

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **236265**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **428030**

(22) Data zgłoszenia: **03.12.2018**

(51) Int. Cl.

**C07D 495/04 (2006.01)**

**C07D 311/14 (2006.01)**

**C07D 311/28 (2006.01)**

---

(54) **7-O-Biotynylochryzyna oraz sposób otrzymywania 7-O-biotynylochryzyny**

---

(43) Zgłoszenie ogłoszono:  
**15.06.2020 BUP 13/20**

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:  
**28.12.2020 WUP 21/20**

(73) Uprawniony z patentu:  
**UNIWERSYTET RZESZOWSKI, Rzeszów, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:  
**MONIKA STOMPOR, Trębowiec Duży, PL**

---

**PL 236265 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest 7-O-biotynylochryzyna. Przedmiotem wynalazku jest także sposób otrzymywania 7-O-biotynylochryzyny o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.

Związek ten może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym i chemicznym do wytwarzania pochodnych związków flawonoidowych, wykazujących działanie przeciwnowotworowe.

Chryzyna (5,7-dihydroksyflawon) z cząsteczką biotyny jest połączeniem dwóch funkcjonalnych komponentów o biologicznie udowodnionych i użytecznych aktywnościach. Biotyna należy do witamin z grupy B i jest powszechnie stosowana w preparatach farmaceutycznych, kosmetycznych i spożywczych.

Chryzyna (5,7-dihydroksyflawon) należy do grupy polifenoli występujących naturalnie między innymi w miodzie, propolisie, rumianku czy liściach *Passiflora caerulea*. Jedną z głównych właściwości chryzyny jest jej wysoka aktywność antyproliferacyjna w stosunku do komórek nowotworowych piersi (Stompor, M., Świtalska, M., Wietrzyk, Z *Naturforsch*, 2018, 26, 87–93), pęcherza moczowego (Xu, Y., Tong, Y., Ying, J., Lei, Z., Wan, L., Zhu, X., Ye, F., Mao, P., Wu, X., Pan, R., Peng, B., Liu, Y., Zhu, J. *Oncol Lett*, 2018, 15, 9117–9125), płaskonabłonkowego nowotworu języka (Celińska-Jankowicz, K., Zaręba, I., Lazarek, U., Teul, J., Tomczyk, M., Pałka, J., Miłtyk, W. *Front Pharmacol*, 2018, 9, 336) oraz komórek nowotworowych mózgu (Wang, J., Wang, H., Sun, K., Wang, X., Pan, X., Zhu, J., Ji, X., Li, X. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12, 721–733). Wykazano także, że chryzyna może znaleźć zastosowanie w profilaktyce i leczeniu nowotworów oraz chorób zapalnych ze względu na potwierdzoną zdolność do inhibicji enzymu cyklooksygenazy-2 (COX-2) (Woo, K. J., Jeong, Y. J., Inoue, H., Park, J. W., Kwon, T. K. *FEBS Lett*, 2005, 579, 705–711). Ponadto udowodniono, że związek ten charakteryzuje się aktywnością przeciwdrobnoustrojową w stosunku do szczepów *Candida albicans* oraz *Pseudomonas aeruginosa* (Ali, R. M., Houghton, P. J., Roman, A., Houlst, J. R. S. *Phytomedicine*, 1998, 5, 375–381). Chryzyna chroni również komórki naskórka (HaCaT) przed szkodliwym działaniem promieniowania UVA oraz UVB (Wu, N. L., Fang, J. Y., Chen, M., Wu, C. J., Huang, C. C., Hung, C. F. *J Agric Food Chem*, 2011, 59, 8391–8400).

Wprowadzenie biotyny do struktury 5,7-dihydroksyflawonu może skutkować zwiększeniem jego aktywności biologicznej poprzez zwiększenie jego powinowactwa do powierzchni błon biologicznych, zwłaszcza błon komórek nowotworowych, w których nadekspresja biotyny została wcześniej udokumentowana.

Celem wynalazku było opracowanie nowego produktu – flawonoidowej pochodnej zawierającej cząsteczkę biotyny w pozycji C-7, związanej estrowo z pierścieniem aromatycznym A 5,7-dihydroksyflawonu, który pełni w tym wypadku rolę matrycy, do której przyłączona jest cząsteczką biotyny, a która mogłaby ułatwiać jego wnikanie do komórek żywych.

W dostępnej literaturze nie znaleziono doniesień o otrzymywaniu 7-O-biotynylochryzyny przedstawionej wzorem 1.

Istotą wynalazku jest 7-O-biotynylochryzyna, o strukturze przedstawionej na wzorze 1.

Istotą sposobu, według wynalazku jest to, że do mieszaniny zawierającej chryzynę (5,7-dihydroksyflawon) oraz biotynę, rozpuszczonych w rozpuszczalniku organicznym, dodaje się chlorowodorek 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu oraz 4-dimetyloaminopirydynę, następnie mieszaninę reakcyjną zabezpiecza się przed dostępem światła i pozostawia w temperaturze od 16 do 80°C, po czym miesza się przez co najmniej 4 godziny a następnie wydziela powstały produkt o wzorze 1, za pomocą chromatografii cieczowej.

Korzystnie jest, gdy rozpuszczalnikiem organicznym w reakcji jest *N,N*-dimetyloformamid.

Korzystnie również jest, gdy reakcję prowadzi się przy ciągłym mieszaniu.

Korzystnie także jest, gdy reakcję prowadzi się w temperaturze pokojowej.

Dodatkowo korzystnie jest, gdy reakcję prowadzi się przez 24 godziny.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie 7-O-biotynylochryzyny, z maksymalną wydajnością 67%, z użyciem tanich i łatwych w przygotowaniu odczynników.

Postępując zgodnie z wynalazkiem, w wyniku działania DMAP w obecności EDC HCl, w powszechnie stosowanym rozpuszczalniku, np. *N,N*-dimetyloformamidzie, następuje estryfikacja grupy hydroksylowej i przyłączenie do niej reszty biotyny. Uzyskany w ten sposób produkt, o wzorze 1, wydziela się z mieszaniny poreakcyjnej znanym sposobem, za pomocą chromatografii cieczowej.

Wynalazek jest bliżej objaśniony na przykładzie wykonania.

**P r z y k ł a d.** Do roztworu zawierającego chryzynę (5,7-dihydroksyflawon) (122 mg, 0.48 mmol) oraz biotynę (100 mg, 0.41 mmol), rozpuszczonych w 5 ml *N,N*-dimetyloformamidu, dodaje się chlorowodorek 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu (EDC HCl) (116 mg, 0.61 mmol) oraz 4-dimetyloaminopirydynę (DMAP) (5 mg, 0.04 mmol). Zawiesinę miesza się intensywnie w temperaturze pokojowej przez 24 h. Po tym czasie produkt wydziela się za pomocą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym stosując jako eluent mieszaninę rozpuszczalników chloroform:metanol, w stosunku objętościowym 20:2. Na tej drodze otrzymuje się 132 mg 7-*O*-biotynylochryzyny, w postaci białego proszku, z 67% wydajnością i o czystości powyżej 97% (wg HPLC).

Uzyskany produkt charakteryzuje się następującymi danymi spektralnymi:

**<sup>1</sup>H NMR** (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ (ppm): 12.85 (1H, s), 8.13 (2H, m), 7.65 (1H, m), 7.61 (2H, m), 7.16 (1H, s), 7.12 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.68 (1H, d, *J* = 2.0 Hz), 6.47 (1H, s), 6.37 (1H, s), 4.34 - 4.31 (1H, m), 4.18 - 4.15 (1H, m), 3.18 - 3.14 (1H, m), 2.85 (1H, dd, *J* = 12.4 Hz, *J* = 5.1 Hz), 2.64 (2H, t, *J* = 7.4 Hz), 2.60 (1H, d, *J* = 12.4 Hz), 1.74 - 1.65 (3H, m), 1.57 - 1.50 (1H, m), 1.49-1.38 (2H, m).

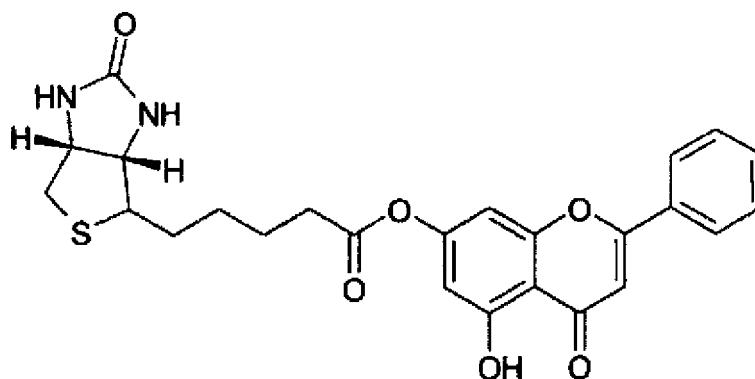
**HR ESI-MS** *m/z*: obliczona dla C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S [M+H]<sup>+</sup> = 481.1427; [M+Na]<sup>+</sup> = 503,1247; zmierzona: [M+H]<sup>+</sup> = 481.1428; [M+Na]<sup>+</sup> = 503.1249.

**UV** λ<sub>max</sub> (nm) = 267.7, 296.5, 327.5.

### Zastrzeżenia patentowe

1. 7-*O*-Biotynylochryzyna, o wzorze 1.
2. Sposób otrzymywania 7-*O*-biotynylochryzyny, **znamienny tym**, że substrat jakim jest 5,7-dihydroksyflawon oraz biotynę rozpuszcza się w rozpuszczalniku organicznym, po czym dodaje się 4-dimetyloaminopirydynę oraz chlorowodorek 1-etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu, następnie mieszaninę reakcyjną zabezpiecza się przed dostępem światła i pozostawia w temperaturze od 16 do 80°C przez okres co najmniej 4 godzin, po czym produkt wydziela się za pomocą chromatografii cieczowej.
3. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że rozpuszczalnikiem organicznym w reakcji jest *N,N*-dimetyloformamid.
4. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się przy ciągłym mieszaniu.
5. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w temperaturze pokojowej.
6. Sposób, według zastrz. 2, **znamienny tym**, że mieszaninę reakcyjną pozostawia się w temperaturze pokojowej na 24 godziny.

### Rysunek



Wzór 1