

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **239472**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **432129**

(22) Data zgłoszenia: **10.12.2019**

(51) Int.Cl.

**C07C 45/57 (2006.01)**

**C07D 311/32 (2006.01)**

**C07C 49/825 (2006.01)**

**C07C 49/835 (2006.01)**

(54)

**Sposób wytwarzania ksantohumolu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

**14.06.2021 BUP 12/21**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

**06.12.2021 WUP 36/21**

(73) Uprawniony z patentu:

**DERMOTECH BEAUTY  
SPÓŁKA Z OGRANICZONĄ  
ODPOWIEDZIALNOŚCIĄ, Olsztyn, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**JOANNA ANDRUSIAK, Jaranowo, PL  
KINGA MYLKIE, Zajeziórze, PL  
ANDRZEJ JAN WOLAN, Toruń, PL  
MARIUSZ JAN BOSIAK, Toruń, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzec. pat. Adam Pawłowski**

**PL 239472 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem niniejszego wynalazku jest sposób wytwarzania ksantohumolu (XN).

Ksantohumol (2',4,4'-trihydroksy-6'-metoksy-3'-prenylochalkon), określane skrótem XN, należy do grupy prenylowanych flawonoidów wykazujących korzystne oddziaływanie na organizmy zwierzęce, w tym człowieka.

Ksantohumol neutralizuje wolne rodniki (jest antyoksydantem), zapobiega rozwojowi miażdżycy tętnic, a także rozwojowi chorób nowotworowych. Antyoksydacyjne właściwości XN są istotne ze względu na fakt, iż wykazuje on kilkakrotnie silniejsze działanie jako akceptor wolnych rodników (zmiatacz wolnych rodników) hydroksylowych i nadtlenkowych, niż wzorcowy: Trolox® (kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochroman-2-karboksylowy). Ponadto XN, w przeciwieństwie do swojego izomeru: izoksantohumolu (IXN), wykazuje także aktywność antyoksydacyjną względem anionorodników nad-tlenkowych, generowanych przez oksydazę ksantynową, nie hamując przy tym bezpośrednio aktywności tego enzymu.

XN wykazuje też aktywność antyrodnoustorojową oraz przeciwwirusową, w tym hamuje rozwój pleśni, wzrost bakterii między innymi powodujących zakażenia ropne skóry oraz zakażenia układowe o etiologii gronkowcowej. XN hamuje też rozwój komórek powodujących próchnicę zębów i ma działanie przeciwmalaryczne.

Szczególną własnością XN jest jego działanie przeciwnowotworowe, w tym właściwości antyproliferacyjne: hamowanie syntezy DNA, zatrzymywanie cyklu komórkowego u komórek z zaburzoną zdolnością apoptozy, a także właściwości antyangiogenne.

Ze względu na powyższe, XN jest stosowany jako składnik wielu kompozycji, w tym kompozycji farmaceutycznych, między innymi leków i suplementów diety. XN stanowi także składnik zdrowej żywności i napojów, a także różnych kompozycji kosmetycznych, w tym kompozycji kosmetycznych do aplikacji zewnętrznej – na skórę, jako ich składnik aktywny.

Znane metody pozyskiwania ksantohumolu obejmują jego izolowanie z surowców naturalnych, oraz syntezę chemiczną: umożliwiającą uzyskanie syntetycznego XN.

Znanym surowcem naturalnym z którego izoluje się ksantohumol są szyszki chmielu, które zawierają średnio od 0, 1 do 1% XN, w zależności od odmiany. Metody izolowania naturalnego XN obejmują wieloetapową, czasochłonną ekstrakcję prowadzącą do uzyskania ekstraktu XN, zanieczyszczonego różnymi substancjami, których usuwanie za pomocą tanich metod krystalizacji jest znacząco ograniczone. Z tego powodu, ekstrakty poddaje się następnie rozdzielaniu na kolumnie chromatograficznej, izolując czysty XN. Sposób chromatograficznego oczyszczania charakteryzuje się jednak niską, niezadowalającą wydajnością oraz wysokimi kosztami aparaturowymi, dlatego też powyższe metody nie są stosowane na skalę przemysłową.

Znane są także chemiczne metody otrzymywania syntetycznego XN, które charakteryzują się nieco większą wydajnością. Droga syntezy chemicznej XN jest podyktowana wyborem substratu do syntezy (związku wyjściowego), który powinien być tani oraz łatwo dostępny. Niemniej jednak znane dotąd metody chemicznej syntezy XN także wymagają rozdzielenia chromatograficznego mieszaniny po reakcyjnej, celem izolacji czystego ksantohumolu, ze względu na powstające produkty uboczne, w tym np. różne izomery XN, niemożliwe do oddzielenia z wykorzystaniem metod krystalizacji.

Przykładowo, znana jest sześćoetapowa metoda syntetycznego wytwarzania XN z 2',4',6'-trihydroksyacetofenonu (1-acetylofloroglucinol), w której w pierwszym etapie prowadzi się metoksymetylowanie tego związku w celu osłony grup hydroksylowych w pozycjach 4' oraz 6'. Otrzymany w tym etapie 2'-hydroksy-4',6'-dimetoksymetylo-acetofenon poddaje się następnie reakcji Mitsunobu, w której donorem grupy prenylowej jest 3-metylo-2-buten-1-ol, zaś produktem prenylowany eter – z którego wytwarza się ksantohumol.

Inny znany sposób syntezy XN obejmuje reakcję alkilowania za pomocą bromku 3,3-dimetyloalilowego. W metodzie tej prenylowany eter w trzecim etapie poddaje się sigmatropowemu przegrupowaniu Claisena celem przyłączenia grupy prenylowej do pierścienia arylowego, a następnie metylowaniu wolnej grupy hydroksylowej. W kolejnym etapie uzyskany prenylowany keton poddaje się reakcji Claisena-Schmidta, polegającej na aldolowej kondensacji z aldehydem 4-hydroksylo-benzoesowym, zawierającym zablokowaną grupę hydroksylową, umożliwiającą utworzenie szkieletu chalkonu. W ostatnim etapie z prenylowanego chalkonu usuwa się ochronne grupy metoksymetylowe, uzyskując ksantohumol. Sumaryczna wydajność tej syntezy ksantohumolu, wynosi około 10%.

W związku ze znacząco lepszą wydajnością procesu wytwarzania XN na drodze syntezy chemicznej – w porównaniu z metodami jego ekstrakcyjnej izolacji z materiału roślinnego, XN syntetyczny poddano licznym badaniom mającym na celu sprawdzenie czy wykazuje on jednakowe działanie jak naturalny – wyizolowany XN. Badania te dowiodły, że XN syntetyczny niczym nie różni się od XN pochodzenia naturalnego. W szczególności, syntetyczny XN hamuje proliferację komórek nowotworowych i wykazuje aktywność przeciwtleniającą.

Także z literatury patentowej znane są sposoby syntezy chemicznej XN z wykorzystaniem różnych substratów. Przykładowo w publikacji zgłoszenia międzynarodowego WO2009026206 opisano ścieżkę syntezy XN z 1-acetylofloroglucynolu – jako substratu wyjściowego, reakcja ta jest jednak wieloetapowa i prowadzi do uzyskania poza XN, także produktu ubocznego, który wykazuje znacznie słabszą aktywność biologiczną niż XN. Celem uzyskania czystego XN produkty tej reakcji poddaje się rozdzielaniu chromatograficznemu, co wpływa na wzrost kosztów procedury.

W związku z powyższym istnieje ciągle potrzeba modyfikacji znanych ścieżek chemicznej syntezy XN, celem poprawy jej wydajności, a także ograniczenia – na szlaku syntezy XN, reakcji ubocznych prowadzących do tworzenia się niepożądanych produktów, niezdolnych do separacji krystalizacyjnej, a możliwych do oddzielenia od XN jedynie w wyniku rozdzielania chromatograficznego.

Celowym byłoby zatem opracowanie chemicznej syntezy XN która charakteryzowałaby się poprawioną wydajnością XN oraz zwiększoną czystością produktu końcowego, tak aby ograniczyć, a bardziej korzystnie całkowicie wyeliminować konieczność rozdzielania chromatograficznego, celem uzyskania czystego XN.

Istotą wynalazku jest sposób wytwarzania ksantohumolu (XN) charakteryzujący się tym, że ksantohumol wytwarza się z naringeniny w procesie, w którym: acyluje się grupy hydroksylowe przy atomach węgla 7 i 4' ugrupowania flawonowego naringeniny uzyskując produkt acylowania, produkt acylowania poddaje się reakcji alkilowania wolnego ugrupowania hydroksylowego do alkoksylowego i reakcji przekształcenia ugrupowania flawonowego do ugrupowania chalkonowego, w obecności nienukleofilowej zasady, w polarnym rozpuszczalniku aprotycznym, uzyskując związek chalkonowy. Natomiast uzyskany związek chalkonowy poddaje się kolejno: reakcji hydrolizy jego grup estrowych przy atomach węgla 4, 4' i 6 ugrupowania chalkonowego do grup hydroksylowych oraz reakcji podstawienia ugrupowania prenylowego przy atomie węgla 5' ugrupowania chalkonowego, uzyskując ksantohumol.

Korzystnie, acylowanie prowadzi się bezwodnikiem octowym.

Korzystnie, produkt acylowania oczyszcza się na drodze krystalizacji.

Korzystnie, reakcję alkilowania prowadzi się czynnikiem alkilującym wybranym z grupy jodków i bromków alkilu C1-C8.

Korzystnie, reakcję alkilowania prowadzi się czynnikiem alkilującym wybranym z grupy jodku metylu i bromku metylu.

Korzystnie, reakcję przekształcenia ugrupowania flawonowego do ugrupowania chalkonowego prowadzi się w obecności nienukleofilowej zasady wybranej z grupy składającej się z: 1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undek-7-enu (DBU), 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu (DABCO) oraz 4-(N,N-dimetyloamino)pirydyny (DMAP).

Korzystnie, reakcję przekształcenia ugrupowania flawonowego do ugrupowania chalkonowego prowadzi się w polarnym rozpuszczalniku aprotycznym wybranym z grupy składającej się z: dimetyloformamidu (DMF), N-metylopirolidonu (NMP) oraz dimetyloacetamid (DMAc).

Korzystnie, uzyskany związek chalkonowy poddaje się reakcji hydrolizy, którą prowadzi się z udziałem alkoholu etylowego w środowisku zasadowym.

Korzystnie, reakcję podstawienia ugrupowania prenylowego prowadzi się z udziałem czynnika prenylującego zawierającego ugrupowanie 1,1-dimetyloallilowe.

Korzystnie, jako czynnik prenylujący stosuje się alkohol 1,1-dimetyloallilowy lub ester kwasu octowego alkoholu 1,1-dimetyloallilowego.

Korzystnie, reakcję podstawienia ugrupowania prenylowego prowadzi się w obecności eteratu trifluorku boru ( $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ ) w dioksanie, w podwyższonej temperaturze.

Korzystnie, reakcję prowadzi się w temperaturze wynoszącej 40°C.

Opracowana metoda syntezy XN charakteryzuje się nie tylko poprawioną wydajnością produktu, lecz także wysoką czystością otrzymywanego XN. Ksantohumol wytworzony niniejszym sposobem można oczyszczać na drodze tańszych metod krystalizacyjnych, bez konieczności stosowania rozdzielania chromatograficznego.

Powyższy efekt osiągnięto w wyniku wyboru odpowiedniego substratu do syntezy XN, którym wg opracowanej metody jest naringenina. Naringenina jest powszechnie dostępnym i stosunkowo tanim surowcem. Ponadto opracowane warunki reakcji z udziałem naringeniny umożliwiają znaczące ograniczenie, zachodzenia reakcji prowadzących do produktów ubocznych, w tym także takich, których usunięcie wymagałoby rozdzielania chromatograficznego.

Powyższe zalety, to jest poprawiona wydajność syntezy i wysoka czystość produktu umożliwiają stosowanie opracowanej metody syntezy XN nie tylko na skalę laboratoryjną, ale także na skalę półtechniczną czy przemysłową – zapewniając ograniczenie kosztów produkcji, w porównaniu z metodami znanymi.

Opracowana metoda ze względu na opłacalność nadaje się w szczególności do realizowania w skali przemysłowej.

Przedmiot wynalazku przedstawiono w przykładzie wykonania, na rysunku na którym: Fig. 1 przedstawia przykładowy szlak syntezy XN według wynalazku;

Oznaczenia numeryczne zastosowane na rysunku:

11 – reakcja acylowania

12 – reakcja alkilowania i reakcja przekształcenia ugrupowania flawonowego do ugrupowania chalkonowego (z otwarciem pierścienia),

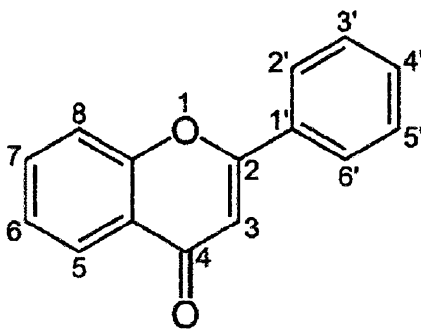
13 – reakcja hydrolizy,

14 – reakcja podstawienia grupy prenylowej.

Sposobem według wynalazku ksantohumol wytwarza się z naringeniny – jako substratu – związek I. Naringenina (nr CAS związku: 480-41-1) stanowi flawonoid, zawarty w wielu owocach, w tym między innymi soku grejfruta oraz nasionach dojrzałych owoców brzoskwini. Proces izolacji naringeniny z surowca roślinnego jest prosty i wydajny, w związku z czym naringenina jest powszechnie dostępna i stosunkowo niedroga.

Sposobem według wynalazku jako substrat w syntezie XN można stosować naringeninę pochodzenia naturalnego i/lub syntetycznego. Pochodzenie tego substratu nie wpływa na wydajność produktu końcowego: XN. Naringenina zawiera w swojej strukturze ugrupowanie flawonowe, dla którego poniżej przedstawiono numerację węgli, celem większej jasności oznaczeń stosowanych w dalszej części opisu.

Numeracja węgli ugrupowania flawonowego:



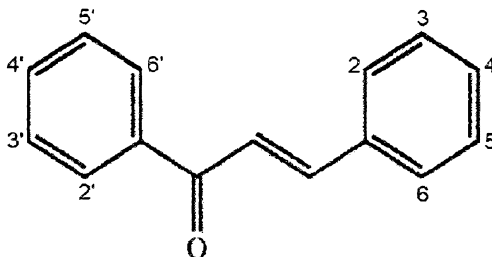
Jak przedstawiono na Fig. 1, opracowanym sposobem, w pierwszym etapie prowadzi się reakcję acylowania naringeniny: reakcja 11. Reakcję 11 prowadzi się w warunkach umożliwiających podstawienie ugrupowania acylowego w ugrupowaniach hydroksylowych w pozycjach 7 i 4' ugrupowania flawonowego naringeniny.

Przykładowo acylowanie można prowadzić za pomocą bezwodnika octowego ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ), w środowisku pirydyny (Py), w temperaturze pokojowej. Produkt acylowania, oznaczony na Fig. 2, jako związek II, korzystnie oczyszcza się, przykładowo na drodze krystalizacji. W takich warunkach uzyskuje się 57% wydajności związku II w reakcji acylowania.

Reakcja zachodzi selektywnie ponieważ grupa hydroksylowa w pozycji 5 w cząsteczce naringeniny związana jest wewnątrzcząsteczkowym wiązaniem wodorowym z atomem tlenu grupy karbonylowej przy atomie węgla 4 ugrupowania flawonowego naringeniny. Dzięki temu zjawisku przy zastosowaniu odpowiedniego stosunku reagentów w pierwszej kolejności reakcji acylowania ulegają grupy hydroksylowe przy atomach węgla 7 i 4' ugrupowania flawonowego naringeniny.

Następnie produkt acylowania (związek II) poddaje się reakcji 12. Reakcja ta obejmuje selektywne alkilowanie ugrupowania hydroksylowego (-OH) związku II, przy węglu 5 ugrupowania flawonowego, oraz otwarcie pierścienia ugrupowania flawonowego z wytworzeniem układu chalkonowego, uzyskując jako główny produkt reakcji związek chalkonowy, oznaczony na Fig. 1 jako związek III. Dla większej jasności stosowanych w opisie oznaczeń, poniżej przedstawiono numerację węgli ugrupowania chalkonowego.

Numeracja węgli ugrupowania chalkonowego, powstałego w reakcji 12:



W reakcji 12 można stosować różne czynniki alkilujące, to jest donory ugrupowania alkilowego (R) umożliwiające alkilowanie ugrupowania hydroksylowego związku II, z wytworzeniem ugrupowania alkoksylowego (-OR), w warunkach prowadzonej reakcji. Przykładowo, jako czynnik alkilujący stosować można fluorowec alkilu, korzystnie taki jak jodek alkilu bądź bromek alkilu. Bardziej korzystnie jako czynnik alkilujący stosuje się fluorowce metylu, takie jak bromek metylu, a bardziej korzystnie jodek metylu (MeI).

Zastosowanie jodku alkilu w reakcji alkilowania, a bardziej korzystnie jodku metylu (MeI), zapewnia dodatkową poprawę wydajności reakcji 12, przy czym reakcja 12 z jodkiem metylu charakteryzuje się najlepszą wydajnością.

Reakcję 12 prowadzi się w warunkach polarnego rozpuszczalnika aprotycznego. Jako polarny rozpuszczalnik aprotyczny można stosować różne rozpuszczalniki lub też mieszaniny dwóch lub więcej takich rozpuszczalników, a korzystnie co najmniej jeden polarny rozpuszczalnik aprotyczny wybrany z grupy składającej się z: dimetyloformamidu (DMF), *N*-metylopirolidonu (NMP) oraz *N,N*-dimetyloacetamid (DMAc).

Reakcję 12 prowadzi się przy pH w zakresie od 7 do 12, z zastosowaniem nienukleofilowej zasady, korzystnie co najmniej jednej nienukleofilowej zasady wybranej z grupy składającej się z: 1,8-diazabicyklo[5.4.0]undek-7-enu (DBU), 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu (DABCO) oraz 4-(*N,N*-dimetyloamino)pirydyny (DMAP).

Reakcję 12 można prowadzić w temperaturze pokojowej, przez czas niezbędny na przereagowanie związku II do związku III, około 12 godzin. Natomiast korzystniej gdy reakcję prowadzi się przez 2 godziny w temperaturze 50°C, a produkt oczyszcza za pomocą chromatografii kolumnowej. W takich warunkach osiąga się wydajność produktu – związek III na poziomie 44%. Jako produkt uboczny, z niewielką wydajnością wynoszącą około 2%, uzyskuje się także związek IV, produkt metylowania bez otwarcia pierścienia flawonowego

Grupa acetylowa (-OAc) powstała przy węglu 6' w reakcji 12 pochodzi od innych cząsteczek substratu. Po reakcji eliminacji typu E2CB następuje otwarcie pierścienia flawonoidowego i reakcji utworzonego anionu fenolanowego z jodkiem alkilu. Następnie następuje transacetylowanie grupy hydroksylowej w pozycji 5 przy udziale cząsteczki substratu.

Korzystnym jest również prowadzenie reakcji 12 czyli reakcji z udziałem nienukleofilowej zasady – jak wskazano powyżej, jodku metylu (MeI) oraz jako czynnika acylującego: bezwodnika octowego, w rozpuszczalnikach wybranych z grupy: dichlorometan, chloroform, tetrahydrofuran, *N,N*-dimetyloformamid, i/lub *N*-metylopirolidon. W takim wypadku czynnik acylujący pochodzi z zewnętrznego źródła co zapewnia uzyskanie bardziej powtarzalnych rezultatów w reakcji 12.

Reakcja alkilowania i reakcja otwarcia pierścienia flawonowego, realizowane mogą być także w dwóch osobnych etapach. Jako pierwszy etap prowadzić można reakcję alkilowania, korzystnie bromkiem metylu, celem zblokowania grupy hydroksylowej przy węglu 5 ugrupowania flawonowego związku II. Natomiast jako drugi, odrębny etap prowadzić można reakcję przekształcenia ugrupowania flawonowego do

ugrupowania chalkonowego – a zatem tak aby otwarcie pierścienia ugrupowania flawonowego realizować przy zablokowanych wszystkich podstawnikach wodorotlenowych ugrupowania flawonowego.

Niemniej jednak opracowany sposób umożliwi prowadzenie obydwu reakcji: alkilowania i wytworzenia ugrupowania chalkonowego – jednocześnie, we wspólnym środowisku reakcji 12, co ogranicza czas reakcji, pracochłonność procesu, a także ilość urządzeń niezbędnych do jego realizacji. W reakcji 12, w wyniku zastosowania środowiska reakcji jak opisano szczegółowo poniżej, otwarcie pierścienia w układzie flawonowym zachodzi na etapie, w którym wszystkie ugrupowania wodorotlenowe są zablokowane.

Zablokowanie wszystkich grup wodorotlenowych zapobiega w stopniu znaczącym reakcjom cyklizacji i mogącym im towarzyszyć reakcjom izomeryzacji. Z tego powodu opracowanym sposobem w procesie syntezy XN nie tworzą się niepożądane produkty uboczne, a wytworzony ksantohumol nie wymaga oczyszczania na kolumnie chromatograficznej.

Otwarcie ugrupowania flawonowego związku II, sposobem według wynalazku, prowadzi się w rozpuszczalniku bezwodnym którym jest polarny rozpuszczalnik aprotyczny, lub też mieszanina kilku takich rozpuszczalników. Reakcję prowadzi się w środowisku zasadowym, z zastosowaniem zasady, która w zadanych warunkach jest nienukleofilowa. Dobór warunków reakcji: odpowiedni rozpuszczalnik i zasada, zapewniają łącznie wysoką selektywność reakcji i bardzo dobrą wydajność związku III.

W toku prac nad poprawą wydajności reakcji 12 zauważono, że najlepszą wydajność związku chalkonowego (związek III), osiąga się przy zastosowaniu jodku metylu (Mel) jako czynnika alkilującego, DBU jako nienukleofilowej zasady oraz DMF jako rozpuszczalnika.

Związek chalkonowy (związek III) poddaje się następnie reakcji 13 hydrolizy, w której prowadzi się hydrolizę ugrupowań estrowych:  $-O-C(O)-CH_3$  (-OAc), uzyskując jako produkt związek chalkonowy z ugrupowaniami wodorotlenowymi przy atomach węgla 4 i 4' i 6 ugrupowania chalkonowego (związek V).

Jako czynnik hydrolizujący ugrupowania estrowe do grup hydroksylowych stosować można różne alkohole, korzystnie alkohole C1-C8, przykładowo, takie jak: alkohol etylowy, alkohol metylowy, alkohol propylowy, alkohol izopropylowy, alkohol butylowy, czy alkohol izobutylowy.

Reakcję hydrolizy 13 prowadzi się w środowisku zasadowym, korzystnie przy pH w zakresie od 12 do 14, w obecności silnej zasady, korzystnie wodorotlenku litowca, lub wapniowca, takiej jak na przykład: KOH, NaOH, LiOH, węglanów litowca takich jak:  $Na_2CO_3$ ,  $K_2CO_3$  lub też alkoholanów: litowców, lub wapniowców, takich jak na przykład: MeONa (sól sodowa alkoholu metylowego), *t*-BuOK (sól potasowa alkoholu tert-butylowego).

Bardzo dobrą wydajność reakcji hydrolizy uzyskuje się przy zastosowaniu alkoholu etylowego jako czynnika hydrolizującego w obecności KOH. Reakcja w takich warunkach prowadzona w temperaturze pokojowej przez 2 godziny, zachodzi ze 100%-ową wydajnością.

Następnie związek V poddaje się reakcji 14 z wytworzeniem ksantohumolu: związek VI. W reakcji 14 prenylowania do węgla 3 ugrupowania chalkonowego podstawiona zostaje grupa prenylowa ( $-CH_2-CH=C-(CH_3)_2$ ).

Jako donor grupy prenylowej, czyli związek umożliwiający podstawienie grupy prenylowej w układzie chalkonowym, stosować można różne związki z ugrupowaniem 1,1-dimetyloallilowym, przykładowo: alkohol 1,1-dimetyloallilowy czy ester kwasu octowego i alkoholu 1,1-dimetyloallilowego.

Reakcję prowadzi się w obecności katalizatora, korzystnie eteratu trifluorku boru ( $BF_3 \cdot O(CH_2CH_3)_2$ ), nr CAS związku: 109-63-7).

Reakcja 14 przebiega w rozpuszczalniku organicznym, korzystnie wybranym z grupy składającej się z: dioksanu, tetrahydrofuranu (THF), 1,2-dimetoksyetanu oraz toluenu.

Korzystnie reakcję 14 prowadzi się w podwyższonej temperaturze w zakresie od 30 do 150°C, a bardziej korzystnie temperaturze 40°C, stosując chromatografię kolumnową w celu oczyszczania produktu reakcji.

Nieznacznie podwyższona temperatura zapewnia wyższą wydajność reakcji. W toku przeprowadzonych badań nieoczekiwanie okazało się, że bardzo dobrą wydajność reakcji 14 prenylowania ugrupowania chalkonowego z wytworzeniem ksantohumolu, uzyskuje się przy zastosowaniu alkoholu 1,1-dimetyloallilowego jako czynnika prenylującego w obecności eteratu trifluorku boru, w środowisku dioksanu – jako rozpuszczalnika, utrzymując temperaturę 40°C. W takich warunkach uzyskuje się wydajność reakcji 14 wynoszącą około 35%. Czas tej reakcji to korzystnie 2 godziny.

Produkt reakcji 14: ksantohumol, oznaczony na fig. 1 jako związek VI można oczyścić poprzez jego krystalizację, która jest znaną i tanią metodą izolacji. Jest to spowodowane brakiem zanieczyszczeń w mieszaninie poreakcyjnej, takich jak na przykład izoksantohumol, a zatem niemożliwych do wydzielenia na drodze krystalizacji.

Całkowita wydajność jaką można uzyskać opracowanym sposobem to około 13%. Znaczącą zaletą opracowanego szlaku syntezy jest także eliminacja konieczności oczyszczania produktu: XN na kolumnie chromatograficznej.

Z powyższych przyczyn synteza nadaje się w szczególności do produkcji XN na skalę przemysłową, niemniej jednak w zależności od potrzeb może być także stosowana na mniejszą skalę, w tym laboratoryjną czy półtechniczną.

XN otrzymany sposobem według wynalazku wykazuje zadowalającą czystość, oraz może być stosowany jako składnik różnych kompozycji, w tym kompozycji kosmetycznych – jako ich składnik aktywny.

#### PRZYKŁAD WYKONANIA:

Synteza związku II: Octan 4-(7-acetoksy-5-hydroksy-4-oksochroman-2-yl)fenylu:

a) Do roztworu Naringeniny (Związek I) (2,72 g, 10 mmoli) w suchej pirydynie (10 mL) wkraplano, w temperaturze pokojowej, bezwodnik octowy (1,88 mL, 20 mmoli). Po wkropleniu całość mieszano przez 2 godziny. Po tym czasie zawartość kolby wylano na mieszaninę wody z lodem. Wytrącił się osad, który odsączono, a następnie krystalizowano z metanolu, otrzymując 2,02 g produktu z wydajnością 57%.

Otrzymany produkt poddano analizie  $^1\text{H}$  NMR, uzyskując widmo  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm); 2,29 (s, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,89 (dd, 1H,  $J=17,2$  Hz,  $J=2,8$  Hz), 3,10 (dd, 1H,  $J=17,2$  Hz,  $J=13,2$  Hz), 5,45 (dd, 1H,  $J=13,2$  Hz,  $J=2,8$  Hz), 6,30 (d, 1H,  $J=2,1$  Hz), 6,31 (d, 1H,  $J=2,1$  Hz), 7,16 (d, 2H,  $J=8,5$  Hz), 7,46 (d, 2H,  $J=8,5$  Hz), 11,83 (s, 1H).

b) Synteza związku III: Diocan(E)-4-(3-(4-acetoksyfenylo)akryloilo)-5-metoksy-1,3-fenylenu:

W dokładnie wysuszonej kolbie okrągłodennej, w atmosferze argonu, umieszczono octan 4-(7-acetoksy-5-hydroksy-4-oksochroman-2-yl)fenylu (Związek II) (4,0 g, 11,2 mmol) rozpuszczony w suchym *N,N*-dimetyloformamid (DMF) (20 mL). Następnie dodano (DBU) (2,5 mL, 16,8 mmol). Całość ogrzano do temperatury  $50^\circ\text{C}$  i dodano kroplami jodek metylu (1,05 mL, 16,8 mmol) a następnie bezwodnik octowy (0,99 mL, 11,2 mmoli). Mieszano w tej temperaturze przez 2 h, do zaniku substratu. Kontrola reakcji za pomocą HPLC-MS. Reakcję zakończono dodając wodę (50 mL) i ekstrahowano octanem etylu (3 x 30 mL). Połączone ekstrakty przemyto wodą (20 mL) a następnie suszono nad bezwodnym  $\text{MgSO}_4$ , przesączono i odparowano. Surowy produkt oczyszczono na kolumnie chromatograficznej typu Flash (eluent eter naftowy/octan etylu 7/3). Otrzymano 1,83 g intensywnie żółtego produktu z wydajnością 44%.

Otrzymany produkt poddano analizie  $^1\text{H}$  NMR, uzyskując widmo  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm); 2,15 (s, 3H), 2,30 (s, 3H), 2,31 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 6,64 (d, 1H,  $J=1,4$  Hz), 6,65 (d, 1H,  $J=1,4$  Hz), 6,90 (d, 1H,  $J=16,1$  Hz), 7,12 (d, 2H,  $J=8,4$  Hz), 7,38 (d, 1H,  $J=16,1$  Hz), 7,55 (d, 2H,  $J=8,4$  Hz).

c) Synteza związku V: (E)-1-(2,4-Dihydroksy-6-metoksyfenylo)-3-(4-hydroksyfenylo)prop-2-en-1-on:

W kolbie okrągłodennej umieszczono dioctan (E)-4-(3-(4-acetoksyfenylo)akryloilo)-5-metoksy-1,3-fenylenu (Związek III) (1,60 g, 3,88 mmol) rozpuszczony w EtOH (10 mL), oraz wodorotlenek potasu (0,44 g, 7,77 mmol). Mieszano w temperaturze pokojowej przez 2 godziny. Kontrola reakcji HPLC-MS. Po zaniku substratu, do mieszaniny dodano 2M HCl (5 mL). Mieszaninę przeniesiono do rozdzielacza, ekstrahowano octanem etylu (3 x 30 mL). Połączone ekstrakty przemyto wodą (20 mL) a następnie suszono nad bezwodnym  $\text{MgSO}_4$ , przesączono i odparowano. Otrzymano czysty produkt, który jest żółtym ciałem stałym. Wydajność reakcji 100 % (1,05 g).

Otrzymany produkt poddano analizie  $^1\text{H}$  NMR, uzyskując widmo  $^1\text{H}$  NMR (700 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm); 3,80 (s, 3H), 6,60 (d, 1H,  $J=1,5$  Hz), 6,67 (d, 1H,  $J=1,5$  Hz), 6,99 (d, 1H,  $J=16,0$  Hz), 7,14 (d, 2H,  $J=8,5$  Hz), 7,42 (d, 1H,  $J=16,0$  Hz), 7,67 (d, 2H,  $J=8,5$  Hz).

d) Synteza związku VI: ksantohumol

W dokładnie wysuszonej kolbie okrągłodennej umieszczono, w atmosferze azotu (E)-1-(2,4-dihydroksy-6-metoksyfenylo)-3-(4-hydroksyfenylo)prop-2-en-1-on (Związek V) (2,86 g, 10 mmoli), tetrahydrofuran (10 mL), alkohol 1,1-dimetyloallilowy (1,03 g, 12 mmoli). Mieszaninę ogrzano do temperatury  $40^\circ\text{C}$  i wkroplono eterat trifluorku boru (2,50 mL, 20 mmoli). Po wkropleniu mieszano przez 2 godziny, a następnie wylano do wody (30 mL) i ekstrahowano octanem etylu (3 x 15 mL). Połączone ekstrakty

przemyto wodą (15 mL), a następnie suszono nad bezwodnym  $MgSO_4$ , przesączono i odparowano. Surowy produkt oczyszczano na kolumnie chromatograficznej typu Flash w układzie heksan/AcOEt (1/1). Otrzymano 1,24 g produktu z wydajnością 35%.

Otrzymany produkt poddano analizie  $^1H$  NMR, uzyskując widmo  $^1H$  NMR (700 MHz,  $CD_3OD$ ),  $\delta$  (ppm); 1,65 (bs, 3H), 1,76 (bs, 3H), 3,22 (d,  $J=7,3$  Hz), 3,90 (s, 3H), 5,21--5,18 (m, 1H), 5,21-5,18 (m, 1H), 6,02 (s, 1H), 6,02 (s, 1H), 6,82 (d,  $J=8,6$  Hz, 2H), 7,50 (d,  $J=8,6$  Hz, 2H), 7,67 (d,  $J=15,5$  Hz, 1H), 7,79 (d,  $J=15,5$  Hz, 1H).

### Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania ksantohumolu (XN) **znamienny tym**, że ksantohumol wytwarza się z naringeniny w procesie, w którym:
  - acyluje się grupy hydroksylowe przy atomach węgla 7 i 4' ugrupowania flawonowego naringeniny uzyskując produkt acylowania,
  - produkt acylowania poddaje się reakcji alkilowania wolnego ugrupowania hydroksylowego do alkoksylowego i reakcji przekształcenia ugrupowania flawonowego do ugrupowania chalconowego, w obecności nienukleofilowej zasady, w polarnym rozpuszczalniku aprotycznym, uzyskując związek chalconowy,
  - przy czym uzyskany związek chalconowy poddaje się kolejno:
    - reakcji hydrolizy jego grup estrowych przy atomach węgla 4, 4' i 6 ugrupowania chalconowego do grup hydroksylowych oraz
    - reakcji podstawienia ugrupowania prenylowego przy atomie węgla 5' ugrupowania chalconowego, uzyskując ksantohumol.
2. Sposób według zastrz. 2 **znamienny tym**, że acylowanie prowadzi się bezwodnikiem octowym.
3. Sposób według dowolnego z powyższych zastrz., **znamienny tym**, że produkt acylowania oczyszcza się na drodze krystalizacji.
4. Sposób według dowolnego z powyższych zastrz., **znamienny tym**, że reakcję alkilowania prowadzi się czynnikiem alkilującym wybranym z grupy jodków i bromków alkilu C1-C8.
5. Sposób według zastrz. 4 **znamienny tym**, że reakcję alkilowania prowadzi się czynnikiem alkilującym wybranym z grupy jodku metylu i bromku metylu.
6. Sposób według dowolnego z powyższych zastrz., **znamienny tym**, że reakcję przekształcenia ugrupowania flawonowego do ugrupowania chalconowego prowadzi się w obecności nienukleofilowej zasady wybranej z grupy składającej się z: 1,8-Diazabicyklo[5.4.0]undek-7-enu (DBU), 1,4-diazabicyklo[2.2.2]oktanu (DABCO) oraz 4-(N,N-dimetyloamino)pirydyny (DMAP).
7. Sposób według dowolnego z powyższych zastrz., **znamienny tym**, że reakcję przekształcenia ugrupowania flawonowego do ugrupowania chalconowego prowadzi się w polarnym rozpuszczalniku aprotycznym wybranym z grupy składającej się z: dimetyloformamidu (DMF), N-metylopirolidonu (NMP) oraz dimetyloacetamid (DMAc).
8. Sposób według dowolnego z powyższych zastrz., **znamienny tym**, że uzyskany związek chalconowy poddaje się reakcji hydrolizy, którą prowadzi się z udziałem alkoholu etylowego w środowisku zasadowym.
9. Sposób według dowolnego z wcześniejszych zastrz., **znamienny tym**, że reakcję podstawienia ugrupowania prenylowego prowadzi się z udziałem czynnika prenylującego zawierającego ugrupowanie 1,1-dimetyloallilowe.
10. Sposób według zastrz. 9 **znamienny tym**, że jako czynnik prenylujący stosuje się alkohol 1,1-dimetyloallilowy lub ester kwasu octowego alkoholu 1,1-dimetyloallilowego.
11. Sposób według dowolnego z powyższych zastrz., **znamienny tym**, że reakcję podstawienia ugrupowania prenylowego prowadzi się w obecności eteratu trifluorku boru ( $BF_3 \cdot O(CH_2CH_3)_2$ ) w dioksanie, w podwyższonej temperaturze.
12. Sposób według zastrz. 11 **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w temperaturze wynoszącej  $40^\circ C$ .

Rysunek

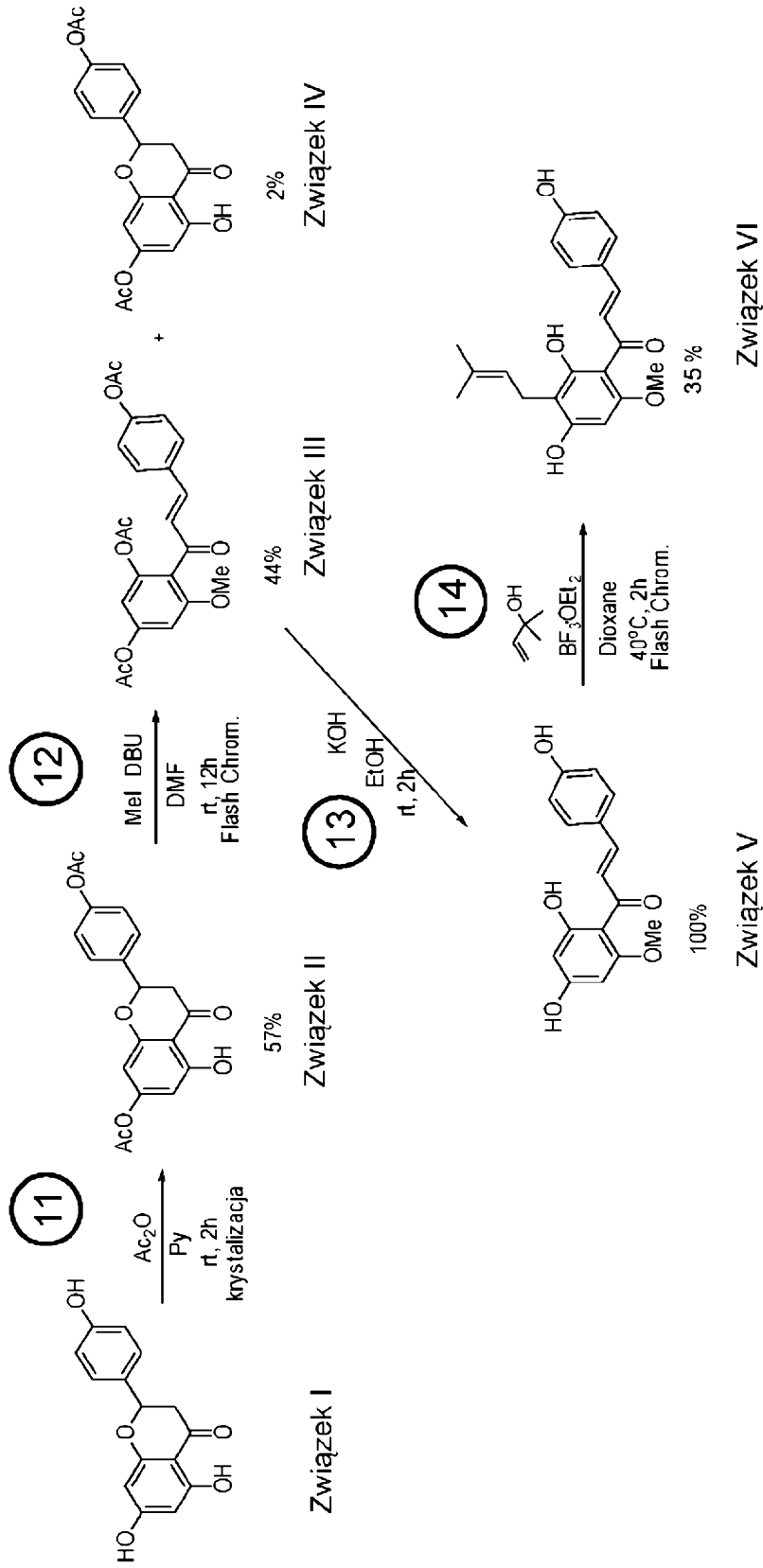


Fig. 1