

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **239845**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430910**

(22) Data zgłoszenia: **20.08.2019**

(51) Int.Cl.

**C12P 17/00 (2006.01)**

**C07D 333/22 (2006.01)**

**C12R 1/865 (2006.01)**

(54) **Sposób wytwarzania 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-propan-1-onu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

**22.02.2021 BUP 04/21**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

**17.01.2022 WUP 03/22**

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MATEUSZ ŁUŻNY, Wrocław, PL  
MARTYNA KRZYWDA, Kalisz, PL  
EWA KOZŁOWSKA, Wrocław, PL  
EDYTA KOSTRZEWA-SUSŁOW, Wrocław, PL  
TOMASZ JANECZKO, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Anna Kasperowicz**

**PL 239845 B1**

## Opis wynalazku

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

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 przeciwnarytmicznych (Noe CR, Knollmüller M, Oberhäuser 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 aktywność tej grupy związków względem patogennych mikroorganizmów, w tym gram-dodatnich i gram-ujemnych bakterii oraz grzybów (Awouafack MD, Kusari S, Lamshöft M, Ngamga D, Tane P, Spiteller 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).

Szczep *Saccharomyces cerevisiae* KCh 464 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, Gniłka 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).

Sposób wytwarzania 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-propan-1-onu w drodze syntezy chemicznej został ujawniony w opisie patentowym US5118685.

Istota wynalazku polega na tym, że do podłoża odpowiedniego dla drożdży wprowadza się szczep *Saccharomyces cerevisiae* KCh 464. Po upływie co najmniej 48 godzin do hodowli wprowadza się substrat, którym jest 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-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.

W wyniku regioselektywnej redukcji podwójnego wiązania otrzymuje się 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-propan-1-on, a reakcję prowadzi się w wodnej kulturze szczepu *Saccharomyces cerevisiae* KCh 464.

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.

Dodatkowo, korzystnie jest, gdy transformację prowadzi się przez co najmniej 12 godzin.

Postępując zgodnie z wynalazkiem, w wyniku działania układu enzymatycznego zawartego w komórkach szczepu *Saccharomyces cerevisiae* KCh 464, następuje regioselektywna redukcji podwójnego wiązania w substracie. Uzyskany w ten sposób produkt wydziela się z wodnej kultury mikroorganizmu, znanym sposobem, przez ekstrakcję rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą (chloroform). Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-propan-1-onu, z wydajnością izolowaną na poziomie 80% (konwersją według GC >98%), 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 cm<sup>3</sup>, w której znajduje się 500 cm<sup>3</sup> sterylnej pożywki zawierającej 5 g aminobaku i 15 g glukozy, wprowadza się szczep *Saccharomyces cerevisiae* KCh 464. Po 72 godzinach jego wzrostu dodaje się 100 mg 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-prop-2-en-1-on o wzorze 1, rozpuszczonego w 1 cm<sup>3</sup> tetrahydrofuranu (THF). Transformację prowadzi się w 25 stopniach Celsjusza przy ciągłym wstrząsaniu przez 12 godzin. 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 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-propan-1-on (konwersja według GC na poziomie >98%).

Uzyskany produkt charakteryzuje się następującymi danymi spektralnymi:

$^1\text{H}$  NMR (600 MHz) ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 3.27-3.33 (m, 2H, H-3), 3.37-3.43 (m, 2H, H-2), 6.87 (dq, 1H,  $J = 3.4, 1.0$  Hz, H-5"), 6.90 (ddd, 1H,  $J = 7.4, 7.1, 1.0$  Hz, H-5'), 6.29 (dd, 1H,  $J = 5.1, 3.4$  Hz, H-4"), 6.99 (ddd, 1H,  $J = 8.4, 1.1, 0.4$  Hz, H-3'), 7.14 (dd, 1H,  $J = 5.1, 1.2$  Hz, H-3"), 7.47 (ddd, 1H,  $J = 8.4, 7.3, 1.5$  Hz, H-4'), 7.76 (dd, 1H,  $J = 8.1, 1.6$  Hz, H-6'), 12.24 (s, 1H, -OH).

$^{13}\text{C}$  NMR (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 24.16$  (C-3), 40.26 (C-2), 118.73 (C-3'), 119.13 (C-5'), 119.38 (C-1'), 123.72 (C-3"), 124.99 (C-5"), 127.06 (C-4"), 129.90 (C-6'), 136.60 (C-4'), 143.40 (C-1"), 162.56 (C-2'), 204.76 (C-1).

### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-propan-1-onu, **znamienny tym**, że do podłoża odpowiedniego dla drożdży wprowadza się szczep *Saccharomyces cerevisiae* KCh 464, następnie po upływie co najmniej 48 godzin do hodowli wprowadza się substrat, którym jest 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-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, jakim jest 3-(tien-2"-ylo)-1-(2'-hydroksyfenylo)-propan-1-on o wzorze 2, ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą i oczyszcza chromatograficznie.
2. Sposób według zastrzeżenia 1, **znamienny tym**, że stosunek masy dodawanego substratu do objętości hodowli wynosi 0,2 g : 1 L.
3. Sposób według zastrzeżenia 1, **znamienny tym**, że proces prowadzi się w temperaturze 25 stopni Celsjusza.
4. Sposób według zastrzeżenia 1, **znamienny tym**, że transformację prowadzi się przez 12 godzin.

