

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **236558**
(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **419617**

(22) Data zgłoszenia: **28.11.2016**

(51) Int. Cl.
C07F 9/10 (2006.01)
A61K 31/661 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **1'-(3,7,11,15-Tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-palmitoilo-sn-glicero-3'-fosfocholina
oraz sposób jej otrzymywania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
31.07.2017 BUP 16/17

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
25.01.2021 WUP 02/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

ANNA GLISZCZYŃSKA, Wrocław, PL
NATALIA NIEZGODA, Wrocław, PL
WITOLD GŁADKOWSKI, Wrocław, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 236558 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 1'-(3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-palmitoilo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina, o wzorze 1, przedstawionym na rysunku oraz sposób jej otrzymywania.

Wynalazek może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, chemicznym oraz jako środek w terapii chorób nowotworowych.

Celem wynalazku było opracowanie metody otrzymywania fosfatydylocholiny zawierającej w swojej strukturze diterpenowy kwas izoprenoidowy. Z opisu zgłoszenia P.418942 znana jest pochodna fosfolipidowa zawierająca cząsteczki kwasu 3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanowego jednocześnie w pozycji *sn*-1 i *sn*-2 fosfatydylocholiny. Znana jest z opisu wynalazku P.419067 również heteropodstawiona fosfatydylocholina, która posiada w pozycji *sn*-1 cząsteczkę kwasu palmitynowego i kwas 3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanowy w pozycji *sn*-2 oraz 2-lizofosfatydylocholina zawierająca kwas 3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanowy w pozycji *sn*-1 znana z opisu wynalazku P.419199.

Nie jest znana fosfatydylocholina zawierająca cząsteczkę kwasu 3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanowego w pozycji *sn*-1 i cząsteczkę kwasu palmitynowego w pozycji *sn*-2.

Istotą wynalazku jest 1'-(3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-palmitoilo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina, przedstawiona na rysunku oraz sposób jej otrzymywania.

Istotą sposobu otrzymywania fosfolipidu z cząsteczką kwasu 3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanowego, którym jest 1'-(3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-palmitoilo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina jest to, że kwas palmitynowy poddaje się reakcji estryfikacji z 1'-(3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-hydrokso-*sn*-glicero-3'-fosfatydylocholiną w obecności 4-dimetyloaminopirydyny z udziałem *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimidu jako czynnika sprzęgającego. Reakcję prowadzi się w środowisku bezwodnego chlorku metylenu przez co najmniej 24 godziny, a następnie wydziela powstały produkt.

Korzystnie jest, gdy proces estryfikacji prowadzi się w temperaturze od 18 do 55°C.

Sposób, według wynalazku, objaśniony jest bliżej na przykładzie wykonania.

P r z y k ł a d 1.

Do 81 mg (0,14 mmol) osuszonej 1'-(3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-hydrokso-*sn*-glicero-3'-fosfatydylocholiny rozpuszczonej w bezwodnym chlorku metylenu (CH_2Cl_2 , 1 cm^3) dodaje się 144 mg (0,56 mmol) kwasu palmitynowego rozpuszczonego w 3 cm^3 bezwodnego chlorku metylenu, 4-dimetyloaminopirydynę (DMAP) (34 mg, 0,28 mmol) rozpuszczoną w 3 cm^3 bezwodnego chlorku metylenu oraz *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid (DCC) (120 mg, 0,58 mmol) również rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu (CH_2Cl_2 , 3 cm^3). Zawiesinę miesza się intensywnie w temperaturze 40°C w atmosferze N_2 przez 72 godziny. Po tym czasie mieszaninę poreakcyjną odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Schotta, a do przesączu dodaje się żywicę jonowymienną formie H^+ i miesza przez 30 minut. Następnie żywicę jonowymienną odsącza się, a rozpuszczalnik odparowuje pod zmniejszonym ciśnieniem. Surowy produkt oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$, 65:25:4 (v/v/v). Otrzymuje się 75 mg (0,092 mmol) 1'-(3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-palmitoilo-*sn*-glicero-3'-fosfocholinę, z wydajnością 65% w postaci mazistej substancji.

Czystość potwierdzona przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) wynosiła >99%.

Dane spektroskopowe otrzymanego związku są następujące:

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)), δ: 0.60-0.64 (m, 18H, CH₃-20 (A), CH₃-20 (B), CH₃-21 (A), CH₃-21 (B), CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O) (A), CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O) (B)), 0.63 (d, *J* = 6.0 Hz, 12H, CH₃-16 (A), CH₃-16 (B), CH₃-22 (A), CH₃-22 (B)), 0.86 (s, 6H, CH₃-19 (A), CH₃-19 (B)), 0.82-1.15 (four m, 88H, CH₂-4 (A), CH₂-4 (B), CH₂-5 (A), CH₂-5 (B), CH₂-6 (A), CH₂-6 (B), CH₂-8 (A), CH₂-8 (B), CH₂-9 (A), CH₂-9 (B), CH₂-10 (A), CH₂-10 (B), CH₂-12 (A), CH₂-12 (B), CH₂-13 (A), CH₂-13 (B), CH₂-14 (A), CH₂-14 (B), H-7 (A), H-7 (B), H-11 (A), H-11 (B), CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O) (A), CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O) (B)), 1.28 (m, 2H, H-15 (A), H-15 (B)), 1.35-1.37 (m, 2H, CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O) (A), CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O) (B)), 2.06-2.12 (dwa m, 8H, CH₂-2 (A), CH₂-2 (B), CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O) (A), CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O) (B)), 2.98 (s, 18H, -N(CH₃)₃ (A), -N(CH₃)₃ (B)), 3.39 (m, 4H, CH₂-β (A), CH₂-β (B)), 3.77 (m, 4H, CH₂-3' (A), CH₂-3' (B)), 3.88 (m, 2H, jeden z CH₂-1' (A), jeden z CH₂-1' (B)), 4.02-4.07 (szeroki s, 4H, CH₂-α (A), CH₂-α (B)), 4.13 (m, 2H, jeden z CH₂-1' (A), jeden z CH₂-1' (B)), 4.69 (d, *J* = 17.4 Hz, 2H, jeden z CH₂-18 (A), jeden z CH₂-18 (B)), 4.76 (d, *J* = 10.8 Hz, 2H, H, jeden z CH₂-18 (A), jeden z CH₂-18 (B)), 4.96 (m, 2H, H-2' (A), H-2' (B)), 5.54 (dd, *J* = 17.4, 7.8 Hz, 2H, H-17 (A), H-17 (B));

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)), δ: 13.98 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O) (A), CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O) (B)), 18.98, 19.04, 19.11,

21.94, 22.04 ((C-16 (A), C-16 (B), C-22 (A), C-22 (B), C-20 (A), C-20 (B), C-21 (A), C-21 (B), C-19 (A), C-19 (B)), 21.03, 22.17, 22.38, 22.40, 23.97, 24.31, 24.32, 24.39, 28.65, 28.85, 28.87, 29.04, 29.17, 29.19, 29.21, 31.44, 36.80, 36.90, 36.96, 36.97, 37.18, 37.27, 38.91, 40.82, 40.85 (C-4 (A), C-4 (B), C-5 (A), C-5 (B), C-6 (A), C-6 (B), C-8 (A), C-8 (B), C-9 (A), C-9 (B), C-10 (A), C-10 (B), C-12 (A), C-12 (B), C-13 (A), C-13 (B), C-14 (A), C-14 (B), $\text{CH}_3(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_{12}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$ (A), $\text{CH}_3(\underline{\text{C}}\text{H}_2)_{12}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$ (B), 27.49 (C-15 (A), C-15 (B)), 32.25, 32.27, 32.29, 32.31 (C-7 (A), C-7 (B), C-11 (A), C-11 (B)), 33.75 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}(\text{O})$ (A), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{C}(\text{O})$ (B)), 38.76, 38.77 (C-3 (A), C-3 (B)), 44.60, 44.64 (C-2 (A), C-2 (B)), 53.58 (t, $J = 3.5$ Hz, $-\text{N}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ (A), $-\text{N}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ (B)), 58.90 (d, $J = 4.9$ Hz, C- α (A), C- α (B)), 61.89 (C-1' (A), C-1' (B)), 63.52 (d, $J = 5.4$ Hz, C-3' (A), C-3' (B)), 65.87 (m, C- β (A), C- β (B)), 69.87 (d, $J = 8.1$ Hz, C-2'(A)), 69.89 (d, $J = 8.0$ Hz, C-2'(B)), 111.60 (C-18 (A), C-18 (B)), 145.00 (C-17 (A), C-17 (B)), 171.42 (C-1 (A), C-1 (B)), 173.10 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\underline{\text{C}}(\text{O})$ (A), $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\underline{\text{C}}(\text{O})$ (B));

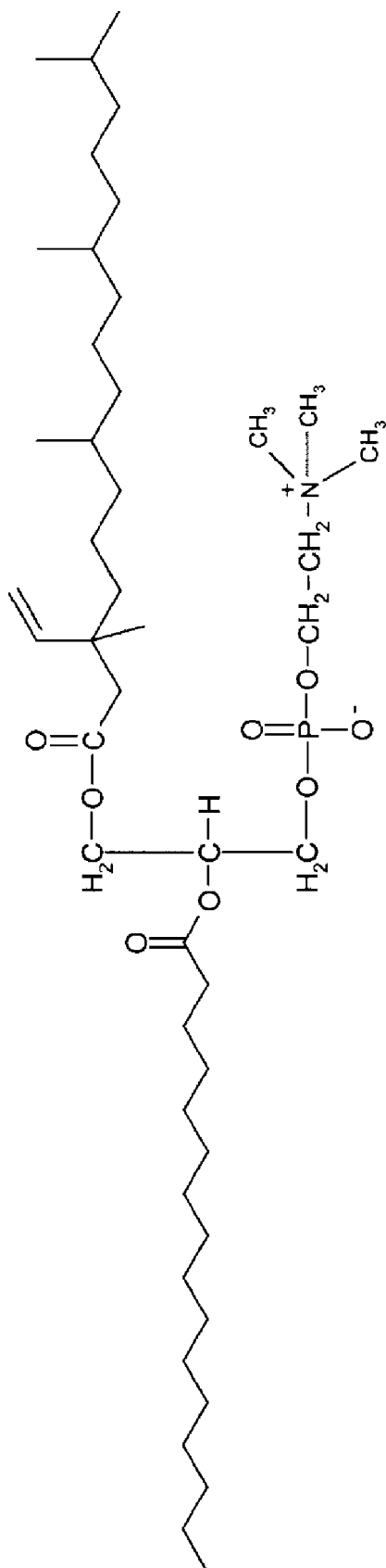
^{31}P NMR (243 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1 (v/v)), δ : -0.97;

(α , β) – oznacza sygnały pochodzące od choliny

Zastrzeżenia patentowe

- 1'- (3,7,11,15-Tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-palmitoilo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina, o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.
- Sposób otrzymywania fosfolipidowej pochodnej kwasu 3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanowego, **znamienny tym**, że kwas palmitynowy rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu poddaje się reakcji estryfikacji z 1'- (3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-hydroksy-*sn*-glicero-3'-fosfocholimą w obecności 4-dimetyloaminopirydyny, z udziałem czynnika sprzęgającego jakim jest *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid, przy czym reakcję prowadzi się w środowisku bezwodnego chlorku metylenu, a zawiesinę miesza się przez co najmniej jedną dobę, następnie wydziela się powstałą 1'- (3,7,11,15-tetrametylo-3-winyloheksadekanoilo)-2'-palmitoilo-*sn*-glicero-3'-fosfocholinę.
- Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że proces estryfikacji prowadzi się w temperaturze od 18 do 55°C.

Rysunek



Wzór 1