

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **235718**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **423056**

(22) Data zgłoszenia: **04.10.2017**

(51) Int.Cl.

C07C 49/84 (2006.01)

C12P 7/26 (2006.01)

C12R 1/01 (2006.01)

(54) **2,4-Dimetoksy-4'metylo- α,β -dihydrochalkon i sposób otrzymywania
2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

08.04.2019 BUP 08/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

05.10.2020 WUP 15/20

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

**JOANNA KOZŁOWSKA, Rawicz, PL
MIROSLAW ANIOŁ, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzcz. pat. Anna Kasperowicz

PL 235718 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkon o wzorze 2 przedstawiony na rysunku.

Przedmiotem wynalazku jest także sposób otrzymywania 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu.

Znany jest sposób redukcji α,β -nienasyconego wiązania pochodnych *trans*-chalkonu na drodze mikrobiologicznej (Stompor M. et al., *Appl Microbiol Biotechnol.* 2016, 100, 8371–8384) oraz chemicznej (Shang J. et al., *Eur. J. Org. Chem.* 2012, 2809–2815).

W dostępnej literaturze brak doniesień na temat 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu i sposobu jego otrzymywania.

Istota wynalazku polega na tym, że reakcję redukcji 2,4-dimetoksy-4'-metylochalkonu prowadzi się za pomocą systemu enzymatycznego szczepu bakterii z rodzaju *Rhodococcus* albo *Gordonia*, przy czym substrat dodaje się po upływie od 40 do 56 godzin, a reakcję prowadzi się w temperaturze od 20 do 32°C. Mieszaninę transformacyjną ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszącym się z wodą, ekstrakt osusza się za pomocą środka suszącego. Następnie rozpuszczalnik odparowuje się, a surowy ekstrakt oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej.

Korzystnie jest gdy szczepem jest *Rhodococcus sp.* DSM 364.

Korzystnie także jest gdy szczepem jest *Gordonia sp.* DSM 44456.

Korzystnie również jest, gdy substrat dodaje się po upływie 48 godzin.

Korzystnie jest także, gdy proces redukcji prowadzi się wodną kulturą, przy ciągłym mieszaniu, w temperaturze od 20 do 32°C.

Dodatkowo korzystnie jest, gdy rozpuszczalnikiem organicznym jest octan etylu.

Postępując zgodnie z wynalazkiem, w wyniku działania układu enzymatycznego bakterii z rodzaju *Rhodococcus* następuje reakcja redukcji podwójnego wiązania C=C substratu, w wyniku czego otrzymuje się 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkon z całkowitą wydajnością izolowaną 96%, w temperaturze pokojowej, przy ciśnieniu atmosferycznym, w środowisku wodnym i w pH bliskim obojętnego. W przypadku działania układu enzymatycznego bakterii z rodzaju *Gordonia* otrzymuje się ten sam produkt z całkowitą wydajnością izolowaną 80%.

Sposób wykonania objaśniony w poniższych przykładach.

Przykład 1:

Do trzech kolb płaskodennych o pojemności 2000 cm³ w których znajduje się po 300 cm³ sterylnej pożywki zawierającej 1% peptobaku, 0,2% ekstraktu drożdżowego, 0,2% hydrolizatu kazeiny, 0,6% chlorku sodu, 2% glukozy, wprowadza się szczep *Rhodococcus sp.* DSM 364. Po 48 godzinach wzrostu dodaje się do każdej kolby po 30 mg 2,4-dimetoksy-4'-metylochalkonu, o wzorze 1, rozpuszczonego w 1 cm³ acetonu. Transformację prowadzi się przy ciągłym wstrząsaniu przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Następnie uzyskany roztwór transformacyjny ekstrahuje się trzykrotnie octanem etylu, osusza za pomocą siarczanu (VI) sodu i odparowuje rozpuszczalnik. Otrzymuje się 334,2 mg surowego produktu, który oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent mieszaninę heksan:octan etylu w stosunku objętościowym 5:1. Na tej drodze otrzymuje się 87,4 mg 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu o wzorze 2, z wydajnością 96,4%.

Przykład 2:

Postępuje się jak w przykładzie 1, z tym, że do pożywki wprowadza się szczep *Gordonia sp.* DSM 44456. Otrzymuje się 340,6 mg surowego produktu, który oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej stosując jako eluent mieszaninę heksan:octan etylu w stosunku objętościowym 5:1. Na tej drodze otrzymuje się 72,7 mg 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu o wzorze 2, z wydajnością 80,2%.

Dane spektroskopowe otrzymanego związku są następujące:

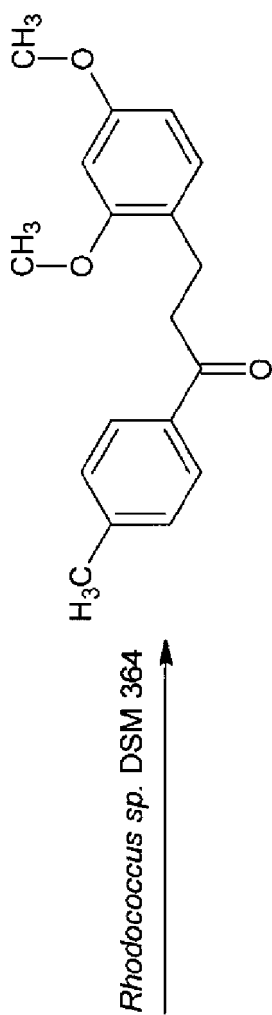
¹H NMR (600 MHz, chloroform-d) δ [ppm]: 7,90 – 7,85 (2H, m, H-2', H-6', AA'BB'), 7,26 – 7,22 (2H, m, H-3', H-5', AA'BB'), 7,09 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-6), 6,46 (1H, d, $J = 2,5$ Hz, H-3), 6,42 (1H, dd, $J = 8,2, 2,5$ Hz, H-5), 3,80 (3H, s, 2-OCH₃), 3,79 (3H, s, 4-OCH₃), 3,22 – 3,17 (2H, m, H- α), 2,98 – 2,94 (2H, m, H- β), 2,40 (3H, s, 4'-CH₃)

HR ESI-MS m/z : 285,1486 [M+H]⁺; obliczona dla C₁₈H₂₀O₃ [M+H]⁺ 285, 1485

Zastrzeżenia patentowe

1. 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkon o wzorze 2 przedstawiony na rysunku.
2. Sposób otrzymywania 2,4-dimetoksy-4'-metylo- α,β -dihydrochalkonu, w którym jako substrat stosuje się 2,4-dimetoksy-4'-metylochalkon, **znamienny tym**, że reakcję redukcji 2,4-dimetoksy-4'-metylochalkonu o wzorze 1, prowadzi się za pomocą systemu enzymatycznego szczepu bakterii z rodzaju *Rhodococcus* albo *Gordonia*, przy czym substrat dodaje się po upływie od 40 do 56 godzin a reakcję prowadzi się w temperaturze od 20 do 32°C, po czym mieszaninę transformacyjną ekstrahuje się rozpuszczalnikiem organicznym niemieszającym się z wodą, po czym ekstrakt osusza się za pomocą środka suszącego, rozpuszczalnik odparowuje się a następnie surowy produkt oczyszcza się na kolumnie chromatograficznej.
3. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się za pomocą szczepu *Rhodococcus sp.* DSM 364.
4. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się za pomocą szczepu *Gordonia sp.* DSM 44456.
5. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że substrat dodaje się po upływie 48 godzin.
6. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się wodną kulturą, przy ciągłym mieszaniu.
7. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję redukcji prowadzi się w temperaturze od 20 do 32°C.
8. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem organicznym jest octan etylu.

Rysunek



WZÓR 1

WZÓR 2