

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235463**
(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426423**

(51) Int.Cl.
C07C 67/04 (2006.01)
C07F 9/10 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **24.07.2018**

(54) **1,2-Di(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina oraz sposób otrzymywania
1,2-di(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholiny**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
27.01.2020 BUP 03/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
10.08.2020 WUP 11/20

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

**ANNA GLISZCZYŃSKA, Wrocław, PL
MARTA CZARNECKA, Rokietnica, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 235463 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 1,2-di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, o wzorze 3, przedstawionym na rysunku oraz sposób jej otrzymywania.

Pochodna fosfatydylocholiny według wynalazku może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym jako środek wspomagający terapię antynowotworową oraz w przemyśle kosmetycznym jako aktywny składnik kremów.

Fosfatydylocholina będąca między innymi głównym składnikiem błon komórkowych organizmów żywych może być cząsteczką transportującą, która wykazując brak toksyczności i biokompatybilność względem błon komórkowych jest w stanie warunkować transport innych aktywnych związków/leków do wnętrza komórki docelowej.

Metoksylowe pochodne kwasu cynamonowego powszechnie występują w surowcach roślinnych. Są obecne m.in. w orzechu ziemnym (*Arachis hypogaea*) (Sobolev i in., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54, s.3505) oraz orliku pospolitym (*Aquilegia vulgaris*) (Bylka, Acta Poloniae Pharmaceutica, 2004, 61, s.307) i charakteryzują się szerokim spektrum potwierdzonych właściwości prozdrowotnych, z których należy wyróżnić głównie ich aktywność cytotoksyczną względem komórek nowotworowych. Hudson i in. w badaniach *in vitro*, udowodnili aktywność antyproliferacyjną kwasu 4-metoksycynamonowego w stosunku do komórek ludzkiego nowotworu jelita grubego linii HT29 (Hudson i in., Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, 2000, 9, s. 1163), natomiast Sivagami i in. dowiedli w badaniach na szczurach, że suplementacja gryzoni wspomnianym kwasem prowadzi do zmniejszenia istniejących zmian nowotworowych (Sivagami i in. Chemico-Biological Interactions, 2012, 196, s.11). Ponadto pochodne kwasu cynamonowego posiadające grupę metoksylową w pozycji *orto*, *meta* lub *para* wykazują w badaniach na modelu zwierzęcym właściwości łagodzące hepatotoksyczne właściwości tetrachlorku węgla (CCl₄) (Lee i in., 2002, 68, s.407). Doświadczalnie potwierdzono również, że wspomniane związki te mogą również znaleźć zastosowanie w kosmetologii w leczeniu przebarwień skóry poprzez zdolność inhibicji tyrozynazy (Shi i in., Food Chemistry, 2005, 92, s.707).

Nie jest znana fosfatydylocholina zawierająca cząsteczkę kwasu 3-metoksycynamonowego jednocześnie w pozycji *sn*-1 i *sn*-2.

Celem wynalazku było opracowanie metody otrzymywania nowego produktu – fosfolipidowej pochodnej zawierającej cząsteczkę kwasu 3-metoksycynamonowego w pozycji *sn*-1 i *sn*-2 fosfatydylocholiny, która pełni w tym wypadku rolę, nośnika aktywnego biologicznie kwasu ułatwiając jego wnikanie do komórek żywych i zwiększając, biodostępność w układach biologicznych.

Istotą wynalazku jest 1,2-di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina.

Istotą sposobu otrzymywania fosfolipidy z cząsteczką kwasu 3-metoksycynamonowego, jakim jest 1,2-di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, jest to, że kwas 3-metoksycynamonowy oraz kompleks *sn*-glicero-3-fosfocholiny i chlorku kadmu w obecności 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyny z udziałem czynnika sprzęgającego jakim jest *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid, rozpuszczone w bezwodnym chlorku metylenu albo chloroformie, poddaje się reakcji estryfikacji. Reakcję prowadzi się przez co najmniej 24 godziny, następnie wydziela się powstałą 1,2-di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholiny o wzorze 3 i oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej.

Korzystnie jest, gdy proces estryfikacji prowadzi się w temperaturze od 18 do 60°C.

Korzystnie również jest, gdy reakcję prowadzi się przez 72 godziny.

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

P r z y k ł a d 1

Do osuszonego: kompleksu soli kadmowej z *sn*-glicero-3-fosfocholiny o wzorze 2 (GPCxCdCl₂, 3-metoksycynamonowy o wzorze 1 (164 mg, 0,92 mmol), rozpuszczony w 2 cm³ bezwodnego chlorku metylenu, następnie dodaje się 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydynę (DMAP) (56 mg, 0,46 mmol) oraz *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid (DCC) (200 mg, 0,97 mmol) każdy rozpuszczony w 2 cm³ bezwodnego chlorku metylenu. Zawiesinę 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 Shotta, 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 123 mg (0,213 mmol) diacylo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny z cząsteczkami kwasu 3-metoksycynamonowego w pozycji *sn*-1 i *sn*-2 z wydajnością 94% w postaci mazistej substancji.

Współczynnik podziału (R_f) w cienkowarstwowej chromatografii cieczowej wyniósł 0,37 ($\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$, 65:25:4 (v/v/v)).

Dane spektroskopowe otrzymanego związku, którym jest 1,2-di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, są następujące:

^1H NMR (600 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1 (v/v)), δ : 2,99 (s, 9H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 3,43 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\beta$), 3,56, 3,57 (dwa s, 6H, 2 x $-\text{OCH}_3$), 3,91 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}3'$), 4,08 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-}\alpha$), 4,19 (m, 1H, jeden z $\text{CH}_2\text{-}1'$), 4,33 (m, 1H, jeden z $\text{CH}_2\text{-}1'$), 5,21 (m, 1H, H-2''), 6,21 (dwa d, $J = 16,0$ Hz, 2H, H-2 $_{sn-1}$, H-2 $_{sn-2}$), 6,69-6,71 (m, 2H, H-4'' $_{sn-1}$, H-4'' $_{sn-2}$), 6,78-6,85 (m, 2H, H-2'' $_{sn-1}$, H-2'' $_{sn-2}$), 6,86-6,89 (m, 2H, H-6'' $_{sn-1}$, H-6'' $_{sn-2}$), 7,02-7,06 (m, 2H, H-5'' $_{sn-1}$, H-5'' $_{sn-2}$), 7,41 (dwa d, $J = 16,0$ Hz, 2H, H-3 $_{sn-1}$, H-3 $_{sn-2}$).

^{13}C NMR (150 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1 (v/v)) δ : 53,46 ($-\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 54,57, 54,58 (2 x OCH_3), 58,81 (C- α), 62,45 (C-1'), 63,41 (C-3'), 65,84 (C- β), 70,44 (C-2'), 112,61, 112,72 (C-2'' $_{sn-1}$, C-2'' $_{sn-2}$), 115,90, (C-4'' $_{sn-1}$, C-4'' $_{sn-2}$), 116,80, 116,91 (C-2 $_{sn-1}$, C-2 $_{sn-2}$), 120,35 (C-6'' $_{sn-1}$, C-6'' $_{sn-2}$), 129,40, 129,47 (C-5'' $_{sn-1}$, C-5'' $_{sn-2}$), 134,84, 134,89 (C-1'' $_{sn-1}$, C-1'' $_{sn-2}$), 145,39, 145,64 (C-3 $_{sn-1}$, C-3 $_{sn-2}$), 159,46, 159,50 (C-3'' $_{sn-1}$, C-3'' $_{sn-2}$), 166,17, 166,52 (C-1 $_{sn-1}$ i C-1 $_{sn-2}$).

^{31}P NMR (121 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1 (v/v)) δ : -3,44.

Zastrzeżenia patentowe

- 1,2-Di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, o wzorze 3 przedstawionym na rysunku.
- Sposób otrzymywania 1,2-di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholiny, **znamienny tym**, że kwas, 3-metoksycynamonowy o wzorze 1, oraz kompleks *sn*-glicero-3-fosfocholiny i chlorku kadmu, o wzorze 2, w obecności 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyny, z udziałem czynnika sprzęgającego jakim jest *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid, rozpuszczone w bezwodnym chlorku metylenu albo chloroformie, poddaje się reakcji estryfikacji, przy czym reakcję prowadzi się przez co najmniej 24 godziny, następnie wydziela się powstałą 1,2-di(3metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholinę o wzorze 3 i oczyszcza się za pomocą chromatografii kolumnowej.
- Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że proces estryfikacji prowadzi się w temperaturze od 18 do 60°C.
- Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się przez 72 godziny.

Rysunek

