

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **240436**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **421983**

(22) Data zgłoszenia: **22.06.2017**

(51) Int.Cl.

C07F 9/10 (2006.01)

C07C 67/14 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(54)

2-Hydroksyfosfatydylocholiny oraz sposób ich otrzymywania

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

02.01.2019 BUP 01/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

04.04.2022 WUP 14/22

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MAREK KŁOBUCKI, Lubin, PL
ALEKSANDRA GRUDNIEWSKA, Wrocław, PL
BARTOSZ KOCBACH, Wrocław, PL
GABRIELA MACIEJEWSKA, Wrocław, PL
MACIEJ UGORSKI, Wrocław, PL
CZESŁAW WAWRZEŃCZYK, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 240436 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku są 1-acylo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholiny o wzorach 1, 2 i 3, oraz sposób ich otrzymywania.

Pochodne fosfolipidy według wynalazku mogą znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym jako składniki preparatów o działaniu przeciwzapalnym i przeciwbólowym.

Naproksen, ketoprofen oraz flurbiprofen należą do niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), a chemicznie do pochodnych kwasu 2-arylopropionowego. Leki te są powszechnie stosowane w preparatach leczniczych, w tym również dostępnych bez recepty. Farmaceutyki te wykazują przede wszystkim silne działanie przeciwzapalne oraz przeciwbólowe (Cashman J., *Drugs*, 1996, 52, s. 13–23). Związki te są stosowane powszechnie w leczeniu chorób zwyrodnieniowych stawów, w tym reumatoidalnego zapalenia stawów (Möller B. i inni, *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2015, 74(4), s. 718–723). Ponadto niektóre z nich działają przeciwgorączkowo i z powodzeniem mogą być stosowane w przeziębieniach czy grypie. Jak większość leków z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych, związki te posiadają skutki uboczne. Długotrwałe stosowanie tych leków prowadzi do nieżytu żołądka oraz krwawień z przewodu pokarmowego (Rainsford K., *The American Journal of Medicine*, 1999, 107(6), s. 27–35).

Fosfolipidy są naturalnymi związkami budującymi błonę komórkową każdego organizmu żywego. Dzięki budowie amfifilowej cząsteczki te charakteryzują się wysoką biodostępnością oraz nie wykazują toksyczności (Jing L. i inni, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 10, s. 81–98). Ponadto, mogą tworzyć bardziej złożone struktury (liposomy), które znacznie ułatwiają transport międzykomórkowy.

Celem wynalazku było opracowanie metody otrzymywania nowych produktów – fosfolipidowych pochodnych zawierających cząsteczkę naproksenu, ketoprofenu lub flurbiprofenu w pozycji *sn*-1. Fosfolipid pełni w tym wypadku rolę nośnika leku, ułatwiając jego wnikanie do komórek oraz redukuje niekorzystne oddziaływanie leków na układ pokarmowy.

Nie jest znana fosfatydylocholina zawierająca cząsteczkę naproksenu albo ketoprofenu albo flurbiprofenu w pozycji *sn*-1 fosfatydylocholiny.

Istotą wynalazku jest 1-acylo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholina oraz sposób jej otrzymywania.

Istotą sposobu według wynalazku jest to, że chlorek niesteroidowego leku przeciwzapalnego poddaje się reakcji z acetalem *sn*-glicero-3-fosfocholiny (GPC) i tlenku dibutylocyny(IV) (DBTO) rozpuszczonych w propan-2-olu w obecności trietyloaminy (TEA). Całość miesza się przez co najmniej godzinę w temperaturze pokojowej, a surowy produkt, którym jest 1-acylo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholina wydzielą się za pomocą chromatografii kolumnowej.

Korzystnie jest, gdy niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym jest naproksen.

Korzystnie także jest, gdy niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym jest ketoprofen.

Korzystnie również jest, gdy niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym jest flurbiprofen.

Sposób, według wynalazku, przedstawiony jest bliżej na przykładach wykonania.

P r z y k ł a d 1. Chlorki niesteroidowych leków przeciwzapalnych zostały otrzymane metodami opisanymi w literaturze (Huang Z. i inni, *Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 54, str. 1360, Doulgkeris C. M. i inni, *Medicinal Chemistry Research*, 2012, 21, str. 2286, Patent nr US6987120 B1, str. 16).

W kolbie okrągłodennej, do 0,250 g (0,97 mmola) *sn*-glicero-3-fosfocholiny (GPC) dodaje się 0,242 g (0,97 mmola) tlenku dibutylocyny (DBTO). Całość zawieszają w 15 cm³ propan-2-olu i ogrzewają przez co najmniej godzinę pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Po zakończonej reakcji mieszaninę ochładza się do temperatury pokojowej, dodaje trietyloaminę (TEA) (0,203 cm³, 1,46 mmola), a następnie chlorek naproksenu (0,363 g, 1,46 mmola) i miesza się przez co najmniej 30 minut. Po zakończeniu reakcji (TLC, HPLC) rozpuszczalnik odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem, w wyniku czego otrzymuje się 1-[S-2'-(6"-metoksynaftalenylo)]propanoilo-2-lizo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny (wzór 1), którą oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent mieszaninę CHCl₃ : CH₃OH : H₂O 65:25:4 (v/v/v). Otrzymuje się 0,318 g (wydajność 70%) produktu w postaci lekko różowego ciała stałego o temperaturze topnienia 162–164°C. TLC R_f: 0,43 (CHCl₃ : CH₃OH : H₂O 65:25:4 v/v/v). Dane spektroskopowe i właściwości fizyczne tak otrzymanego związku przedstawione są poniżej:

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃:CD₃OD, 2:1, v/v) δ: 1,54 (d, J = 7,2 Hz, 3H, CH₃-3'), 3,08 (s, 9H, N(CH₃)₃), 3,44 (m, 2H, CH₂-β), 3,79 (m, 1H, jeden z CH₂-3), 3,85 (m, 1H, jeden z CH₂-3), 3,88 (s, 3H, O-CH₃), 3,89-3,93 (m, 2H, H-2' i H-2), 4,07 (dd, J = 11,4, 6,1 Hz, 1H, jeden z CH₂-1'), 4,13 (m, 2H, CH₂-α),

4,18 (dd, $J = 11,4, 5,0$ Hz, 1H, jeden z CH_2 -1), 7,09-7,13 (m, 2H, H-5" i H-7"), 7,37 (m, 1H, H-10"), 7,64 (s, 1H, H-2"), 7,67-7,70 (m, 2H, H-4" i H-9").

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : 17,84 (C-3'), 44,85 (C-2'), 53,41, 53,44 i 53,46 ($\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 54,68 (O- CH_3), 58,55 (d, $J_{\text{C-P}} = 5,0$ Hz, C- α), 64,75 (C-1), 65,80 (C- β), 66,24 (d, $J_{\text{C-P}} = 5,7$ Hz, C-3), 68,06 (d, $J_{\text{C-P}} = 6,7$ Hz, C-2), 105,14 (C-7"), 118,47 (C-5"), 125,41 (C-2"), 125,72 (C-10"), 126,72 i 128,77 (C-4" i C-9"), 128,48 (C-3"), 133,30 (C-8"), 135,12 (C-1"), 157,24 (C-6"), 174,63 (C-1').

^{31}P NMR (243 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : -0,30.

ESI-MS m/z wyliczone dla $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{NO}_8\text{P}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ - 470,1944, oznaczone 470,1961.

P r z y k ł a d 2. Postępuje się jak w przykładzie 1 z tym, że w reakcji z *sn*-glicero-3-fosfocholiną (GPC) 0,250 g (0,97 mmola) stosuje się chlorek *rac*-ketoprofenu (0,398 g, 1,46 mmola).

Dalej postępuje się jak w przykładzie 1.

Otrzymuje się 0,230 g 1-[2'-(3"-benzoilofenylo)]propanoilo-2-lizo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny (wzór 2) w postaci bezbarwnego woskowatego produktu z wydajnością 48%. TLC R_f : 0,46 (CHCl_3 : CH_3OH : H_2O 65:25:4 v/v/v). Właściwości fizyczne i dane spektroskopowe otrzymanego związku przedstawione są poniżej:

^1H NMR (600 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : 1,52 (dwa d, $J = 6,8$ Hz, 3H, CH_3 -3'), 3,18 (s, 9H, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 3,61 (m, 2H, CH_2 - β), 3,80 (m, 1H, jeden z CH_2 -3), 3,85 (dwa kw, $J = 7,1$ Hz, 1H, H-2'), 3,86 (m, 1H, jeden z CH_2 -3), 3,93 (m, 1H, H-2), 4,07 (m, 1H, jeden z CH_2 -1), 4,17 (m, 1H, jeden z CH_2 -1), 4,25 (m, 2H, CH_2 - α), 7,44 (m, 1H, H-5"), 7,46-7,50 (m, 2H, H-10" i H-12"), 7,55 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-6"), 7,58-7,62 (m, 2H, H-4" i H-11"), 7,71 (s, 1H, H-2"), 7,73-7,76 (m, 2H, H-9" i H-13").

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : 17,79 (C-3'), 44,71 (C-2'), 53,50 i 53,53 ($\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 58,84 (d, $J_{\text{C-P}} = 4,6$ Hz, C- α), 64,94 i 65,06 (C-1), 65,79 (m, C- β), 66,40 (m, C-3), 67,93 i 67,98 (dwa d, $J_{\text{C-P}} = 6,6$ Hz, C-2), 127,95 (C-10" i C-12"), 128,18, 128,44 i 128,63 (C-4", C-5", C-2"), 129,54 (C-9" i C-13"), 131,44 (C-6"), 132,41 (C-11"), 136,73 (C-8"), 137,30 (C-1"), 140,40 (C-3"), 173,97 i 173,99 (C-1'), 196,98 (C-7").

^{31}P NMR (243 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : -0,88.

ESI-MS m/z wyliczone dla $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{NO}_8\text{P}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ - 494,1944, oznaczone 494,2347.

P r z y k ł a d 3. Postępuje się jak w przykładzie 1 z tym, że w reakcji z *sn*-glicero-3-fosfocholiną (GPC) 0,250 g (0,97 mmola) stosuje się chlorek *rac*-flurbiprofenu (0,384 g, 1,46 mmola).

Dalej postępuje się jak w przykładzie 1.

Otrzymuje się 0,144 g 1-[2'-(3"-fluoro-4"-fenylofenylo)]propanoilo-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholiny (wzór 3) w postaci bezbarwnego produktu o mazistej konsystencji z wydajnością 31%. TLC R_f : 0,44 (CHCl_3 : CH_3OH : H_2O 65:25:4 v/v/v). Dane spektroskopowe i stałe fizyczne tak otrzymanego związku przedstawione są poniżej:

^1H NMR (600 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : 1,50 i 1,51 (dwa d, $J = 7,1$ Hz, 3H, CH_3 -3'), 3,13 i 3,14 (dwa s, 9H, $\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 3,53 (m, 2H, CH_2 - β), 3,76-3,82 (m, 2H, H-2' i jeden z CH_2 -3), 3,84-3,90 (m, 1H, jeden z CH_2 -3), 3,90-3,95 (m, 1H, H-2), 4,08 (dd, $J = 11,5, 6,0$ Hz, 1H, jeden z CH_2 -1), 4,09 (dd, $J = 11,5, 4,8$ Hz, 1H, jeden z CH_2 -1), 4,16 (dd, $J = 11,5, 6,6$ Hz, 1H, jeden z CH_2 -1), 4,19 (dd, $J = 11,5, 5,1$ Hz, 1H, jeden z CH_2 -1), 4,19 (m, 2H, CH_2 - α), 7,08-7,12 (m, 1H, H-2"), 7,12-7,15 (m, 1H, H-6"), 7,31-7,34 (m, 1H, H-10"), 7,35-7,39 (m, 1H, H-5"), 7,39-7,43 (m, 2H, H-9" i H-11"), 7,47-7,51 (m, 2H, H-8" i H-12").

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : 17,73 i 17,76 (C-3'), 44,46 (C-21), 53,59, 53,61 i 53,64 ($\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 58,70 (d, $J = 5,1$ Hz, C- α), 65,04 i 65,17 (C-1), 65,94 (m, C- β), 66,42 i 66,46 (d, $J = 5,9$ Hz, C-3), 68,15 i 68,20 (d, $J = 6,4$ Hz, C-2), 114,66 i 114,82 (C-2"), 123,27 i 123,29 (C-6"), 127,30 (C-10"), 128,04 (C-9" i C-11"), 128,09 (C-4"), 128,45 i 128,47 (C-8" i C-12"), 130,40 i 130,42 (C-5"), 135,00 (C-1"), 141,33 i 141,38 (C-7"), 158,39 i 160,03 (C-3"), 173,99 i 174,02 (C-1').

^{31}P NMR (243 MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}$, 2:1, v/v) δ : -0,21.

ESI-MS m/z wyliczone dla $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{FNO}_7\text{P}$: $[\text{M}+\text{H}]^+$ - 484,1900, oznaczone 484,1892.

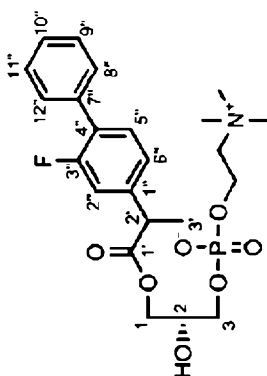
Zastrzeżenia patentowe

- 1-Acylo-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholiny, o wzorach 1, 2 i 3 przedstawione na rysunku.
- Sposób otrzymywania 1-acylo-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholiny, **znamienny tym**, że chlorek niesteroidowego leku przeciwzapalnego poddaje się reakcji z acetalem *sn*-glicero-3-fosfocholiny (GPC) i tlenku dibutylocyny(IV) (DBTO) w obecności trietyloaminy (TEA), przy czym

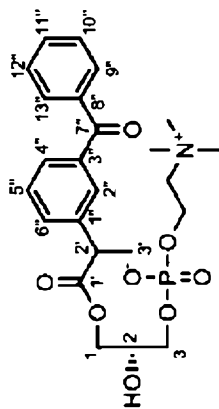
reakcję prowadzi się w propan-2-olu przez co najmniej jedną godzinę, a otrzymaną 1-acylo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholinę oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej:

3. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym jest naproksen.
4. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym jest ketoprofen.
5. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że niesteroidowym lekiem przeciwzapalnym jest flurbiprofen.

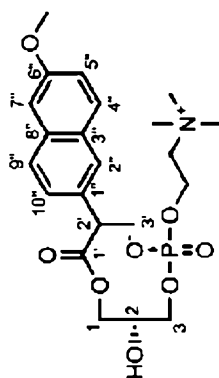
Rysunki



Wzór 3



Wzór 2



Wzór 1