

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **238431**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **428569**

(51) Int.Cl.

C07D 311/32 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **14.01.2019**

(54)

Analog flawanonu oraz sposób jego otrzymywania

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

27.07.2020 BUP 16/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

23.08.2021 WUP 21/21

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA ŁÓDZKA, Łódź, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

ANNA SYKUŁA, Stryków, PL

PAULINA BŁAZIŃSKA, Łódź, PL

ELŻBIETA ŁODYGA-CHRUŚCIŃSKA, Łódź, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Ewa Kaczur-Kaczyńska

PL 238431 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest analog flawanonu oraz sposób jego otrzymywania.

Flawanon (2,3-dihydroflawon) obecny w zdrowej żywności jako niepodstawiony flawanoid jest przedstawicielem podgrupy flawanonów.

Z publikacji w czasopiśmie *Phytochemistry* 66 (2005) 2399–2407 i *Phytochemistry* 65 (2004) 2631–2648 wiadomo, iż flawanony są prekursorami w biosyntezie wszystkich pozostałych grup flawanoidów. W różnych badaniach flawanony wykazują działanie lecznicze w chorobach sercowo-naczyniowych, przeciwproliferacyjne, przeciwzapalne czy zmiatające wolne rodniki. Sugeruje się, że naturalne produkty, w tym flawonoidy, biorą udział w ochronnym działaniu owoców i warzyw przeciwko nowotworom.

W publikacji w czasopiśmie *Journal of Biomedical Science* 14 (2007) 107–119 stwierdza się, iż flawanon niepodstawiony hamuje wzrost komórek linii komórkowych A549, LLC, AGS, SK-Hep1 i HA22T.

Natomiast z publikacji w czasopiśmie *Chemico-Biological Interactions* 167 (2007) 193–206 wiadomo, iż flawanon niezawierający grupy hydroksylowej (OH) znacząco hamuje inwazję, ruchliwość i adhezję matrycy komórkowej linii komórkowej gruczolakoraka płuc A549.

Z kolei w publikacji w czasopiśmie *Toxicology and Applied Pharmacology* 197 (2004) 84–95 stwierdzono, iż niepodstawiony flawanon wykazuje większy potencjał antyproliferacyjny w komórkach raka jelita grubego i komórkach fibroblastów myszy NIH3T3 niż flawanony z większą liczbą podstawień grupy OH.

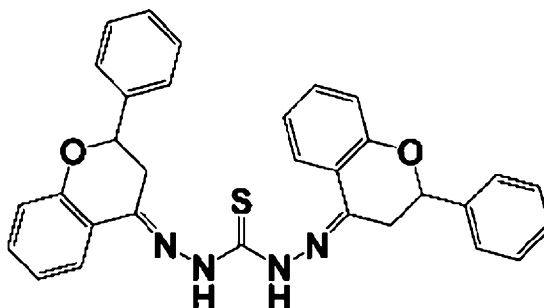
W publikacji w czasopiśmie *Free Radical Biology & Medicine* 22 (1997) 749–760 stwierdza się, iż niepodstawiony flawanon spośród podgrupy flawanonów nie wykazuje aktywności antyoksydacyjnej ORAC_{ROO•} oraz prooksydacyjnej.

Znane są związki chemiczne, takie jak tiosemikarbazyd, izoniazyd i benzhydryd, z których tiosemikarbazyd wykazuje interesujące właściwości chemiczne i biologiczne, izoniazyd i jego pochodne są stosowane w leczeniu gruźlicy, benzhydryd charakteryzuje się strukturą podobną do struktury izoniazydu.

Jak wykazują badania połączenie flawanonu z cząsteczką bioaktywną powoduje zwiększenie jego biodostępności lub aktywności biologicznej na przykład aktywności antyoksydacyjnej.

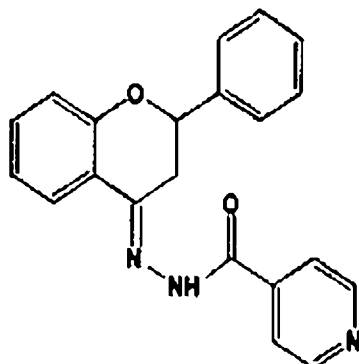
Z publikacji w czasopiśmie *Inorganica Chimica Acta* 362 (2009) 4823–4831 znana jest pochodna flawanonu otrzymana z hesperetyny i benzhydrydu. W celu otrzymania tej pochodnej hesperetynę i benzhydryd rozpuszcza się w metanolu, a następnie dodaje się kwas octowy jako katalizator i całość ogrzewa do wrzenia pod chłodnicą zwrotną w ciągu 24 godzin. Po tym czasie powstały brązowy roztwór zatęża się i chłodzi, a powstały szary osad przesącza się i przemywa się dużą ilością wody. Następnie produkt poddaje się krystalizacji w mieszaninie dimetyloformamidu i wody, przesącza się i suszy.

Z opisu zgłoszenia patentowego P.424932 znana jest hybrydowa pochodna flawanonu, którą stanowi pochodna tiokarbohydrazonowa flawanonu o nazwie chemicznej N'-((E)-2-fenilo-chroman-4-ylideno)-2-((Z)-2-fenylchroman-4-ylideno)-hydrazyno-1-karbotiohydrazyd, o wzorze A



wia się do wystudzenia i następnie utrzymuje w temperaturze 4°C do wytrącenia się osadu, a wytrącony osad produktu sączy się pod próżnią i przemywa etanolem. Na 0,22 g flawanonu stosuje się 0,053 g tiokarbohydrazdu, 15 ml bezwodnego etanolu, zaś stężony kwas siarkowy(VI) stosuje się w ilości zapewniającej pH reakcji = 4.

Przedmiotem wynalazku jest analog flawanonu, o nazwie chemicznej (*E*)-*N'*-(2-fenylchroman-4-ylideno) izonikotynohydrazyd, o wzorze



Nowy analog flawanonu ma postać jasnożółtego proszku o temperaturze topnienia 201–202°C.

Wyniki analiz tego związku są następujące:

analiza elementarna: C 73,45%, H 4,99%, N 12,24%, O 9,32%, znaleziono: C 73,09%; H 5,12%; N 12,25%;

IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): ν (N-H)_(stretch) 3217, ν (C-H) 3037, ν (C=O): 1669, ν (C=N): 1613, ν (pyridine):1537;

¹H NMR (DMSO-d₆, 200 MHz), δ = 2.89 (2H, m, 3(a), 3(e)-H); 5.28 (1H, d, J = 12.2 Hz, 2-H); 7.05 (2H, m, 6, 8-H); 7.49 (6H, m, 7,2',3',4',5',6'-H); 7.77 (2H, d, J = 4.8 Hz, 2'',6'') 8.06 (1H, d, J = 8.2, 5-H); 8.73 (2H, d, J = 4.8 Hz, 3'',5''), 11.11 (1H, bs, -NH-C=S);

HPLC ESI-MS dla C₂₁H₁₇N₃O₂ [M-H]: *m/z* 342,13 znaleziono: *m/z* 342,11;

UV-Vis $\lambda_{\max}$ (nm) w DMSO: 328 nm, DMF 327 nm.

W badaniach *in vitro* nowy analog flawanonu wykazuje zwiększoną aktywność antyoksydacyjną i przeciwmikrobiologiczną oraz oddziałuje z białkami, w związku z czym może znaleźć zastosowania w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym jako antyoksydant i związek zapobiegający rozwojowi mikroorganizmów oraz w biotechnologii do badania oddziaływań z białkami.

Sposób otrzymywania nowego analogu flawanonu, o wyżej podanym wzorze, z flawanonu w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego jako katalizatora, **według wynalazku** polega na tym, że flawanon poddaje się reakcji z izoniazidem w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego(VI) w temperaturze 60°C w czasie 24 godzin, po czym mieszaninę reakcyjną z wytrąconym osadem pozostawia się do wystudzenia. Wytrącony osad produktu sączy się pod próżnią i przemywa etanolem i destylowaną wodą. Na 0,22 g flawanonu stosuje się 0,1372 g izoniazidu, 10 ml bezwodnego etanolu, zaś stężony kwas siarkowy(VI) stosuje się w ilości zapewniającej pH reakcji = 4.

Przedmiot wynalazku ilustruje poniższy przykład.

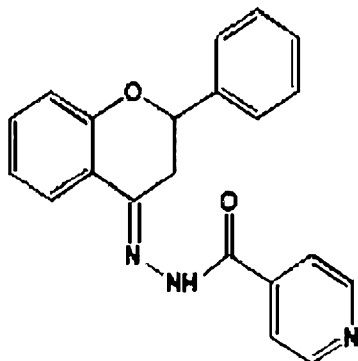
P r z y k ł a d

137,20 mg (1 mmol) izoniazidu przeniesiono ilościowo do kolby okrągłodennej i rozpuszczono w 10 ml bezwodnego etanolu w temperaturze 60°C. Zawartość kolby mieszano przez 30 minut aż do całkowitego rozpuszczenia składników. Do otrzymanego roztworu dodano kroplę stężonego kwasu siarkowego(VI) jako katalizatora do osiągnięcia pH 4 i reakcję prowadzono w temperaturze 60°C w ciągu 24 godzin. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną z wytrąconym osadem wystudowano i odsączono pod próżnią, przemyto bezwodnym etanolem i destylowaną wodą i pozostawiono w eksykatorze do wysuszenia.

Otrzymano 222,52 mg produktu, który stanowił jasnożółty proszek o temperaturze topnienia 201–202°C. Wyniki analizy elementarnej, IR, NMR, ESI-MS i UV-Vis otrzymanego produktu świadczyły o tym, że stanowi on pochodną izoniazonową flawanonu o wyżej podanym wzorze.

Zastrzeżenia patentowe

1. Analog flawanonu, o nazwie chemicznej (*E*)-*N'*-(2-fenylchroman-4-ylideno) izonikotynohydrazyd, o wzorze



2. Sposób otrzymywania analogu flawanonu o wzorze określonym zastrzeżeniem 1, z flawanonu w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego jako katalizatora, **znamienny tym**, że flawanon poddaje się reakcji z izoniazjdem w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego(VI) w temperaturze 60°C w czasie 24 godzin, po czym mieszaninę reakcyjną z wytrąconym osadem pozostawia się do wystudzenia, a następnie wytrącony osad produktu sączy się pod próżnią i przemywa etanolem i destylowaną wodą.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że na 0,22 g flawanonu stosuje się 0,1372 g izoniazjdu i 10 ml bezwodnego etanolu, zaś stężony kwas siarkowy(VI) stosuje się w ilości zapewniającej pH reakcji = 4.