

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **234087**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **418559**

(51) Int.Cl.
C07H 17/07 (2006.01)
C12P 19/60 (2006.01)
C12R 1/65 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **05.09.2016**

(54) **7-O-β-D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanon
i sposób otrzymywania 7-O-β-D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-
-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanonu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
12.03.2018 BUP 06/18

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
31.01.2020 WUP 01/20

(73) Uprawniony z patentu:
**UNIwersytet przyrodniczy
we Wrocławiu, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:
**JAROSŁAW POPŁOŃSKI,
Szkłarska Poręba, PL
SANDRA SORDON, Komprachcice, PL
TOMASZ TRONINA, Międzybórz, PL
AGNIESZKA BARTMAŃSKA, Wrocław, PL
EWA HUSZCZA, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 234087 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanon, o wzorze 2 przedstawionym na rysunku oraz sposób otrzymywania 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanonu.

Związek ten jest biologicznie czynny i może mieć zastosowanie w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym.

W dostępnej literaturze nie znaleziono doniesień o przedmiotowym związku ani o sposobach jego otrzymywania.

Glukozyłacja flawonoidów zwiększa ich hydrofilowość, co można wykorzystać podczas produkcji rozpuszczalnych w wodzie nutraceutyków. Związek według wynalazku jest potencjalnym materiałem wyjściowym dla dalszych strukturalnych modyfikacji, które mogą okazać się użyteczne w produkcji aktywniejszych związków.

Istotą wynalazku jest 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanon.

Istotą wynalazku jest także sposób otrzymywania tego związku, polegający na tym, że substrat, którym jest 7,4'-dihydroksy-5-metoksy-8-[3''-metylobutylo]-flawanon, poddaje się transformacji mikrobiologicznej, w wyniku czego otrzymuje się 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanon. Grzyby strzępkowe z gatunku *Absidia coerulea* namnaża się w płynnym podłożu mikrobiologicznym, przy ciągłym mieszaniu reagentów, w temperaturze 12–40°C. Następnie do narośniętej hodowli dodaje się substrat i dalej prowadzi proces, aż do całkowitego zużycia substratu. Po zakończeniu transformacji roztwór transformacyjny ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą, oddziela frakcję organiczną, osusza bezwodnym siarczanem magnezu, odparowuje rozpuszczalnik i tak otrzymany surowy produkt oczyszcza się za pomocą technik chromatograficznych.

Korzystnie jest, gdy grzybem jest *Absidia coerulea* AM93.

Korzystnie również jest, gdy reakcję prowadzi się w temperaturze 26°C.

Postępując zgodnie z wynalazkiem, w wyniku działania układu enzymatycznego zawartego w żywych komórkach kultury *Absidia coerulea* następuje reakcja glukozyłacji w substracie.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie, w łagodnych warunkach 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanonu, jako głównego produktu reakcji w kulturze *Absidia coerulea*. Wydajność reakcji osiąga poziom ponad 60%.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania.

P r z y k ł a d 1. Do kolby o pojemności 300 cm³; w której znajduje się 100 cm³ sterylnej pożywki zawierającej 3 g glukozy i 1 g aminobaku na 1 dm³ wody destylowanej, wprowadza się grzyby strzępkowe *Absidia coerulea* AM93. Po 6 dniach wzrostu drobnoustrojów w temperaturze 26°C i przy ciągłym wstrząsaniu, dodaje się 15 mg 7,4'-dihydroksy-5-metoksy-8-[3''-metylobutylo]-flawanonu, o wzorze 1, rozpuszczonego w 1,5 cm³ dimetylosulfotlenku. Transformację prowadzi się przy ciągłym wstrząsaniu przez 10 dób. Po tym czasie hodowlę zakwasza się 1-molowym kwasem chlorowodorowym do pH 4,5. Następnie, uzyskany roztwór transformacyjny ekstrahuje się trzykrotnie octanem etylu, osusza bezwodnym siarczanem magnezu i odparowuje rozpuszczalnik. Uzyskuje się 20,20 mg surowego ekstraktu, który oczyszcza się chromatograficznie, używając jako eluentu mieszaninę chloroform : metanol w stosunku objętościowym 1:1. Po oczyszczeniu otrzymuje się 13,31 mg 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''metylobutylo]-5-metoksyflawanonu, o wzorze 2 z wydajnością 61%.

Uzyskany produkt charakteryzuje się następującymi danymi spektralnymi:

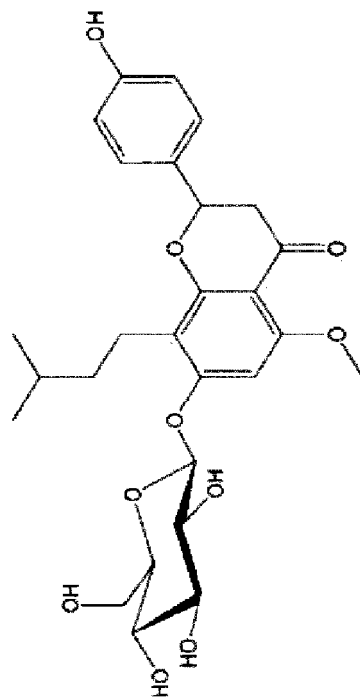
¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ : 0,83 (6H, m, H-4, H-5''), 1,24 (1H, m, H-2''a), 1,34 (1H, m, H-2''b), 1,48 (1H, m, H-3''), 2,45 (1H, m, H-1''a), 2,60 (1H, m, H-1''b), 2,65 (1H, m, H-3a, eq), 2,95 (1H, m, H-3b, ax), 3,13 (1H, m, H-4'''), 3,29-3,40 (3H, m, H-2''', H-3''', H-5'''), 3,40 (1H, m, H-6''a), 3,74 (1H, m, H-6''b), 3,77 (3H, s, C5-OCH₃), 4,93 (1H, m, H-1'''), 5,35 (1H, m, H-2), 6,49 (1H, s, H-6), 6,78 (2H, m, J = 8,5 Hz, H-3', H-5'), 7,29 (2H, m, J = 8,5 Hz, H-2', H-6').

¹³C NMR (150 MHz, DMSO-d₆) δ : 20,13/20,19 (C-1''), 22,41/22,50 (C-4''), 22,54/22,65 (C-5''), 27,46/27,48 (C-3''), 38,13 (C-2''), 44,65/44,89 (C-3), 55,52 (C5-OCH₃), 60,87 (C-6'''), 70,08 (C-4'''), 73,33 (C-2'''), 77,00 (C-3'''), 77,51 (C-5'''), 77,83 (C-2), 92,62/92,71 (C-6), 100,38 (C-1'''), 106,05/106,18 (C-10), 111,10/111,15 (C-8), 115,09/115,10 (C-3', C-5'), 127,64 (C-2', C-6'), 129,48/129,54 (C-1'), 157,40 (C-4'), 159,46/159,50 (C-5), 160,65/160,73 (C-9), 160,90/160,95 (C-7), 188,82/188,87 (C=O).

Zastrzeżenia patentowe

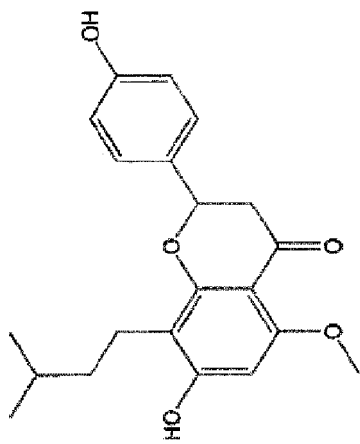
1. 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanon, o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanonu, **znamienny tym**, że na drodze reakcji mikrobiologicznej transformacji substratu, którym jest 7,4'-dihydroksy-5-metoksy-8-[3''-metylobutylo]-flawanon, o wzorze 1, otrzymuje się w 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanon, o wzorze 2, w taki sposób, że grzyby z gatunku *Absidia coerulea*, namnaża się w płynnym podłożu mikrobiologicznym, charakterystycznym dla grzybów strzępkowych, przy ciągłym mieszaniu reagentów, w temperaturze 12–40°C, po czym po upływie od 3 do 7 dni, do narośniętej hodowli dodaje się substrat i dalej prowadzi proces, aż do całkowitego zużycia substratu, po czym po zakończeniu transformacji roztwór transformacyjny ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą, oddziela frakcję organiczną, odwadnia, odparowuje rozpuszczalnik i tak otrzymany surowy produkt oczyszcza się za pomocą technik chromatograficznych, w wyniku czego otrzymuje się czysty produkt, którym jest 7-O- β -D-glukopiranozylo-4'-hydroksy-8-[3''-metylobutylo]-5-metoksyflawanon.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że grzybem jest *Absidia coerulea* AM93.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że proces prowadzi się w temperaturze 26°C.

Rysunek



WZÓR 2

Absidia coerulea →



WZÓR 1