

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **236835**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426425**

(22) Data zgłoszenia: **24.07.2018**

(51) Int. Cl.

C07C 67/04 (2006.01)

C07F 9/10 (2006.01)

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

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

27.01.2020 BUP 03/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

22.02.2021 WUP 04/21

(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 236835 B1

Opis wynalazku

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

Pochodna fosfolipidowa według wynalazku może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym między innymi jako środek wspomagający terapię chorób nowotworowych, a także w przemyśle kosmetycznym jako składnik formułacji kosmetycznych.

Fosfolipidy to elementy strukturalne błon komórkowych organizmów żywych. Ich budowa chemiczna i wynikający z niej amfifilowy charakter umożliwiają zastosowanie ich jako nośników innych związków biologicznie aktywnych do wnętrza komórek.

Pochodne kwasu cynamonowego posiadające grupę metoksyłową w pozycji *orto*, *meta* lub *para* pierścienia aromatycznego występują powszechnie w naturze m.in. w cynamonowcu cejlońskim (*Cinnamomum zeylanicum*) (Hameed i in., Oriental Journal of Chemistry, 2016, 32, s. 1769), orzechu ziemnym (*Arachis hypogaea*) (Sobolev i in., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54, s. 3505) oraz syropie klonowym (Abou-Zaid i in., Pharmaceutical Biology, 2008, 46, s. 117), a ich prozdrowotne właściwości farmakologiczne zostały szeroko opisane w literaturze. Udowodniono między innymi, że grupa metoksyłowa przyłączona bezpośrednio do pierścienia aromatycznego w cząsteczce kwasu cynamonowego wzmacnia nie tylko jego aktywność przeciwutleniającą (Avanesyan, Pharmaceutical Chemistry Journal, 2009, 43, s. 249), ale również właściwości biologiczne użyteczne w walce z chorobami cywilizacyjnymi. Dowiedziono bowiem, że kwas cynamonowy posiadający grupę metoksyłową w pozycji *orto*, *meta* lub *para* skutecznie hamuje aktywność α -glukozydazy, enzymu biorącego udział w rozkładzie polisacharydów do cukrów prostych, którego inhibicja prowadzi do zmniejszenia stężenia glukozy we krwi, dzięki czemu może być związkiem stosowanym w prewencji lub leczeniu cukrzycy (Adisakwattana i in., Life Sciences, 2005, 78, s. 406). Ponadto kwas 4-metoksycynamonowy hamuje proliferację komórek nowotworowych jelita grubego linii HT29 (Hudson i in., Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, 2000, 9, s. 1183) oraz indukuje szlak wewnętrzny (zależny od mitochondriów) apoptozy komórek gruczolakoraka okrężnicy (HCT-116) (Gunasekaran i in., Environmental Toxicology and Pharmacology, 2015, 40, s. 966).

Wspomniany związek może znaleźć zastosowanie nie tylko w prewencji, ale również w leczeniu osób cierpiących na nowotwory, gdyż naukowcy udowodnili, że suplementacja szczurów rasy Wistar kwasem 4-metoksycynamonowym prowadzi do redukcji istniejących zmian nowotworowych (Sivagami i in., Chemico-Biological Interactions, 2012, 196, s.11).

Nie jest znana fosfatydylocholina zawierająca kwas palmitynowy w pozycji *sn*-1 i kwas 3-metoksycynamonowy w pozycji *sn*-2,

Celem wynalazku było opracowanie metody otrzymywania nowego produktu – fosfolipidowej pochodnej zawierającej cząsteczkę kwasu palmitynowego w pozycji *sn*-1 i kwas 3-metoksycynamonowy w pozycji *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-palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina przedstawiona na rysunku oraz sposób jej otrzymywania.

Istotą sposobu otrzymywania fosfolipidu z cząsteczką kwasu 3-metoksycynamonowego, jakim jest 1-palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, jest to, że kwas 3-metoksycynamonowy oraz 1-palmitoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholina 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-palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*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 150 mg (0,302 mmol) znanej i osuszonej 1-palmitoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholiny o wzorze 2 rozpuszczonej w bezwodnym chlorku metylenu (1 cm³) dodaje się 107,5 mg (0,604 mmol) kwasu 3-metoksycynamonowego o wzorze 1, rozpuszczonego w 4 cm³ bezwodnego chlorku metylenu,

4-dimetyloaminopirydynę (DMAP) (74 mg, 0,6 mmol) rozpuszczoną w 3 cm³ bezwodnego chlorku metylenu oraz *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid (DCC) (267 mg, 1,3 mmol) rozpuszczony w 4 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 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 116 mg (0,177 mmol) 1-palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholiny z wydajnością 58% w postaci mazistej substancji.

Współczynnik podziału (R_f) w cienkowarstwowej chromatografii cieczowej wyniósł 0,33 (CHCl₃:MeOH:H₂O, 65:25:4 (v/v/v)).

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

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)), δ: 0,62 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 0,95-1,09 (m, 24H, CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 1,33 (m, 2H, CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 2,07 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 2,96 (s, 9H, -N(CH₃)₃), 3,39 (m, 2H, CH₂-β), 3,58 (s, 3H, -OCH₃), 3,81 (m, 2H, CH₂-3'), 4,01-4,04 (m, 3H, CH₂-α, jeden z CH₂-1), 4,17 (m, jeden z CH₂-1'), 5,12 (m, 1H, H-2'), 6,20 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H, H-2), 6,72 (m, 1H, H-4"), 6,83 (m, 1H, H-2"), 6,90 (m, 1H, H-6"), 7,07 (m, 1H, H-5"), 7,42 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H, H-3).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: 13,35 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 22,13 (CH₃CH₂(CH₂)₁₂CH₂C(O)), 24,38 (CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 28,61, 28,80, 28,82, 28,96, 29,11, 29,14, 31,40 (CH₃(CH₂(CH₂)₁₁CH₂CH₂C(O))), 33,58 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 53,49 ((-N(CH₃)₃), 54,69 (OCH₃), 58,86 (C-α), 62,24 (C-1'), 63,47 (C-3'), 65,83 (C-β), 70,44 (C-2'), 112,80 (C-2"), 116,00 (C-4"), 116,88 (C-2), 120,40 (C-6"), 129,55 (C-5"), 134,88 (C-1"), 145,72 (C-3), 159,56 (C-3"), 166,26 (C-1), 173,75 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)).

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: -4,64.

Zastrzeżenia patentowe

- 1-Palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.
- Sposób otrzymywania fosfolipidowej pochodnej kwasu 3-metoksycynamonowego, 1-palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholina, **znamienny tym**, że kwas 3-metoksycynamonowy o wzorze 1 oraz 1-palmitoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholina o wzorze 2, w obecności 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyny z udziałem czynnika sprzęgającego jakim jest *NN'*-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-palmitoilo-2-(3-metoksycynamoilo)-*sn*-glicero-3-fosfocholiny 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

