

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235465**
(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426553**

(22) Data zgłoszenia: **06.08.2018**

(51) Int.Cl.
C07C 67/08 (2006.01)
C07F 9/10 (2006.01)

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

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
10.02.2020 BUP 04/20

(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 235465 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest fosfolipidowa pochodna kwasu cynamonowego, 1-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, o wzorze 2, przedstawionym na rysunku oraz sposób otrzymywania 1-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny.

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.

Kwas cynamonowy należy do grupy fenoli i występuje między innymi w cyamonie wonnym (*Cinnamomum cassia*) (Morozumi. Applied and Environmental Microbiology, 1978, 36, s.577; Lakshmi I in., Journal of Diabetes, 2009, 1, s.99) i szalwii czerwonej (*Danshen*) (Li i in., The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2008, 40, s.1918). W 1905 roku zostały opublikowane pierwsze badania wskazujące sól sodową tego kwasu jako potencjalny terapeutyk w chorobie nowotworowej (Drage, The British Medical Journal, 1905, s. 927). Obecnie w testach *in vitro* udowodniono, że kwas cynamonowy działa cytostatycznie na ludzkie komórki nowotworowe glejaka (A175, U251), czerniaka (MEL 1011, A375(M), SKMEL 28), raka prostaty (PC3(M), Du145, LNCaP) i raka płuc (A549) (Liu i in., International Journal of Cancer, 1995, 62, s.345). Związek ten wykazuje ponadto działanie ochronne w stosunku do komórek wątroby (Lee i Sn., Planta Medica, 2002, 68, s.407) oraz posiada właściwości przeciwcukrzycowe (Lakshmi I in., Journal of Diabetes, 2009, 1, s.99). Udowodniono również, że kwas cynamonowy może być skutecznym terapeutykem w leczeniu otyłości i nadciśnienia tętniczego. Wskazują, na to wyniki badań, w których udowodniono, że wspomniany kwas hamuje enzymy trawiące lipidy oraz regulujące ciśnienie krwi (angiotensyn-converting enzyme, ACE) (Mnafgui i in., Journal of Food Science Technology, 2015, 52, s.4369).

Nie jest znana fosfatydylocholina zawierająca kwas cynamonowy w pozycji *sn*-1 i kwas palmitynowy w pozycji *sn*-2. Dotychczas znane są fosfolipidowe pochodne kwasu cynamonowego takiej jak: z opisu zgłoszenia P 426422 znana jest 1,2-dicynamoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, z opisu P.426424 1-palmitoilo-2-cynamoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina oraz z opisu P426426 znana jest 1-cynamoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholina.

Celem wynalazku było opracowanie metody otrzymywania nowego produktu – fosfolipidowej pochodnej zawierającej cząsteczkę kwasu cynamonowego 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-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina przedstawiona na rysunku.

Istotą sposobu otrzymywania fosfolipidu z cząsteczką kwasu cynamonowego, jakim jest 1-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, jest to, że kwas palmitynowy rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu albo chloroformie, poddaje się reakcji estryfikacji z 1-cynamoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholiny 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-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny 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 95 mg (0,245 mmol) znanej i osuszonej 1-cynamoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholiny o wzorze 1 rozpuszczonej w bezwodnym chlorku metylenu (1 cm³) dodaje się 251 mg (0,98 mmol) kwasu palmitynowego rozpuszczonego w 3 cm³ bezwodnego chlorku metylenu, 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydynę (DMAP) (60 mg, 0,49 mmol) rozpuszczoną w 3 cm³ bezwodnego chlorku metylenu oraz *N,N'*-dicykloheksylokarbodiimid (DCC) (212,5 mg, 1,03 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 (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 138 mg (0,221 mmol) 1-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny z wydajnością 90% w postaci mazistej substancji.

Współczynnik podziału (R_f) w cienkowarstwowej chromatografii cieczowej wyniósł 0,29 (CHCl_3 :MeOH:H₂O, 65:25:4 (v/v/v)).

Dane spektroskopowe otrzymanego związku, którym jest 1-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny, są następujące:

¹H NMR (600 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1 (v/v)), δ : 0,66 (t, $J = 7$ Hz, 3H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 0,99-1,08 (m, 24H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 1,39 (m, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 2,13-2,15 (m, 2H, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 3,01 (s, 9H, $-\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 3,43 (m, 2H, $\text{CH}_2-\beta$), 3,82 (t, $J = 6,5$ Hz, 2H, CH_2-3'), 4,06 (m, 2H, $\text{CH}_2-\alpha$), 4,12 (dd, $J = 12, 5$ Hz, 1H, jeden z CH_2-1'), 4,27 (dd, $J = 12, 3$ Hz, 1H, jeden z CH_2-1'), 5,10 (m, 1H, H-2''), 6,25 (m, 1H, H-2), 7,19-7,20 (m, 3H, H-3'', H-4'', H-5''), 7,33-7,36 (m, 2H, H-2'', H-6''), 7,48 (m, 1H, H-3).

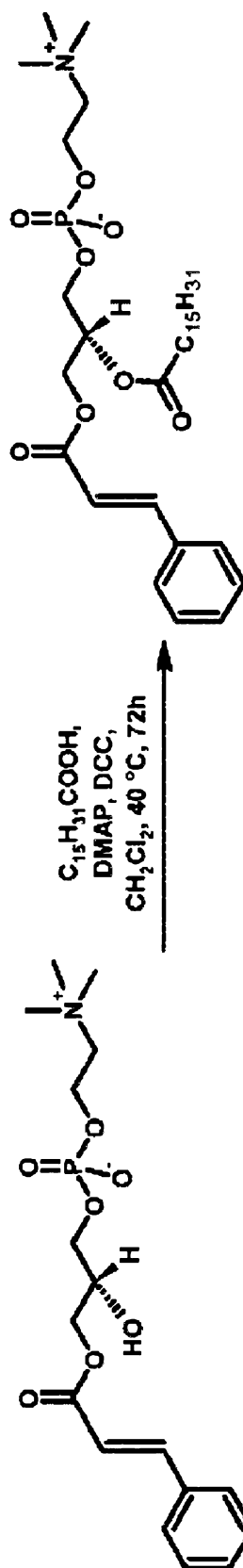
¹³C NMR (150 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1 (v/v)) δ : 13,45 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 22,20 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 24,51 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 28,66, 28,70, 28,86, 28,89, 28,90, 29,02, 29,06, 29,18, 29,21, 31,46 ($\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 33,81 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$), 53,58 ($-\text{N}(\text{CH}_3)_3$), 58,91 (C- α), 62,49 (C-1'), 63,36 (C-3'), 65,88 (C- β), 70,05 (C-2'), 116,51 (C-2), 127,78 (C-2'', C-6''), 128,54 (C-3'', C-5''), 130,32 (C-4''), 133,60 (C-1''), 145,67 (C-3), 166,71 (C-1), 173,54 ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{13}\text{CH}_2\text{C}(\text{O})$).

³¹P NMR (121 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ 2:1 (v/v)) δ : -4,29

Zastrzeżenia patentowe

1. 1-Cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny, o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania fosfolipidowej pochodnej kwasu anyżowego, 1-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny, **znamienny tym**, że kwas palmitynowy rozpuszczony w bezwodnym chlorku metylenu albo chloroformie, poddaje się reakcji estryfikacji z 1-cynamoilo-2-hydroksy-*sn*-glicero-3-fosfocholiny 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-cynamoilo-2-palmitoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny 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