

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **239131**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426554**

(51) Int.Cl.

C07F 9/10 (2006.01)

C07C 67/08 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **06.08.2018**

(54) **1-(3-Metoksycynamoilo)-2-palmitoilo-sn-glicero-3-fosfocholina
oraz sposób otrzymywania
1-(3-metoksycynamoilo)-2-palmitoilo-sn-glicero-3-fosfocholiny**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

10.02.2020 BUP 04/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

08.11.2021 WUP 32/21

(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 239131 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest fosfolipidowa pochodna kwasu 3-metoksycynamonowego, 1-(3-metoksycynamoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, o wzorze 2, przedstawionym na rysunku oraz sposób jej otrzymania.

Związek ten może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym między innymi jako środek wspomagający terapię chorób nowotworowych, a także w przemyśle kosmetycznym jako składnik formułacji kosmetycznych.

Metoksylowe pochodne kwasu cynamonowego występują w wielu gatunkach roślinach i surowcach z nich otrzymywanych m.in. w syropie klonowym (Abou-Zaid i in., *Pharmaceutical Biology*, 2008, 46, s.117), cynamonowcu cejlońskim (*Cinnamomum zeylanicum*) (Hameed i in. *Oriental Journal of Chemistry*, 2016, 32, s.1769) oraz orzechu ziemnym (*Arachis hypogaea*) (Sobolev i in., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54, s. 3505) i charakteryzują się szerokim spektrum właściwości prozdrowotnych.

Kwas cynamonowy zawierający grupę metoksylową przyłączoną w pozycji *orto*, *meta* lub *para* pierścienia aromatycznego posiada zwiększoną aktywność przeciwutleniającą (Avanesyan, *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2009, 43, s. 249). Wspomniane pochodne w badaniach *in vitro* wykazały również właściwości przeciwnowotworowe w stosunku do linii komórek ludzkiego raka jelita grubego (HT29) (Hudson i in., *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 2000, 9, s. 1163) oraz gruczolakoraka okrężnicy (HCT-116) (Gunasekaran i in., *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2015, 40, s. 966). Ponadto kwas 4-metoksycynamonowy wykazuje właściwości neuroochronne poprzez zmniejszenie patologicznego napływu jonów wapnia oraz inhibicji nadprodukcji tlenu azotu pod wpływem neurotoksycznego działania glutaminianu (Kim i in., *British Journal of Pharmacology*, 2002, 135, s. 1281). Udowodniono także, że związek ten znacznie zmniejsza deficyt pamięci wywołany skopolaminą u gryzoni, dzięki czemu w przyszłości może służyć jako skuteczny terapeutyk w leczeniu amnezji (Kim i in., *Cognitive Brain Research*, 2003, 17, s. 454).

Nie jest znana fosfatydylocholina zawierająca kwas 3-metoksycynamonowy w pozycji *sn*-1 i kwas palmitynowy w pozycji *sn*-2. Dotychczas znane są fosfolipidowe pochodne kwasu 3-metoksycynamonowego takiej jak: z opisu zgłoszenia P.426423 znana jest 1,2-di(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, z opisu zgłoszenia P.426425 1-palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina oraz z opisu P.426427, znana jest 1-(3-metoksycynamoilo)-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholina.

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

Istotą wynalazku jest 1-(3-metoksycynamoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina przedstawiona na rysunku oraz sposób jej otrzymania.

Istotą sposobu otrzymania fosfolipidu z cząsteczką kwasu 3-metoksycynamonowego, jakim jest 1-(3-metoksycynamoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, jest to, że kwas palmitynowy rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu albo chloroformie, poddaje się reakcji estryfikacji z 1-(3-metoksycynamoilo)-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholimą w obecności 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyny z udziałem czynnika sprzęgającego jakim jest *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid. Całość miesza się przez co najmniej 1 dobę, a następnie wydziela powstały produkt 1-(3-metoksycynamoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholimą o wzorze 2.

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 67 mg (0,161 mmol) znanej i osuszonej 1-(3-metoksycynamoilo)-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholiny o wzorze 1 rozpuszczonej w bezwodnym chlorku metylenu (1 cm³) dodaje się 165 mg (0,644 mmol) kwasu palmitynowego rozpuszczonego w 3 cm³ bezwodnego chlorku metylenu, 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydynę (DMAP) (39 mg, 0,322 mmol) rozpuszczoną w 3 cm³ bezwodnego chlorku metylenu oraz *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid (DCC) (139,5 mg, 0,676 mmol) również rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu (3 cm³). 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 przesączu dodaje się żywicę jonowymienną (DOEX 50W X8 w 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 CHCl₃:MeOH:H₂O, 65:25:4 (v/v/v). Otrzymuje się 90 mg (0,137 mmol) 1-(3-metoksycynamonoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina z wydajnością 85,5% w postaci mazistej substancji.

Współczynnik podziału (R_f) w cienkowarstwowej chromatografii cieczowej wyniósł 0.29 (CHCl₃:MeOH:H₂O, 65:25:4 (v/v/v)).

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

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)), δ: 0,63 (t, *J* = 7 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 0,96-1,01 (m, 24H, CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 1,35-1,38 (m, 2H, CH₃(CH₂)₁₂CH₂C(O)), 2,09-2,12 (m, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 2,98 (s, 9H, -N(CH₃)₃), 3,39 (m, 2H, CH₂-β), 3,60 (s, 3H, -OCH₃), 3,79 (t, *J* = 6,5 Hz, 2H, CH₂-3'), 4,03 (m, 2H, CH₂-α), 4,08-4,11 (m, 2H, CH₂-1'), 5,07 (m, 1H, H-2'), 6,18-6,21 (m, 1H, H-2), 6,72-6,73 (m, 1H, H-4''), 6,83 (m, 1H, H-2''), 6,89-6,90 (m, 1H, H-6''), 7,08 (m, 1H, H-5''), 7,39-7,42 (m, 1H, H-3).

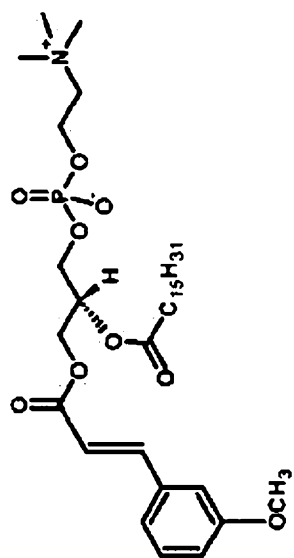
¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: 13,38 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 22,15 (CH₃(CH₂)₁₂CH₂C(O)), 24,47 (CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 28,61, 28,81, 28,84, 28,98, 29,01, 29,14, 29,16, 31,42 (CH₃CH₂(CH₂)₁₁CH₂CH₂C(O)), 33,76 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 53,50, 53,53, 53,55 ((-N(CH₃)₃), 54,73 (OCH₃), 58,85 (C-α), 62,46 (C-1'), 63,31 (C-3'), 65,87 (C-β), 70,03 (C-2'), 112,76 (C-2''), 116,80 (C-4''), 120,43 (C-6''), 129,54 (C-5''), 134,94 (C-1''), 145,51 (C-3), 166,61 (C-1), 173,48 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)).

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: -3,18.

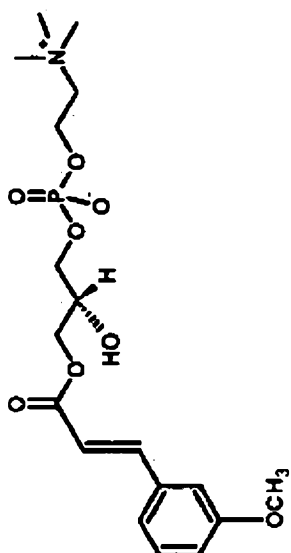
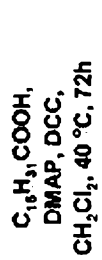
Zastrzeżenia patentowe

1. 1-(3-Metoksycynamonoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania fosfolipidowej pochodnej kwasu 3-metoksycynamonowego, 1-(3-metoksycynamonoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, **znamienny tym**, że kwas palmitynowy rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu albo chloroformie, poddaje się reakcji estryfikacji z 1-(3-metoksycynamonoilo)-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholimą o wzorze 1, w obecności 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyny z udziałem czynnika sprzęgającego jakim jest *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid, przy czym całość miesza się przez co najmniej 1 dobę, a następnie wydziela powstały produkt 1-(3-metoksycynamonoilo)-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholimą o wzorze 2.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że proces estryfikacji prowadzi się w temperaturze od 18 do 60°C.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się przez 72 godziny.

Rysunek



Wzór 2



Wzór 1