



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(21) Numer zgłoszenia: **418654**

(22) Data zgłoszenia: **12.09.2016**

(51) Int.Cl.

C07F 9/10 (2006.01)

A61K 31/662 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(54) **1',2'-Di{2-[(2"E)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo}acetylo-sn-glicero-3'-fosfocholina oraz sposób otrzymywania 1',2'-di{2-[(2"E)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo}acetylo-sn-glicero-3'-fosfocholiny**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

26.03.2018 BUP 07/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

18.05.2020 WUP 05/20

(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

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 1',2'-di[2-[(2"*E*)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo]acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina, o wzorze 1, przedstawionym na rysunku.

Przedmiotem wynalazku jest także sposób 1',2'-di[2-[(2"*E*)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo]acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholiny o wzorze 1.

Związek ten może znaleźć zastosowanie w terapii chorób nowotworowych jako składnik leków.

Norizoprenoidy, do których należy kwas 2-(2-butylideno-1,3,3-trimetylocykloheksylo)-octowy to grupa bioaktywnych związków wykazujących działanie hamujące w stosunku do komórek nowotworowych. Związki te działają na poziomie koordynacji regulacji fazy 2 cytoochronnych enzymów przy jednoczesnym hamowaniu indukcji enzymów prozapalnych (Gerhäuser C. i in., *Molecular Nutrition and Food Research*, 2009, 53, s. 1237).

Dotychczas badane pod kątem aktywności biologicznej norizoprenoidy były izolowane głównie ze źródeł naturalnych lub otrzymywane w wyniku syntezy chemicznej polegającej na wprowadzeniu do ich struktury dodatkowej funkcji tlenowej. Nie są jak dotąd znane połączenia związków norizoprenoidowych z fosfolipidami.

Istotą wynalazku jest 1',2'-di[2-[(2"*E*)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo]acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina zawierająca cząsteczki kwasu 2-(2-butylideno-1,3,3-trimetylocykloheksylo)-octowego w pozycjach *sn*-1 i *sn*-2 fosfatydylocholiny.

Istotą sposobu według wynalazku jest to, że rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu kwas 2-(2-butylideno-1,3,3-trimetylocykloheksylo)-octowy poddaje się reakcji estryfikacji kompleksem *sn*-glicero-3'-fosfocholiny z chlorkiem kadmu w obecności 4-dimetyloaminopirydyny stosując *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid jako czynnik sprzęgający. Reakcję prowadzi się w środowisku bezwodnego chlorku metylenu, otrzymując 1',2'-di[2-[(2"*E*)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo]acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholinę.

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

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie z wysoką wydajnością i czystością pochodnej 1,2-diizoprenoilo-*sn*-glicero-3'-fosfocholiny o wzorze 1.

Korzystnie również jest, gdy produkt oczyszcza się stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników CHCl₃:MeOH:H₂O, 65:25:4 w proporcji objętościowej.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania.

P r z y k ł a d 1

Osuszony kompleks *sn*-glicero-3'-fosfocholiny z chlorkiem kadmu (GPCx₂CdCl₂, 100 mg, 0.23 mmol) rozpuszcza się w bezwodnym chlorku metylenu (CH₂Cl₂, 1 cm³). Następnie do zawiesiny dodaje się roztwór kwasu 2-(2-butylideno-1,3,3-trimetylocykloheksylo)-octowego (219 mg, 0.92 mmol) w bezwodnym chlorku metylenu (4 cm³), 4-dimetyloaminopirydynę (DMAP) (56 mg, 0.46 mmol) rozpuszczoną w 1 cm³ bezwodnego chlorku metylenu oraz *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid (DCC) (190 mg, 0.97 mmol) rozpuszczony również w 1 cm³ bezwodnego chlorku metylenu. Całość miesza się intensywnie w temperaturze 40°C w atmosferze N₂ przez 72 godziny. Po tym czasie mieszaninę poreakcyjną odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Schotta, a do przesącza dodaje się żywicę jonowymienną (DOWEX 50W X8 w formie H⁺) i miesza przez 30 minut. Następnie żywicę jonowymienną odsącza się, a rozpuszczalnik odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem. Surowy produkt oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników CHCl₃:MeOH:H₂O, 65:25:4 (v/v/v). Otrzymuje się 98 mg (0,14 mmol) 1',2'-di[2-[(2"*E*)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo]acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholiny z cząsteczkami kwasu 2-(2-butylideno-1,3,3-trimetylocykloheksylo)-octowego w pozycjach *sn*-1 i *sn*-2 z wydajnością 62% w postaci maźnistej substancji o czystości >99% (wg HPLC).

Dane spektroskopowe otrzymanego związku są następujące:

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: 0.66-0.69 (dwa t, *J* = 7.2 Hz, 12H, CH₃-10_{sn-1} (A), CH₃-10_{sn-1} (B), CH₃-10_{sn-2} (A), CH₃-10_{sn-2} (B)), 0.96, 0.97, 0.98, 0.99 (four s, 36H, CH₃-11_{sn-1} (A), CH₃-11_{sn-1} (B), CH₃-11_{sn-2} (A), CH₃-11_{sn-2} (B), CH₃-12_{sn-1} (A), CH₃-12_{sn-1} (B), CH₃-12_{sn-2} (A), CH₃-12_{sn-2} (B), CH₃-13_{sn-1} (A), CH₃-13_{sn-1} (B), CH₃-13_{sn-2} (A), CH₃-13_{sn-2} (B)), 1.11-1.17 (m, 16H, CH₂-9_{sn-1} (A), CH₂-9_{sn-1} (B), CH₂-9_{sn-2} (A), CH₂-9_{sn-2} (B), jeden z CH₂-6_{sn-1} (A), jeden z CH₂-6_{sn-1} (B), jeden z CH₂-6_{sn-2} (A), jeden z CH₂-6_{sn-2} (B), jeden z CH₂-5_{sn-1} (A), jeden z CH₂-5_{sn-1} (B), jeden z CH₂-5_{sn-2} (A), jeden z CH₂-5_{sn-2} (B)), 1.31-1.40 (m, 12H, CH₂-4_{sn-1} (A), CH₂-4_{sn-1} (B), CH₂-4_{sn-2} (A), CH₂-4_{sn-2} (B), jeden z CH₂-5_{sn-1} (A), jeden z CH₂-5_{sn-1} (B), jeden z CH₂-5_{sn-2} (A), jeden z CH₂-5_{sn-2} (B)), 1.49-1.54 (m, 4H, jeden z CH₂-6_{sn-1} (A),

jeden z CH₂-6_{sn-1} (B), jeden z CH₂-6_{sn-2} (A), jeden z CH₂-6_{sn-2} (B)), 1.89-1.99 (m, 4H, CH₂-8_{sn-1} (A), CH₂-8_{sn-1} (B), CH₂-8_{sn-2} (A), CH₂-8_{sn-2} (B)), 2.11-2.41 (dwa m, 8H, CH₂-14_{sn-1} (A), CH₂-14_{sn-1} (B), CH₂-14_{sn-2} (A), CH₂-14_{sn-2} (B)), 2.99 (s, 18H, -N(CH₃)₃ (A), -N(CH₃)₃ (B)), 3.38 (m, 4H, CH₂-β (A), CH₂-β (B)), 3.70-3.75 (m, 4H, CH₂-3' (A), CH₂-3' (B)), 3.84-3.92 (m, 2H, jeden z CH₂-1' (A), jeden z CH₂-1' (B)), 3.99-4.04 (szeroki s, 2H, CH₂-α (A), CH₂-α (B)), 4.05-4.11 (m, 2H, jeden z CH₂-1' (A), jeden z CH₂-1' (B)), 4.90-4.96 (m, 2H, H-2' (A), H-2' (B)), 4.97-5.01 (m, 4H, H-7_{sn-1} (A), H-7_{sn-1} (B), H-7_{sn-2} (A), H-7_{sn-2} (B));

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: 13.27 (C-10_{sn-1} (A), C-10_{sn-1} (B), C-10_{sn-2} (A), C-10_{sn-2} (B)), 17.03, 17.06 (C-4_{sn-1} (A), C-4_{sn-1} (B), C-4_{sn-2} (A), C-4_{sn-2} (B)), 23.27, 23.28 (C-9_{sn-1} (A), C-9_{sn-1} (B), C-9_{sn-2} (A), C-9_{sn-2} (B)), 29.92, 29.97, 30.13, 30.15, 30.23 (C-11_{sn-1} (A), C-11_{sn-1} (B), C-11_{sn-2} (A), C-11_{sn-2} (B), C-12_{sn-1} (A), C-12_{sn-1} (B), C-12_{sn-2} (A), C-12_{sn-2} (B)), 30.59, 30.69, 30.77, 30.90 (C-13_{sn-1} (A), C-13_{sn-1} (B), C-13_{sn-2} (A), C-13_{sn-2} (B)), 31.79, 31.81 (C-8_{sn-1} (A), C-8_{sn-1} (B), C-8_{sn-2} (A), C-8_{sn-2} (B)), 34.85 (C-3_{sn-1} (A), C-3_{sn-1} (B), C-3_{sn-2} (A), C-3_{sn-2} (B)), 35.22 (C-6_{sn-1} (A), C-6_{sn-1} (B), C-6_{sn-2} (A), C-6_{sn-2} (B)), 39.04, 39.05 (C-1_{sn-1} (A), C-1_{sn-1} (B), C-1_{sn-2} (A), C-1_{sn-2} (B)), 40.72, 40.76 (C-5_{sn-1} (A), C-5_{sn-1} (B), C-5_{sn-2} (A), C-5_{sn-2} (B)), 47.02, 47.04, 47.09, 47.19 (C-14_{sn-1} (A), C-14_{sn-1} (B), C-14_{sn-2} (A), C-14_{sn-2} (B)), 53.61 (t, J = 3.6 Hz, -N(CH₃)₃ (A), -N(CH₃)₃ (B)), 58.61 (d, J = 4.8 Hz, C-α (A), C-α (B)), 62.05, 62.10 (C-1' (A), C-1' (B)), 63.08 (d, J = 4.9 Hz, C-3' (A), C-3' (B)), 66.02 (m, C-β (A), C-β (B)), 69.78 (d, J = 8.0 Hz, C-2' (A)), 69.82 (d, J = 8.6 Hz, C-2' (B)), 126.39, 126.40, 126.47, 126.51 (C-7_{sn-1} (A), C-7_{sn-1} (B), C-7_{sn-2} (A), C-7_{sn-2} (B)), 148.83, 148.88, 149.10, 149.15 (C-2_{sn-1} (A), C-2_{sn-1} (B), C-2_{sn-2} (A), C-2_{sn-2} (B)), 171.25, 171.73 (C-15_{sn-1} (A), C-15_{sn-1} (B), C-15_{sn-2} (A), C-15_{sn-2} (B));

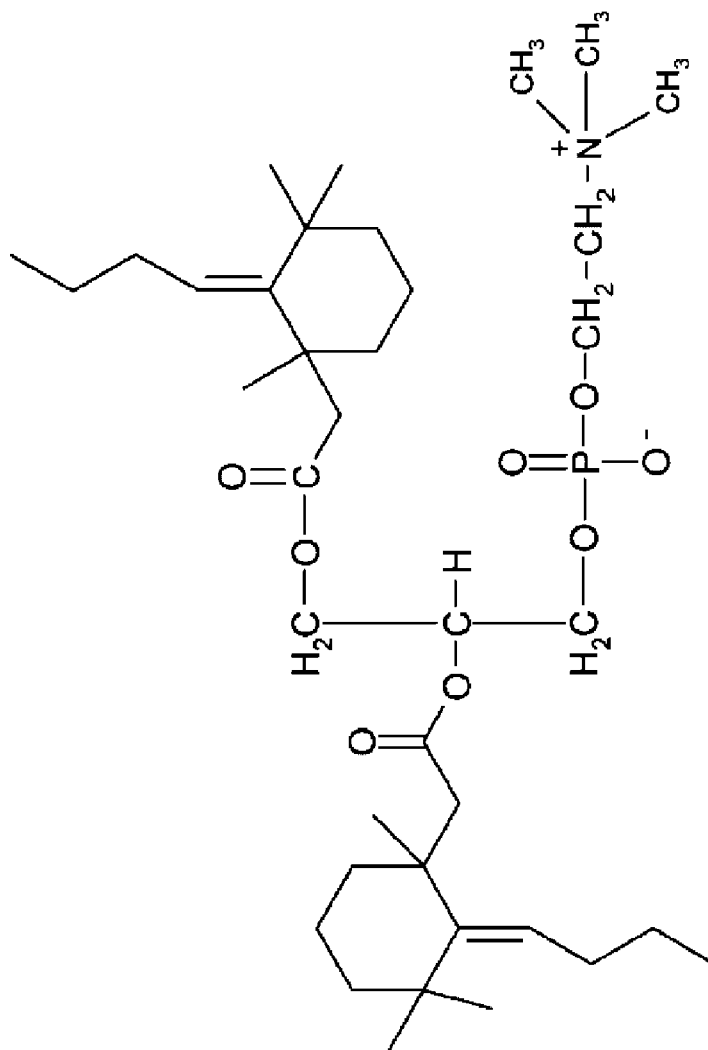
³¹P NMR (243 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: -0,67;

(α, β) – oznacza sygnały pochodzące od choliny

Zastrzeżenia patentowe

- 1,2'-di{2-[(2"E)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo}acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.
- Sposób otrzymywania 1,2'-di{2-[(2"E)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo}acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholiny, **znamienny tym**, że kwas 2-(2-butylideno-1,3,3-trimetylocykloheksylo)-octowy, rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu, poddaje się reakcji estryfikacji kompleksem *sn*-glicero-3'-fosfocholiny i chlorku kadmu 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, a następnie mieszaninę poreakcyjną odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Schotta, do przesączu dodaje się żywicę jonowymienną w formie H⁺, miesza przez co najmniej 30 minut, żywicę jonowymienną odsącza się, rozpuszczalnik odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, a surowy produkt jakim jest 1,2'-di{2-[(2"E)-2"-butylideno-1",3",3"-trimetylo]cykloheksylo}acetylo-*sn*-glicero-3'-fosfocholina oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej.
- Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że proces estryfikacji prowadzi się w temperaturze od 18 do 55°C.
- Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że produkt oczyszcza się stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników CHCl₃:MeOH:H₂O, 65:25:4 w proporcji objętościowej.

Rysunek



Wzór 1