

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **238799**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **428568**

(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:

04.10.2021 WUP 27/21

(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

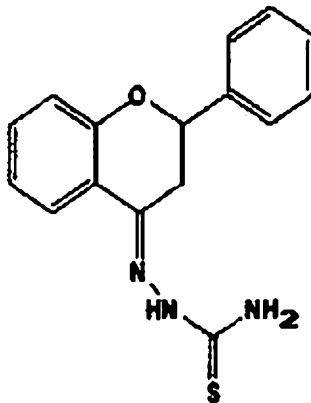
(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Ewa Kaczur-Kaczyńska

PL 238799 B1

Opis wynalazku

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



wzór 1

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.

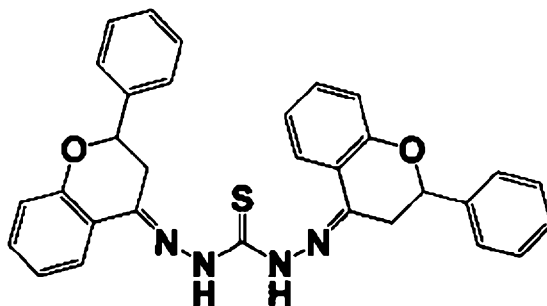
Znane są związki chemiczne, takie jak tiosemikarbazyd, izoniazyd i benzhydrazyd, z których tiosemikarbazyd wykazuje interesujące właściwości chemiczne i biologiczne, izoniazyd i jego pochodne są stosowane w leczeniu gruźlicy, benzhydrazyd charakteryzuje się strukturą podobną do struktury izoniazydu.

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*)-1-(2-fenylochroman-4-ylideno)tiosemikarbazyd, o wzorze 1 jest znany z czasopism: *Tetrahedron* 1967, 23, 11, 4317, *Tetrahedron* 1991, 47, 44, 9305 oraz *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2013, 23, 9, 2801.

Z publikacji w czasopiśmie *Inorganica Chimica Acta* 362 (2009) 4823–4831 jest znany sposób otrzymywania pochodnej flawanonu z hesperetyny i benzhydrazynu, polegający na tym, że hesperetynę i benzhydrazynę 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 zatężeja 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.

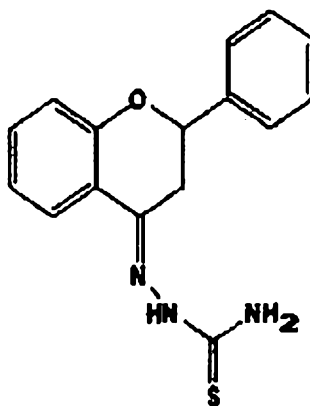
Z opisu zgłoszenia patentowego P. 424932 znany jest sposób otrzymywania hybrydowej pochodnej flawanonu, o wzorze A



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 wzorze 1



wzór 1

z flawanonu, w środowisku bezwodnego etanolu, w obecności stężonego kwasu siarkowego (VI) jako katalizatora w ilości zapewniającej pH reakcji = 4, **według wynalazku** polega na tym, że flawanon poddaje się reakcji z tiosemikarbazydem w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego (VI), w temperaturze 60°C w czasie 24 godzin, stosując na 0,22 g flawanonu 0,8950 g tiosemikarbazydu 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 znajduje zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym oraz kosmetycznym jako antyoksydant i 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 89.50 mg (1 mmol) tiosemikarbazydu 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 262.28 mg produktu, który stanowił kremowy proszek o temperaturze topnienia 199–200°C.

Wyniki analizy elementarnej, IR, NMR. ESI-MS i UV-Vis otrzymanego produktu były następujące: analiza elementarna: C 64,62%, H 5,08%, N 14,13%, O 5,38%, S 10,78%.

znaleziono: C 64,43%, H 5,23%, N 14,10%:

IR $\nu_{\max}$ (cm^{-1}): $\nu(\text{NH}_2)_{(\text{asym})}$: 3500, $\nu(\text{NH}_2)_{(\text{sym})}$: 3429, $\nu(\text{N-H})_{(\text{stretch})}$ 3215, $\nu(\text{C-H})$ 3138, $\nu(\text{C-N})$: 1600, $\nu(\text{C=S})$: 1120;

^1H NMR (DMSO-d_6 , 200 MHz), δ 2.82 (2H, m, 3(a), 3(e)-H); 5.23 (1H, d, $J = 11$ Hz, 2-H); 6.98 (2H, m, 6, 8-H); 7.36 (5H, m, 2', 3', 4', 5', 6'-H); 7.54 (1H, J = 6.6 Hz, 7-H); 8.11 (1H, s, 5-H); 8.31 (2H, d, $J = 7.4$ Hz, NH_2); 10.45 (1H, bs, -NH-C=S);

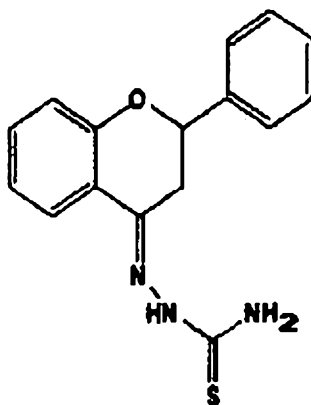
HPLC ESI-MS dla $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{OS}$ $[\text{M-H}]^-$: m/z 296.37, znaleziono: m/z 297, 14.

UV-Vis $\lambda_{\max}(\text{nm})$ w DMSO: 332 nm; w DMF: 330 nm;

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

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób otrzymywania analogu flawanonu, o nazwie chemicznej (*E*)-1-(2-fenylochroman-4-ylideno)tiosemikarbazyd, 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, **znamienny tym**, że flawanon poddaje się reakcji z tiosemikarbazdem w środowisku bezwodnego etanolu w obecności stężonego kwasu siarkowego (VI) w temperaturze 60°C w czasie 24 godzin, stosując na 0,22 g flawanonu 0,8950 g tiosomikarbazdu 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 oraz wodą destylowaną.