

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **237137**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426763**

(22) Data zgłoszenia: **23.08.2018**

(51) Int. Cl.

C12P 7/26 (2006.01)

C07C 49/825 (2006.01)

C07C 49/84 (2006.01)

C12R 1/645 (2006.01)

(54) **Sposób wytwarzania 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4''-metoksyfenylo)-propan-1-onu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

24.02.2020 BUP 05/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

22.03.2021 WUP 06/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MATEUSZ ŁUŻNY, Wrocław, PL
EWA KOZŁOWSKA, Wrocław, PL
JAROSŁAW POPŁOŃSKI, Szklarska Poręba, PL
MONIKA DYMARSKA, Wrocław, PL
EDYTA KOSTRZEWA-SUSŁOW, Wrocław, PL
TOMASZ JANECZKO, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 237137 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-propan-1-onu.

Metoda, według wynalazku może znaleźć zastosowanie w przemyśle spożywczym do wytwarzania środków słodzących i przemyśle farmaceutycznym do wytwarzania prekursorów leków regulujących pracę serca.

Dihydrochalkony są syntezowane przez rośliny i charakteryzują się słodkim smakiem. Również syntetyczne związki posiadające ugrupowanie dihydrochalkonu wykazują wysokie wrażenie słodkości (Winnig M, Bufe B, Kratochwil NA, Slack JP, Meyerhof W. 2007 *BMC Struct. Biol.* 7, 66; Krammer G, Ley J, Riess T, Haug M, Paetz S, Kindel G, Schmidtman R. Patent No.: US 20100233102; Sep, 16, 2010. Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition. Academic Press, London 1993, Krutosikowa A., Uher M.: Naturalne i syntetyczne substancje o słodkim smaku PWN, Warszawa 1990; 2'-Hydroksydihydrochalkon jest wykorzystywany jako blok budulcowy w syntezie propafenonu – substancji czynnej leków przeciwaritmicznych (Noe CR, Knollmüller M, Oberhauser B, Steinbauer G, Wagner E. 1986 *Chemische Berichte*, 119, 729–743; Ecker G, Chiba P, Hitzler M, Schmid D, Visser K, Cordes HP, Csöllei J, Seydel JK, Schaper K-J. 1996 *J. Med. Chem.* 39, 4767–4774; Ecker G, Noe CR, Fleischhacker W. 1997 *Monatsh. Chem.* 128, 53–59). Znana jest również ich aktywność względem patogennych mikroorganizmów, w tym gram-dodatnich i gram-ujemnych bakterii oraz grzybów (Awouafack MD, Kusari S, Lamshöft M; Ngamga D, Tane P, Spitteller M. 2010 *Planta Med.* 76, 640–643). Dihydrochalkon (floretyna) jest aktywnym inhibitorem tyrozynazy grzybowej (Zhang L-Q, Yang X-W, Zhang Y-B, Zhai Y-Y, Xu W, Zhao B, Liu D-L, Yu H-J. 2012 *Food Chem.* 132, 936–942).

Znany jest sposób uzyskania 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-propan-1-onu z 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-prop-2-en-1-onu w wyniku redukcji wodorem w obecności C/Pd jako katalizatora (Triakha S., Kumar R., Dhawan A., Poonam, Prasad A.K., Cholii A.L., Olsen C.E., Waterson A.C., Parmar V.S. Candida rugosa lipase-mediated enantioselective acetylation studies on (±)-3-arylmethyl-3-hydroxymethyl-2,3-dihydro-1-benzopyran-4(H)-ones. Indian Journal of Chemistry 44B, F2005, 356–365). W literaturze nie ma doniesień dotyczących uzyskania 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-propan-1-onu metodami biotechnologicznymi.

Szczep *Yarrowia lipolytica* KCh 71 był wcześniej ujawniony w literaturze (Janeczko T, Gładkowski W, Kostrzewa-Susłow E. 2013 *J. Mol. Cat. B-Enzym.* 98, 55–61; Janeczko T, Dymarska M, Siepka M, Gnińska R, Leśniak A, Popłoński J, Kostrzewa-Susłow E. 2014 *J. Mol. Cat. B-Enzym.* 109, 47–52; Janeczko T, Kostrzewa-Susłow E. 2014 *Tetrahedron: Asymmetry*, 25, 1264–1269).

Istota wynalazku polega na tym, że do podłoża odpowiedniego dla drożdży wprowadza się szczep *Yarrowia lipolytica* KCh 71. Po upływie co najmniej 48 godzin do hodowli wprowadza się substrat, którym jest 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-prop-2-en-1-on o wzorze 1, rozpuszczony w rozpuszczalniku organicznym mieszającym się z wodą. Transformację prowadzi się w temperaturze od 20 do 30 stopni Celsjusza, przy ciągłym wstrząsaniu, co najmniej 1 godzinę. Kolejno produkt ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą i oczyszcza chromatograficznie.

Korzystnie jest, gdy stosunek masy dodawanego substratu do objętości hodowli wynosi 0,2 g : 1 L.

Korzystnie także jest, gdy proces prowadzi się w temperaturze 25 stopni Celsjusza.

W wyniku regioselektywnej redukcji podwójnego wiązania otrzymuje się 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-propan-1-onu, a reakcję prowadzi się w wodnej kulturze szczepu *Yarrowia lipolytica* KCh 71. Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-propan-1-onu, z wydajnością izolowaną na poziomie 40% (konwersją według GC = 85%), w temperaturze pokojowej i przy pH naturalnym dla szczepu.

Wynalazek jest bliżej objaśniony na przykładzie wykonania.

P r z y k ł a d. Do kolby Erlenmajera o pojemności 2000 cm³, w której znajduje się 500 cm³ sterylnej pożywki zawierającej 5 g aminobaku i 15 g glukozy, wprowadza się szczep *Yarrowia lipolytica* KCh 71. Po 72 godzinach jego wzrostu dodaje się 100 mg 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-prop-2-en-1-onu o wzorze 1, rozpuszczonego w 1 cm³ tetrahydrofuranu (THF). Transformację prowadzi się w 25 stopniach Celsjusza przy ciągłym wstrząsaniu przez 6 godziny. Następnie mieszaninę poreakcyjną ekstrahuje się trzykrotnie chloroformem, osusza bezwodnym siarczanem magnezu i odparowuje rozpuszczalnik. Otrzymany ekstrakt oczyszcza się chromatograficznie, używając jako eluentu mieszaniny heksan i aceton 9:1. Na tej drodze otrzymuje się 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4"-metoksyfenylo)-propan-1-onu (konwersja według GC na poziomie 85%).

Uzyskany produkt charakteryzuje się następującymi danymi spektralnymi:

^1H NMR (600 MHz) (CDCl_3) δ (ppm): 2.99-3.04 (m, 2H, H-3), 3.27-3.33 (m, 2H, H-2), 3.80 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 6.84-6.88 (m, 2H, H-3'', H-5''), 6.94 (ddd, 1H, $J = 8.1, 7.1, 11$ Hz, H-5'), 6.99 (dd, 1H, $J = 8.2, 12$ Hz, H-3'), 7.15-7.19 (m, 2H, H-3'', H-5''), 7.46 (ddd, 1H, $J = 8.5, 7.1, 16$ Hz, H-4'), 7.75 (dd, 1H, $J = 8.0, 16$ Hz, H-6'), 12.33 (s, 1H, $-\text{OH}$).

^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) $\delta = 29.32$ (C-3), 40.43 (C-2), 55.39 ($-\text{OCH}_3$), 114.12 (C-3'', C-5''), 118.67 (C-3'), 119.03 (C-5'), 119.41 (C-1'), 129.45 (C-2'', C-6''), 129.97 (C-6'), 132.83 (C-1''), 136.44 (C-4'), 158.23 (C-4''), 162.58 (C-2'), 205.69 (C-1).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4''-metoksyfenylo)-propan-1-onu, **znamienny tym**, że do podłoża odpowiedniego dla drożdży wprowadza się szczep *Yarrowia lipolytica* KCh 71, następnie po upływie co najmniej 48 godzin do hodowli wprowadza się substrat, którym jest 1-(2'-hydroksyfenylo)-3-(4''-metoksyfenylo)-prop-2-en-1-on o wzorze 1, rozpuszczony w rozpuszczalniku organicznym mieszającym się z wodą, transformację prowadzi się w temperaturze od 20 do 30 stopni Celsjusza, przy ciągłym wstrząsaniu, co najmniej 1 godzinę, po czym produkt ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą i oczyszcza chromatograficznie.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosunek masy dodawanego substratu do objętości hodowli wynosi 0,2 g : 1 L.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że proces prowadzi się w temperaturze 25 stopni Celsjusza.

Rysunek

