

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **238102**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **429346**

(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 sposób jego 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  
HANNA PRUCHNIK, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

**rzecz. pat. Anna Kasperowicz**

**PL 238102 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 antyproliferacyjną *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)octowego 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 również Sposób otrzymywania (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[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 wyniku reakcji otrzymuje się (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 2, który oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej.

Korzystne jest, gdy jako rozpuszczalnik stosuje tetrahydrofuran.

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

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie z bardzo wysokim nadmiarem enancjomerycznym (ee=99%) optycznie czynnego (+)-*rel*-(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 (0,25 g, 1,5 mmol) umieszcza się w kolbie okrągłodennej, rozpuszcza w 30 cm<sup>3</sup> tetrahydrofuranu, a następnie dodaje N-bromoimid kwasu bursztynowego (NBS) (0,5 g, 2,8 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 20 cm<sup>3</sup> eteru dietylowego i przemywa nasyconym roztworem NaHCO<sub>3</sub> (dwukrotnie po 20 cm<sup>3</sup>). Warstwę organiczną zubożętnia się 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 0,22 g (60% wydajności teoretycznej) (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-ok-sabicyklo[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: przezroczyste kryształy, t.t. = 44-48°C; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +43,34 (c = 0,7, CH<sub>3</sub>Cl, ee = 99%); <sup>1</sup>HNMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 126 (ddt, 1H, J = 15.0, 10.1, 4.9 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-5), 1.34 (dt, 1H, J = 13.9, 10.2, 3.6 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-4), 1.46 (dt, 1H, J = 13.3, 11.2, 4.1 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-3), 1.60 (m, 1H, jeden z CH<sub>2</sub>-4), 1.66 (m, 1H, jeden z CH<sub>2</sub>-3), 1.72 (d, 3H, J = 6.8, CH<sub>3</sub>-H), 1.83 (m, 1H, jeden z CH<sub>2</sub>-5), 1.95 (dt, 1H, J = 14.7, 4.5 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-2), 2.05 (ddd, 1H, J = 15.0, 11.6, 4.9 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-2), 2.25 (m, 1H, jeden z CH<sub>2</sub>-7), 2.80 (m, 2H, H-6 i jeden z CH<sub>2</sub>-7), 4.19 (q, 1H, J = 6.8 Hz, jeden z H-10); <sup>13</sup>CNMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 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 <sub>50</sub> [µg/mL] ± SD	
	Linia CLB70	GL-1
	28,57 ± 4,89	14,95 ± 1,93
<b>Etopozyd</b>	<b>14,31 ± 2,83</b>	<b>4,4 ± 1,14</b>

IC<sub>50</sub> – stężenie związku, które hamuje aktywność metaboliczną 50% 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 wyniku reakcji otrzymuje się (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-bromoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.2]nonan-8-onu o wzorze 2, 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

