

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **238044**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **428571**

(51) Int.Cl.
C07D 311/32 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **14.01.2019**

(54)

Sposób otrzymywania analogu flawanonu

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

27.07.2020 BUP 16/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

28.06.2021 WUP 13/21

(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

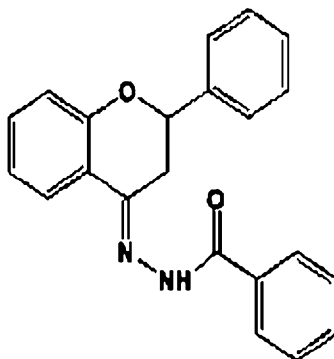
(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Ewa Kaczur-Kaczyńska

PL 238044 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania analogu flawanonu, o nazwie chemicznej (*E*)-*N'*-(2-fenylochroman-4-ylideno)benzohydrazyd, o wzorze 1



wzór I

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 gruczolaka płuca 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.

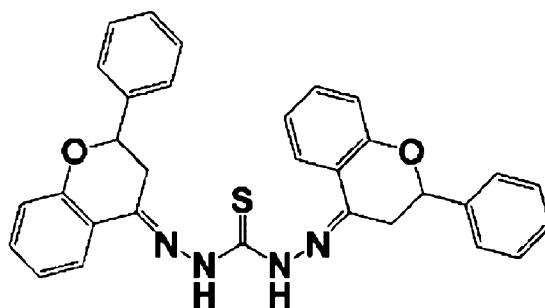
Znane są związki chemiczne, takie jak tiosemikarbazyd, izoniazyd i benzhydrazyd, z których tiosemikarbazyd wykazuje interesujące właściwości chemiczne i biologiczne, izoniazyd i jego pochodne są stosowane w leczeniu gruźlicy, benzhydrazyd charakteryzuje się strukturą podobną do struktury izoniazydu.

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

Analog flawanonu, o nazwie chemicznej (*E*)-*N'*-(2-fenylochroman-4-ylideno)benzohydrazyd, o wzorze 1 jest znany z czasopisma *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 2006, 8, 5, 655.

Z publikacji w czasopiśmie *Inorganica Chimica Acta* 362 (2009) 4823–4831 jest znany sposób otrzymywania pochodnej flawanonu z hesperetyny i benzhydrazidu, polegający na tym, że hesperetynę i benzhydrazyd rozpuszcza się w metanolu, a następnie dodaje się kwas octowy jako katalizator i całość ogrzewa do wrzenia pod chłodnicą zwrotną w ciągu 24 godzin. Roztwór powstały po tym czasie zatęże się i chłodzi, a powstały osad przesącza się i przemywa się dużą ilością wody. Następnie produkt poddaje się krystalizacji w mieszaninie dimetyloformamidu i wody, przesącza się i suszy.

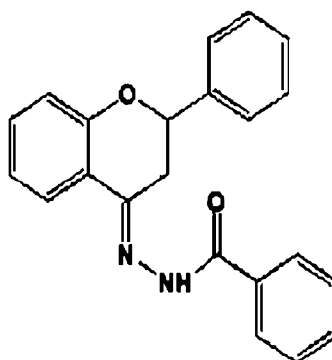
Z opisu zgłoszenia patentowego P. 424932 znany jest sposób otrzymywania hybrydowej pochodnej flawanonu, o wzorze A



wzór A

polegający na tym, że flawanon poddaje się reakcji z tiokarbohydrazidem w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego (VI) jako katalizatora, w temperaturze 80°C w czasie 24 godzin, po czym mieszaninę reakcyjną pozostawia 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 tiokarbohydrazidu, 15 ml bezwodnego etanolu, zaś stężony kwas siarkowy(VI) stosuje się w ilości zapewniającej pH reakcji = 4.

Sposób otrzymywania analogu flawanonu, o nazwie chemicznej (*E*)-*N'*-(2-fenylchroman-4-ylideno)benzohydrazid, o wzorze 1



wzór 1

z flawanonu, w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego(VI) jako katalizatora użytego w ilości zapewniającej pH reakcji = 4, **według wynalazku** polega na tym, że flawanon poddaje się reakcji z benzohydrazidem (hydrazidem kwasu benzoowego) w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego(VI) w temperaturze 60°C w czasie 24 godzin, stosując na 0,22 g flawanonu 0,1363 g hydrazidu kwasu benzoowego i 10 ml bezwodnego etanolu, po czym mieszaninę reakcyjną z wytrąconym osadem pozostawia się do wystudzenia. Wytrącony osad produktu sączy się pod próżnią i przemywa etanolem oraz wodą destylowaną.

Analog flawanonu, o wzorze 1 wykazuje w badaniach *in vitro* zwiększoną aktywność antyoksydacyjną i przeciwmikrobiologiczną oraz oddziałuje z białkami, w związku z czym może on znaleźć zastosowania w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym jako antyoksydant i jako związek zapobiegający rozwojowi mikroorganizmów oraz w biotechnologii do badania oddziaływań z białkami.

Sposób według wynalazku, ilustruje poniższy przykład.

P r z y k ł a d

224,4 mg (1 mmol) flawanonu i 136,3 mg (1 mmol) hydrazidu kwasu benzoowego 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 wystudzono i odsączono pod próżnią, przemyto bezwodnym etanolem i destylowaną wodą i pozostawiono w eksykatorze do wysuszenia.

Otrzymano 187,10 mg produktu, który stanowił żółty proszek o temperaturze topnienia 203–204°C.

Wyniki analizy elementarnej, IR, NMR, ESI-MS i UV-Vis otrzymanego produktu były następujące:
analiza elementarna: C 77,17%, H 5,30%. N 8,18%. O 9,35%, znaleziono: C 76,97%; H 5,56%;

N 8,01%;

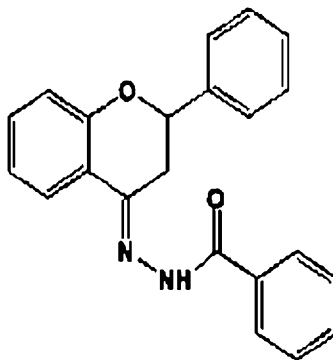
IR $\nu_{\max}$ (cm⁻¹): ν (N-Hstretch) 3170, ν (C-U) 3066, ν (C=O) 1629, ν (C=N): 1539; ¹H NMR (DMSO-d₆, 200MHz), δ =2.88 (2H, m, 3(a), 3(e)-H); 5.27 (1H, d, J= 9.6 Hz, 2-H); 7.04 (2H, m, 6, 8-H); 7.46 (9H, m, 7.2',3',4',5', 6', 3'', 4'', 5''-H); 7.85 (2H, d, J=7 Hz, 2'', 6'') 8.06(1H,d, J=8,5-H); 10.90) (1H, bs,-NH-C=S);

HPLC ESI-MS dla C₂₂H₁₈N₂O₂ [M-H]: *m/z* 341,39 znaleziono: *m/z* 341,12 UV-Vis $\lambda_{\max}$ (nm) w DMSO: 326 nm, DMF: 324 nm

i świadczą o tym, że stanowi on pochodną benzohydrazonową flawanonu, o wzorze 1.

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób otrzymywania analogu flawanonu, o nazwie chemicznej (*E*)-*N'*-2-fenylochroman-4-ylideno)benzohydrazyd, o wzorze 1



wzór I

z flawanonu, w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego(VI) jako katalizatora użytego w ilości zapewniającej pH reakcji =4, **znamienny tym**, że flawanon poddaje się reakcji z hydrazidem kwasu benzoowego w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego(VI) w temperaturze 60°C w czasie 24 godzin, stosując na 0,22 g flawanonu 0,1363 g hydrazidu kwasu benzoowego i 10 ml bezwodnego etanolu, po czym mieszaninę reakcyjną z wytrąconym osadem pozostawia się do wystudzenia, a następnie wytrącony osad produktu sączy się pod próżnią i przemywa etanolem i wodą destylowaną.