

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235464**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426424**

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

(22) Data zgłoszenia: **24.07.2018**

(54) **1-Palmitoilo-2-cynamoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina oraz sposób otrzymywania
1-palmitoilo-2-cynamoilo-*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 235464 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest fosfolipidowa pochodna kwasu cyjamonowego, 1-palmitoilo-2-cyanoilo-*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.

Kwas cyjamonowy jest związkiem naturalnie występującym w roślinach m.in. w żeń-szeniu (*Panax ginseng*), cyjamonie wonnym (*Cinnamomum cassia*) (Morozumi. Applied and Environmental Microbiology, 1978, 36, s.577; Lakshmi i in., Journal of Diabetes, 2009, 1, s.99), szałwii czerwonej (Danshen) (Li i in., The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2008, 40, s.1918) czy czapetce kuminowej (*Syzygium alternifolium*) (Kasetti i in., Food and Chemical Toxicology, 2012, 50, s.1425). Związek ten znany jest między innymi ze swoich właściwości zapachowych (Hoskins, Journal of Applied Toxicology, 1984, 40, s.283). W wielu publikacjach naukowych potwierdzono również jego działanie przeciwnowotworowe (Liu i in., International Journal of Cancer, 1995; 62, s.345; Brozic i in., Molecular and Cellular Endocrinology, 2006, 248, s.233; Li i in., The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2008, 40, s.1918; Shi i in., Journal of Cellular Biochemistry, 2009, 108, s.926; de Oliveira Niero i in., Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2013, 32, s.1) oraz właściwości antydiabetyczne. W testach *in vitro* Lakshmi i in. udowodnili, że kwas cyjamonowy reguluje stężenie glukozy we krwi poprzez aktywację insulinozależnego transportera glukozy (GLUT4) (Lakshmi i in., Journal of Diabetes, 2009, 1, s.99). Ponadto związek ten znacząco hamuje tworzenie końcowych zaawansowanych produktów glikacji (AGE) o 63.36% w stężeniu 1 mM. Stosowanie wspomnianego związku u osób cierpiących na cukrzycę mogłoby obniżyć proces glikacji białek, co znacznie zmniejszyłoby ryzyko występowania powikłań (Adisakwattana i in., International Journal of Molecular Science, 2012, 13, s.1778). Natomiast w badaniach na modelu zwierzęcym udowodniono, że kwas cyjamonowy poprawia wychwyt glukozy mysich hepatocytów (FL83B) (Huang i in., Journal of Functional Food, 2012, 4, s.358).

Nie jest znana fosfatydylocholina zawierająca kwas palmitynowy w pozycji *sn*-1 i kwas cyjamonowy w pozycji *sn*-2.

Celem wynalazku było opracowanie metody otrzymywania nowego produktu – fosfolipidowej pochodnej zawierającej cząsteczkę kwasu palmitynowego w pozycji *sn*-1 i kwas cyjamonowy w pozycji *sn*-2 fosfatydylocholino, która pełni w tym wypadku rolę nośnika aktywnego biologicznie kwasu ułatwiającego jego wnikanie do komórek żywych i zwiększającą biodostępność w układach biologicznych.

Istotą wynalazku jest 1-palmitoilo-2-cyanoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina przedstawiona na rysunku oraz sposób jej otrzymywania.

Istotą sposobu otrzymywania fosfolipidu z cząsteczką kwasu cyjamonowego, jakim jest 1-palmitoilo-2-cyanoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, jest to, że kwas cyjamonowy 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-cyanoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholinę 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 89,5 mg (0,604 mmol) kwasu cyjamonowego o wzorze 1, rozpuszczonego w 4 cm³ bezwodnego chlorku metylenu, 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydynę (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 poremakcyjną 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 170 mg (0.272 mmol) 1-palmitoilo-2-cynamoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholiny z wydajnością 90% w postaci mazistej substancji.

Współczynnik podziału (R_f) w cienkowarstwowej chromatografii cieczowej wyniósł 0.31 (CHCl₃:MeOH:H₂O, 65:25:4 (v/v/v)).

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

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)), δ: 0,64 (t, J = 6,8 Hz, 3H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 0,97-1,05 (m, 24H, CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 1,35 (m, 2H, CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 2,09 (t, J = 7,4 Hz, 2H, CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 2,97 (s, 9H, -N(CH₃)₃), 3,37 (m, 2H, CH₂-β), 3,85 (m, 2H, CH₂-3'), 4,02-4,07 (m, 3H, CH₂-α, jeden z CH₂-1), 4,13 (m, 1H, jeden z CH₂-1'), 5,12 (m, 1H, H-2'), 6,23 (d, J = 16,0 Hz, 1H, H-2), 7,17 (m, 3H, H-3", H-4", H-5"), 7,31 (m, 2H, H-2", H-6"), 7,47 (d, J = 16,0 Hz, 1H, H-3).

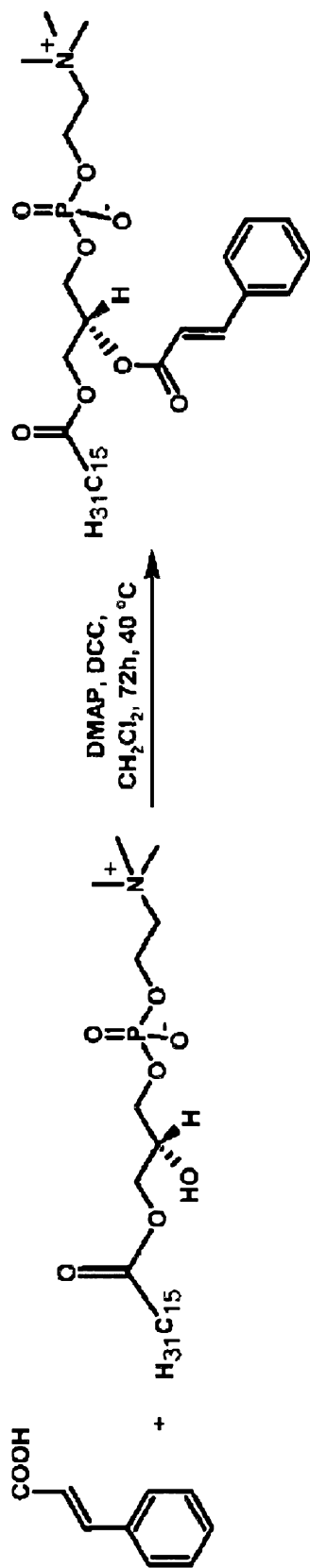
¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: 13,40 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)), 22,17 (CH₃CH₂(CH₂)₁₂CH₂C(O)), 24,42 (CH₃(CH₂)₁₂CH₂CH₂C(O)), 28,63, 28,74, 28,81, 28,86, 28,99, 29,01, 29,13, 29,15, 29,17, 29,19; 31,44 (CH₃CH₂(CH₂)₁₁CH₂CH₂C(O)), 33,62 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)) 53,56, 53,59, 53,61 (-N(CH₃)₃), 58,75 (C-α), 62,16 (C-1'), 63,51 (C-3'), 65,96 (C-β), 70,34 (C-2'), 116,74 (C-2), 127,73 (C-2", C-6"), 128,50, 128,53 (C-3", C-5"), 130,28 (C-4"), 133,62 (C-1"), 145,60 (C-3), 166,13 (C-1), 173,63 (CH₃(CH₂)₁₃CH₂C(O)).

³¹P NMR (121 MHz, CDCl₃/CD₃OD 2:1 (v/v)) δ: -0,66

Zastrzeżenia patentowe

- 1-Palmitoilo-2-cynamoilo-*sn*-glicero-3-fosfocholina, o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.
- Sposób otrzymywania fosfolipidowej pochodnej kwasu cyjamonowego, 1-palmitoilo-2-cynamoilo-*s/i*-glicero-3-fosfocholina, **znamienny tym**, że kwas cyjamonowy o wzorze 1 oraz 1-palmitoilo-2-hydrokso-*sn*-glicero-3-fosfocholina 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-palmitoilo-2-cynamoilo-*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



Wzór 1

Wzór 2

Wzór 3