов углерода, указанной группой предпочтительно является изобутил.

Реакцию проводят в реакционной смеси, включающей по меньшей мере один органический растворитель и основание, представляющее собой триалкиламин. Реакционная смесь может включать один или несколько разных органических растворителей, таких как протонный и апротонный растворители. Спирты являются предпочтительным классом органических растворителей. В одном варианте осуществления органический растворитель включает по меньшей мере один спирт. В еще одном варианте осуществления органический растворитель включает апротонный растворитель и по меньшей мере один спирт. Обычно спиртами предпочтительно являются одноатомные спирты, включающие от 1 до 10 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода. Примеры спиртов включают метанол, этанол, пропанол и бутанол. Подходящие апротонные растворители выбраны из группы, включающей простые эфиры, сложные эфиры, амиды, нитрилы, сульфоксиды и их смеси. Простые эфиры являются особенно предпочтительными апротонными растворителями. Примеры подходящих простых эфиров включают циклические простые эфиры, включающие от 5 до 8 атомов углерода, такие как тетрагидрофуран.

В дополнение к органическому растворителю раствор реакционной смеси также включает основание. Основанием может быть одно или смесь разных оснований. Обычно используют один тип основания. Амины являются подходящими основаниями и предпочтительно включают алифатические группы, независимо, включающие от 1 до 4 атомов углерода. Триэтиламин (TEA) является предпочтительным основанием.

Органический растворитель (растворители), апротонный растворитель (растворители) и основание (основания) выбирают и объединяют так, чтобы реакционная смесь включала жидкую фазу, указанная жидкая фаза является одной фазой. Термины "жидкая фаза является одной фазой", или "одна жидкая фаза" обладают таким значением, что по меньшей мере одна жидкая фаза реакционной смеси представляет собой точно одну жидкую фазу. Основную химическую реакцию между ретиноевой кислотой, аминокансульфовой кислотой и хлорформиатом проводят по меньшей мере в одной жидкой фазе, указанная по меньшей мере одна жидкая фаза состоит из одной жидкой фазы. Соответственно, все основные реагенты (и предпочтительно также основной продукт [N-ретиноиламинокансульфовая кислота]) в основном растворимы по меньшей мере в одной жидкой фазе реакционной смеси и основные реагенты (ретиноевая кислота, хлороформ и аминокансульфовая кислота) могут взаимодействовать друг с другом без пересечения границы между жидкими фазами. Реакционная смесь может включать несколько жидких фаз и твердые фазы, если все реагенты содержатся в одной жидкой фазе, и основную химическую реакцию проводят в одной и той же жидкой фазе, указанная жидкая фаза является одной фазой. В предпочтительном варианте осуществления реакционная смесь включает в основном одну жидкую фазу, указанная жидкая фаза не содержит границ между жидкими фазами. Реакционная смесь может включать небольшие количества твердой фазы.

В другом варианте осуществления добавляют аминокансульфовую кислоту, растворенную в спирте, и основание и получают первый раствор. Кроме того, ретиноевую кислоту и хлорформиат растворяют в апротонном растворителе и добавляют основание и получают второй раствор, включающий продукт реакции хлорформиата и ретиноевой кислоты. На следующей стадии первый и второй раствор смешивают и получают реакционную смесь, включающую жидкую фазу без границ между жидкими фазами, где производное N-ретиноиламинокансульфовой кислоты образуется в указанной жидкой фазе.

Ниже описаны более предпочтительные варианты осуществления, входящие в объем настоящего изобретения без ограничения настоящего изобретения.

Алкиловый эфир цистеиновой кислоты, такой как метиловый эфир цистеиновой кислоты, растворяют в спирте и амине. Подходящими спиртами может быть любой спирт, способный растворять алкиловый эфир цистеиновой кислоты, такой как алифатические спирты, например, алифатические спирты, включающие от 1 до 8 атомов углерода, обычно от 1 до 6 атомов углерода, например, метанол, этанол, пропанол, бутанол, пентанол и гексанол. Этанол и метанол являются предпочтительными. Подходящие амины включают алифатические амины. Амины обычно включают алифатические углеводороды, включающие независимо от 1 до 6 атомов углерода, предпочтительно от 1 до 4 атомов углерода. Предпочтительно, если амин включает 3 алифатических углеводорода, содержащих одинаковое количество атомов углерода, предпочтительно от 1 до 3 атомов углерода, такие как метил, этил и пропил. Триэтиламин (TEA) является предпочтительным амином. Спирт, амин и алкиловый эфир цистеиновой кислоты предпочтительно смешивают в отдельном контейнере.

13-цис-Ретиноевую кислоту или полностью-транс-ретиноевую кислоту, или их обе помещают в реактор, в котором предпочтительно можно регулировать температуру, и растворяют в органическом растворителе и амине. Подходящими органическими растворителями предпочтительно являются простые эфиры, включая циклические простые эфиры и нециклические простые эфиры, включающие от 4 до 10 атомов углерода. Подходящие нециклические простые эфиры включают алкильные или арильные группы или их обе, предпочтительно 2 алкильные группы. Алкильные группы могут независимо включать от

1 до 5 атомов углерода. Примерами подходящих нециклических простых эфиров являются диметиловый эфир, диэтиловый эфир, дипропиловый эфир и смешанные простые эфиры, такие как метилэтиловый эфир и метилфениловый эфир. Подходящие циклические простые эфиры включают от 4 до 10 атомов углерода. Предпочтительно, если все атомы углерода являются частью кольцевой структуры. Тетрагидрофуран (THF) представляет собой циклический простой эфир, который можно использовать. Подходящими аминами являются те, которые используют для растворения алкилового эфира цистеиновой кислоты.

Предпочтительно, если реакцию проводят в среде, в которой в основном отсутствуют окисляющие соединения. Предпочтительно, если реактор откачивают и заполняют газом, в котором в основном не содержатся окисляющие соединения. Любой газ можно использовать для заполнения реактора, если газ в основном не содержит окисляющие соединения. Подходящие газы включают инертные газы, которые нелегко вступают в реакции, такие как азот.

Кроме того, также желательно проводить основную реакцию и все стадии обработки (которые включают стадии обработки, дополнительной очистки, такие как хроматографические стадии и последующие стадии выпаривания/сушки), не допуская воздействие прямого света.

Кроме того, алкилхлорформиат смешивают с органическим растворителем, которым может быть та же жидкость, которая указана выше, и помещают в реактор. При добавлении алкилхлорформиата в реактор благоприятно, если температуру поддерживают равной комнатной температуре, предпочтительно от 20 до 25°C. Предпочтительно, если температуру поддерживают в диапазоне от температуры, при которой вода является жидкой при атмосферном давлении, до равной от 0 примерно до 15°C, предпочтительно от примерно 5 до примерно 10°C. Обычно желательно, чтобы при добавлении алкилхлорформиата температура не превышала 15°C. Алкилхлорформиат добавляют к ретиноевой кислоте в течение периода времени, такого чтобы температура реакционной смеси (т. е. смеси, включающие ретиноевую кислоту) существенно не повышалась, так чтобы температура в объеме реакционной смеси не превышала 10°C. Обычно алкилхлорформиат добавляют в течение от примерно 5 до примерно 40 мин, предпочтительно от примерно 10 до примерно 25 мин. Затем вводят раствор алкилового эфира цистеиновой кислоты и температуру реакционной смеси доводят до температуры окружающей среды. Реакционную смесь перемешивают до завершения реакции, обычно в течение от 1 до 5 ч, и образуется алкиловый эфир N-(13-цис-ретиноил)-цистеиновой кислоты и/или алкиловый эфир N-(полностью-транс-ретиноил)-цистеиновой кислоты.

После завершения реакции реакционную смесь предпочтительно обрабатывают, что обычно включает стадии экстракции и промывки. Обработку можно провести следующим образом.

Реакционную смесь перегоняют в вакууме. Затем спирт, которым может быть любой из спиртов, указанных выше, например, метанол, вводят по меньшей мере один раз после перегонки. Предпочтительно, если спирт вводят дважды, второй раз в комбинации с простым эфиром, которым может быть метил-трет-бутиловый эфир (MTBE).

Затем реакционную смесь предпочтительно обрабатывают путем экстракции обычным раствором соли. Можно использовать многие из разных типов солей, одним является хлорид натрия (NaCl). Перед экстракцией реакционную смесь подкисляют кислотой. Для подкисления можно использовать любую кислоту, если кислота в основном не содержит окисляющие соединения. Предпочтительно используют уксусную кислоту. Водные фазы собирают и дополнительно промывают простым эфиром и/или спиртом. Обычно водную фазу промывают простым эфиром и/или спиртом несколько раз, например, от 2 до 5 раз, обычно от 2 до 3 раз. Простые эфиры могут представлять собой любой алифатический простой эфир, который в основном не смешивается с водой, такой как MTBE. Подходящими спиртами являются алифатические спирты, содержащие от 1 до 6 атомов углерода, такие как метанол и этанол. Водные фазы повторно собирают и органические фазы отбрасывают.

Обычно на следующих стадиях водную фазу экстрагируют сложным эфиром и затем несколько раз промывают раствором соли, например, раствором NaCl. Сложные эфиры могут представлять собой любой алифатический сложный эфир, который в основном не смешивается с водой, такой как этилацетат.

После завершения обработки продукт, т.е. алкиловый эфир N-(13-цис-ретиноил)-цистеиновой кислоты и/или алкиловый эфир N-(полностью-транс-ретиноил)-цистеиновой кислоты, предпочтительно дополнительно очищают с помощью хроматографических методов.

После процедур обработки, описанных в настоящем изобретении, также предпочтительно дополнительно очистить и/или концентрировать продукт (алкиловый эфир N-(13-цис-ретиноил)-цистеиновой кислоты и/или алкиловый эфир N-(полностью-транс-ретиноил)-цистеиновой кислоты) с помощью процедур препаративного хроматографического разделения. Продукт можно очистить/концентрировать с помощью одного или большего количества хроматографических процедур/стадий. Можно использовать несколько разных процедур хроматографического разделения, таких как ионообменная хроматография, эксклюзионная хроматография и адсорбционная хроматография на слое вспученного адсорбента. Обычно используют ионообменную хроматографию. Хроматографические процедуры можно проводить в нормальной фазе или обращенной фазе. Поскольку продукт находится в растворенной форме, жидкостная хроматография является предпочтительной. Жидкостная хроматография при повышенных давлении-

ях, иногда называемая колоночной флэш-хроматографией, также может рассматриваться. Высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC) может использоваться для очистки и/или концентрирования продукта. Другой обычной хроматографической процедурой, которую можно рассматривать, является HPLC с обращенной фазой, хотя с успехом можно использовать и HPLC с нормальной фазой. Обычно неочищенный продукт, т.е. продукт после обработки, обычно после экстракции и последующей промывки растворами, сначала хроматографически очищают и затем хроматографически концентрируют. Хроматографическая очистка и концентрирование можно провести одновременно в одну хроматографическую стадию (в одной и той же колонке), но часто очистку и концентрирование проводят на разных стадиях в одной или разных колонках. Можно использовать любую подвижную фазу, подходящую для хроматографии с обращенной фазой, если продукт достаточно очищается и/или концентрируется. Подходящей подвижной фазой может быть органическая жидкость, которая смешивается с водой или по меньшей мере растворима в воде, например, различные спирты, обычно одноатомные спирты, такие как одноатомные спирты, включающие от 1 до 6 атомов углерода. Предпочтительно, органическую жидкость используют вместе с другой жидкой фазой, которой может быть вода. Если используют хроматографию с обращенной фазой, то стационарная фаза является гидрофобной. В настоящем изобретении стационарной фазой может быть фаза на основе диоксида кремния. Предпочтительной стационарной фазой является модифицированный углеводородом диоксид кремния, более предпочтительно модифицированный алкилом диоксид кремния. Примеры стационарных фаз, подходящих для хроматографии с обращенной фазой, включают а модифицированный алкилом диоксид кремния, где алкильный фрагмент включает от 6 до 22 атомов углерода предпочтительно от 8 до 20 атомов углерода, а также диоксид кремния, модифицированный углеводородами, включающими ароматические фрагменты, например, фенил, и модифицированный цианогруппой диоксид кремния. Как указано выше, на продукт в любом состоянии и любой степени чистоты свет должен воздействовать в как можно меньшей степени. Поэтому следует избегать прямого света в любой форме. Соответственно, в идеальном случае во время хроматографических процедур продукт не должен подвергаться воздействию света.

В другом варианте осуществления очищенный продукт, т.е. продукт, который подвергли хроматографической очистке и/или концентрированию, направляют на дополнительные стадии способа. Эти дополнительные стадии обычно включают многократные стадии концентрирования/выпаривания/сушки. До концентрирования/выпаривания продукт растворяют в подходящем растворителе, которым может быть спирт предпочтительно одноатомный спирт, или смесь разных спиртов. Спирты с более низкими температурами кипения являются предпочтительными, поскольку для выпаривания требуется меньше энергии. Обычно температура кипения спирта, предпочтительно одноатомного спирта, ниже примерно 150°C, например, ниже примерно 100°C. Примеры спиртов включают метанол, этанол, пропанол, бутанол, пентанол и любые их изомеры. Желательно сначала выпарить жидкость, включающую продукт, полученный после хроматографической процедуры и сушки остатка (т.е. продукта). После этого начального выпаривания и сушки остаток растворяют в любом из растворителей, указанных в этом абзаце, и затем выпаривают и сушат. Растворение и выпаривание/сушку можно повторить несколько раз. В заключение высушенный остаток, включающий продукт (алкиловый эфир N-(13-цис-ретиноил)-цистеиновой кислоты и/или алкиловый эфир N-(полностью-транс-ретиноил)-цистеиновой кислоты) растворяют в высокоочищенном растворителе, которым также может быть любой из спиртов, указанных в этом абзаце, например, метанол, этанол, пропанол, бутанол, пентанол и их изомеры.

Примеры

Пример 1.

Примерно 0,8-1,2 кг метилового эфира цистеиновой кислоты растворяют в метаноле и триэтиламин (TEA). Примерно 0,8-1,5 кг 13-цис-ретиноевой кислоты добавляют в отдельный реактор вместе с тетрагидрофураном (THF) и TEA и температуру кожуха реактора устанавливают равной 5°C. Кроме того, изобутилхлорформиат и тетрагидрофуран (THF) смешивают в контейнере и добавляют в реактор при температуре 5-10°C. Затем раствор метилового эфира цистеиновой кислоты помещают в реактор температура кожуха которого доведена до комнатной температуры. После перемешивания смеси в течение 3 ч растворитель отгоняют путем подключения вакуума. К остатку добавляют метанол, который затем отгоняют. Метанол и метил-трет-бутиловый эфир (MTBE) добавляют к полученному остатку. К раствору добавляют уксусную кислоту и смесь дважды экстрагируют раствором хлорида натрия. Водные фазы собирают и трижды промывают с помощью MTBE (7 л для каждой промывки). Водные фазы собирают в контейнер. Затем объединенную водную фазу экстрагируют этилацетатом путем добавления бикарбоната натрия и добавления рассола и этилацетата в водную фазу и перемешивания указанной смеси. На последней стадии органическую фазу несколько раз промывают раствором хлорида натрия, что включает добавление раствора хлорида натрия и метанола. Водную фазу отбрасывают.

На следующей стадии продукт после экстракции и промывки, называемый неочищенным продуктом, дополнительно очищают и концентрируют с помощью препаративных хроматографических процедур, в данном случае - высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC).

После выпаривания и сушки очищают продукт растворяют в метаноле и получают раствор метилового эфира N-(13-цис-ретиноил)цистеиновой кислоты.

Пример 2. Натриевая соль метилового эфира N-(полностью-транс-5,6-эпоксиретиноил)-L-цистеиновой кислоты.

5,6-Эпокси-полностью-транс-ретиноевую кислоту (150 мг, 0,47 ммоль) растворяют в 3 мл безводного THF, затем добавляют 0,07 мл триэтиламина. Полученную смесь охлаждают примерно до -10°C и при перемешивании добавляют 0,07 мл изобутилхлорформиата. В отдельной колбе 0,12 г метилового эфира L-цистеиновой кислоты растворяют в 2 мл метанола в присутствии 0,14 мл триметиламина. Полученный раствор при перемешивании добавляют к смеси, содержащей смешанный ангидрид 5,6-эпоксиретиновой кислоты. Полученный раствор перемешивают в течение 3 ч при комнатной температуре и затем обрабатывают обычным образом. Полученный неочищенный продукт очищают на диоксиде кремния RP-18 с использованием смеси MeOH-вода в качестве элюента и получают 175 мг продукта. После очистки натриевую соль метилового эфира 5,6-эпоксиретиноил-L-цистеиновой кислоты, полученную в виде масла, растворяют в метаноле и хранят в атмосфере аргона в морозильнике.

ЯМР и масс-спектр высокого разрешения очищенного продукта соответствует ожидаемой структуре.

Пример 3. Натриевая соль метилового эфира N-(9-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты.

9-цис-Ретиноевую кислоту (50 мг, 0,17 ммоль) растворяют в 0,5 мл безводного THF, затем добавляют 0,035 мл триэтиламина. Полученную смесь охлаждают примерно до -10°C и при перемешивании добавляют 0,033 мл изобутилхлорформиата. В отдельной колбе 0,09 г метилового эфира L-цистеиновой кислоты растворяют в 2 мл метанола в присутствии 0,14 мл триметиламина. Полученный раствор при перемешивании добавляют к смеси, содержащей смешанный ангидрид 9-цис-ретиновой кислоты. Полученный раствор перемешивают в течение 3 ч при комнатной температуре и затем обрабатывают обычным образом. Полученный неочищенный продукт очищают на диоксиде кремния RP-18 с использованием смеси MeOH-вода в качестве элюента и получают 60 мг продукта в виде желтого масла. После очистки Натриевую соль метилового эфира N-(9-цис-ретиноил)-L-цистеиновой кислоты растворяют в метаноле и хранят в атмосфере аргона в морозильнике.

ЯМР и масс-спектр высокого разрешения очищенного продукта соответствует ожидаемой структуре.

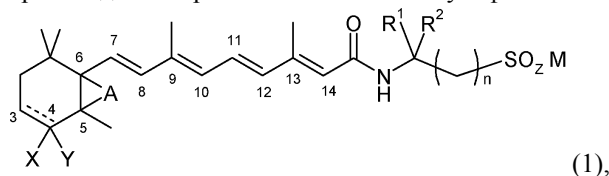
Пример 4. Натриевая соль метилового эфира N-(13-цис-5,8-эпоксиретиноил)-L-цистеиновой кислоты.

13-цис-5,8-Эпоксиретиноевую кислоту (150 мг, 0,47 ммоль) растворяют в 2,5 мл безводного THF, затем добавляют 0,07 мл триэтиламина. Полученную смесь охлаждают примерно до -10°C и при перемешивании добавляют 0,07 мл изобутилхлорформиата. В отдельной колбе 0,12 г метилового эфира L-цистеиновой кислоты растворяют в 2 мл метанола в присутствии 0,14 мл триметиламина. Полученный раствор при перемешивании добавляют к смеси, содержащей смешанный ангидрид 13-цис-5,8-эпоксиретиновой кислоты. Полученный раствор перемешивают в течение 3 ч при комнатной температуре и затем обрабатывают обычным образом. Полученный неочищенный продукт очищают на диоксиде кремния RP-18 с использованием смеси MeOH-вода в качестве элюента и получают 170 мг продукта в виде бесцветного масла. После очистки натриевую соль метилового эфира N-(5,8-эпоксиретиноил)-L-цистеиновой кислоты растворяют в метаноле и хранят в атмосфере аргона в морозильнике.

ЯМР и масс-спектр высокого разрешения очищенного продукта соответствует ожидаемой структуре.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения производных N-ретиноиламиноалкансульфоновой кислоты формулы 1:



в которой n равно 0-2,

Z равно 2 или 3,

A означает связь или атом кислорода,

X и Y означают H или -OH или вместе означают =O,

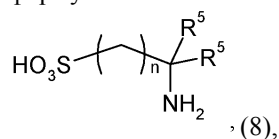
имеется двойная связь между атомами углерода 3 и 4 при условии, что X и Y означают H,

конфигурация двойных связей между атомами углерода 9 и 10, 11 и 12, и 13 и 14 может быть E- или Z-,

R¹ и R² независимо означают H, алкилы, включающие от 1-4 атомов углерода, или -COOH или его фармацевтически приемлемая соль, или COOR³, где R³ означает алкильную группу, включающую от 1 до 4 атомов углерода,

M означает фармацевтически приемлемый катион,
способ включает предоставление

i) первого раствора, включающего аминокансульфоновую кислоту, выбранную из группы, состоящей из цистеиновой кислоты и ее алкилового эфира, цистеинсульфиновой кислоты и ее алкилового эфира, гомоцистеиновой кислоты и ее алкилового эфира, гомоцистеинсульфиновой кислоты и ее алкиловых эфиров, таурина и его производного формулы 8



в которой n равно 0-2,

R⁵ независимо означает Н или метил, спирт, выбранный из алифатических спиртов, включающих от 1 до 4 атомов углерода и первое основание, представляющее собой триалкиламин,

ii) второго раствора, включающего ретиновую кислоту, хлорформиат, апротонный растворитель и триалкиламин в качестве второго основания,

добавление первого и второго растворов в реакционный сосуд в любом порядке, с получением реакционной смеси, включающей жидкую фазу, являющуюся единственной фазой, смешивание указанной реакционной смеси, где ретиновая кислота, аминокансульфоновая кислота и хлорформиат все являются растворимыми и содержатся в указанной жидкой фазе с образованием производных N-ретиноиламинокансульфоновой кислоты в указанной жидкой фазе при условиях, характеризующихся отсутствием окисляющих соединений.

2. Способ по п.1, в котором производные N-ретиноиламинокансульфоновой кислоты выбраны из алкилового эфира N-(13-цис-ретиноил)цистеиновой кислоты и алкилового эфира N-(полностью-транс-ретиноил)цистеиновой кислоты, ретиновая кислота выбрана из 13-цис-ретиновой кислоты или полностью-транс-ретиновой кислоты, и аминокансульфоновая кислота выбрана из алкилового эфира цистеиновой кислоты.

3. Способ по любому из пп.1 или 2, в котором спирт выбран из группы, состоящей из метанола или этанола, или их смеси.

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором апротонным растворителем является тетрагидрофуран.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором хлорформиат содержит алифатическую группу, включающую от 2 до 6 атомов углерода.

6. Способ по любому из пп.1-5, в котором хлорформиатом является изобутилхлорформиат.

7. Способ по п.1, в котором второе основание представляет собой триэтиламин.

8. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором жидкая фаза является единственной фазой без разделения фаз.

9. Способ по любому из предыдущих пунктов, в котором производные N-ретиноиламинокансульфоновой кислоты очищают с помощью препаративной хроматографии.

10. Способ по любому из пп.1-9, в котором алкильная группа производных N-ретиноиламинокансульфоновой кислоты и алкильная группа аминокансульфоновой кислоты включают от 1 до 3 атомов углерода.

11. Способ по п.10, в котором алкильной группой является метил.

