

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **238079**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **429344**

(51) Int.Cl.
C07D 307/83 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **21.03.2019**

(54) **(-)-rel-(1R,6R,1'R)-1-(1'-Bromoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on
oraz jego sposób otrzymywania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
05.10.2020 BUP 21/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
05.07.2021 WUP 14/21

(73) Uprawniony z patentu:

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

(72) Twórca(y) wynalazku:

**MARCELINA MAZUR, Wrocław, PL
ALEKSANDRA PAWLAK, Poznań, PL
ALEKSANDRA WŁOCH, Wrocław, PL
WITOLD GŁADKOWSKI, Wrocław, PL
BOŻENA OBMIŃSKA-MRUKOWICZ, Wrocław, PL
DOROTA BONARSKA-KUJAWA, Długoleka, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 238079 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest optycznie czynny lakton (-)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 2 przedstawionym na rysunku.

Przedmiotem wynalazku jest także sposób jego otrzymywania ze znanego optycznie czynnego kwasu (-)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowego o wzorze 1.

(-)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-Bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on wykazuje aktywność anty-proliferacyjną *in vitro* wobec linii psiej białaczki B-komórkowej (GL-1) oraz (CLB70). Wynalazek może znaleźć zastosowanie w farmacji jako składniki leków antynowotworowych.

Kwas (-)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowy o wzorze 1 znany jest w literaturze (Di Liu, Xiaoming Yu. Ireland-Claisen rearrangement of secondary acetate revisited: inevitable C-silylation circumvented by one-pot application of excessive LDA/TMSCl and TBAF. Tetrahedron Letters, 2012, 53, 2177–2180).

Nie jest znany optycznie czynny (-)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-Bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on.

Istotą wynalazku jest optycznie czynny (-)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo-[4.3.0]nonan-8-on.

Istotą wynalazku jest także sposób otrzymywania (-)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1-bromoetylo)-9-ok-sabi-cyklo[4.3.0]nonan-8-onu, polegający na tym, że kwas (-)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowy poddaje się reakcji bromolaktonizacji N-bromoimidem kwasu bursztynowego, w rozpuszczalniku, w obecności katalizatora, w której to reakcji otrzymuje się (-)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]no-nan-8-on o wzorze 1, który następnie oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej.

Korzystne jest, gdy reakcję bromolaktonizacji kwasu (-)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowego, prowadzi się w rozpuszczalniku, którym jest tetrahydrofuran.

Korzystnie jest także, gdy reakcję bromolaktonizacji kwasu (-)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octo-wego prowadzi się w obecności katalitycznych ilości kwasu octowego.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie, z bardzo wysokim nadmiarem enancjomerycznym (ee>98%), optycznie czynnego (-)-*rel*-1'-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu o wzorze 2, wykazującego aktywność antyproliferacyjną *in vitro*.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania.

Znany kwas (-)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowy o wzorze 1 (0,5 g, 3 mmol) umieszcza się w kolbie okrągłodennej, rozpuszcza w 30 cm³ tetrahydrofuranu, a następnie dodaje N-bromoimid kwasu bursztynowego (1 g, 5,6 mmol) oraz kroplę kwasu octowego. Całość miesza się na mieszadle magnetycznym, a przebieg reakcji kontroluje za pomocą chromatografii cienkowarstwowej przy zastosowaniu eluentu mieszaniny heksan: aceton w stosunku objętościowym 4:1. Po całkowitym przereagowaniu substratu mieszaninę reakcyjną przenosi się do rozdzielacza, dodaje 30 cm³ eteru dietylowego i przemywa nasyconym roztworem NaHC₃ (dwukrotnie po 20 cm³). Warstwę organiczną zubożoną solanką wobec papierka wskaźnikowego i osusza bezwodnym siarczanem(VI) magnezu. Po odsączeniu środka suszącego odparowuje się rozpuszczalnik. Otrzymany bromolakton, następnie oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym jako eluent stosując mieszaninę heksan : aceton w stosunku objętościowym 20:1. Otrzymuje się 0,49 g (67% wydajności teoretycznej) (-)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu o wzorze 2.

Dane fizyczne i spektroskopowe otrzymanego (-)-*rel*-(1*R*,6*R*, 1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu są następujące: przeźroczyste kryształy, t.t.= 44-48°C; $[\alpha]_D^{25} = -44,79$ (c = 0,65, CH₃Cl, ee > 98%); ¹HNMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 1.26 (ddt, 1H, J = 15.0, 10.1, 4.9 Hz, jeden z CH₂-5), 1.34 (dt, 1H, J = 13.9, 10.2, 3.6 Hz, jeden z CH₂-4), 1.46 (dt, 1H, J = 13.3, 11.2, 4.1 Hz, jeden z CH₂-3), 1.60 (m, 1H, jeden z CH₂-4), 1.66 (m, 1H, jeden z CH₂-3), 1.72 (d, 3H, J = 6.8, CH₃-11), 1.83 (m, 1H, jeden z CH₂-5), 1.95 (dt, 1H, J = 14.7, 4.5 Hz, jeden z CH₂-2), 2.05 (ddd, 1H, J = 15.0, 11.6, 4.9 Hz, jeden z CH₂-2), 2.25 (m, 1H, jeden z CH₂-7), 2.80 (m, 2H, H-6 i jeden z CH₂-7), 4.19 (q, 1H, J = 6.8 Hz, jeden z H-10); ¹³CNMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 20.0 (C-11), 20.1 (C-3), 21.1 (C-4), 26.4 (C-2), 28.7 (C-5), 36.6 (C-6), 36.4 (C-7), 52.6 (C-10), 87.9 (C-1), 176.1 (C-8).

W celu określenia aktywności związku będącego przedmiotem wynalazku, zbadano jego aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec linii psiej białaczki B-komórkowej (GL-1) oraz (CLB70). Tabela 1 przedstawia wyniki testów biologicznych *in vitro* dla otrzymanego laktonu w stosunku do wybranych linii komórek nowotworowych. Testy przeprowadzono według metody opisanej w literaturze (Ferrari M., Fornasiero M. C., Isetta A.M. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity *in vitro*. Journal of Immunological Methods, 1990, 131, 165–172).

Tabela 1

(-)-bromolakton {Wzór 1}	IC ₅₀ [µg/mL] ± SD	
	Linia CLB70	GL-1
	19,40 ± 0,35	15,55 ± 0,79
Etopozyd	14,31 ± 2,83	4,4 ± 1,14

IC₅₀ – stężenie związku, które hamuje aktywność metaboliczną 55% komórek

SD – odchylenie standardowe

Etopozyd – kontrola, lek należący do cytostatyków

Została również określona cytotoksyczność związku będącego przedmiotem wynalazku, względem krwinek czerwonych na podstawie jego aktywności hemolitycznej, według metody opisanej w literaturze (W, Gładkowski, A. Włoch, A. Pawlak, A. Sysak, A. Białońska, M. Mazur, P. Mituła, G. Maciejewska, B. Obmińska-Mrukowicz, H. Kleszczyńska. Preparation of enantiomeric β-(2',5'-dimethylphenyl) bromolactones, their antiproliferative activity and effect on biological membranes. Molecules, 2018, 23, 3035).

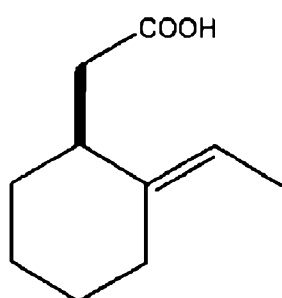
Badania wykazały, że związek ten nie indukuje hemolizy erytrocytów, zatem nie działa toksycznie względem tych komórek.

Ze względu na fakt, iż pierwszym miejscem kontaktu związku biologicznie czynnego z organizmem jest błona biologiczna, zbadano również interakcje uzyskanego związku z błonami biologicznymi, w szczególności z błonami erytrocytów. Wyniki przeprowadzonych testów wykazały, że powoduje on nieznaczne zmiany w obszarze hydrofilowym dwuwarstwy lipidowej, nie ma natomiast wpływu na obszar hydrofobowy błony.

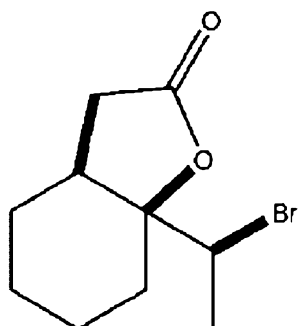
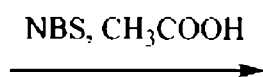
Zastrzeżenia patentowe

1. (-)-*rel*-1*R*,6*R*, 1'*R*)-1-(1'-Bromoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania (-)-*rel* (1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu, **znamienny tym**, że kwas (-)-(2-etylideno-cykloheksylo)octowy o wzorze 1 poddaje się reakcji bromolaktonizacji N-bromoimidem kwasu bursztynowego, w rozpuszczalniku, w obecności katalizatora, w której otrzymuje się (-)-*rel*-(1*R*,6*R*, 1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 1, który oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję bromolaktonizacji kwasu (-)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowego o wzorze 1, prowadzi się w rozpuszczalniku, którym jest tetrahydrofuran.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję bromolaktonizacji, kwasu (-)-2'-etylideno-cykloheksylo)octowego o wzorze 1 prowadzi się, w obecności katalitycznych ilości kwasu octowego.

Rysunki



Wzór 1



Wzór 2