

RZECZPOSPOLITA  
POLSKA



Urząd Patentowy  
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **238101**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **429345**

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

(22) Data zgłoszenia: **21.03.2019**

(54) **(+)-rel-(1R,6R,1'R)-1-(1'-Jodoetylo)-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 WROCLAWIU, 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 238101 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest optycznie czynny lakton (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[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'-Jodoetylo)-9-oksabicyklo[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)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'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on.

Istotą wynalazku jest optycznie czynny (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo-[4.3.0]nonan-8-on.

Istotą jest także sposób otrzymywania (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo-[4.3.0]nonan-8-onu, polegający na tym, że kwas (+)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowy poddaje się reakcji jodolaktonizacji za pomocą roztworu jodu w jodku potasu, reakcję prowadzi się w układzie dwufazowym eteru dietylowego i 0,5 molowego roztworu NaHCO<sub>3</sub>, w wyniku reakcji otrzymuje się (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on, który oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie, z bardzo wysokim nadmiarem enancjomerycznym (ee>99%), optycznie czynnego (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[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 20 cm<sup>3</sup> eteru dietylowego, a następnie dodaje 20 cm<sup>3</sup> 0,5 molowego roztworu NaHCO<sub>3</sub>. Całość miesza się przez jedną godzinę na mieszadle magnetycznym, następnie powoli wkrapla 7 cm<sup>3</sup> wodnego roztworu I<sub>2</sub> (0,7 g) w KI (1,4 g). Przebieg reakcji kontroluje się 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, przemywa wodnym roztworem Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> i rozdziela warstwy. Warstwę wodną przemywa się eterem dietylowym (dwukrotnie po 20 cm<sup>3</sup>). Połączone warstwy organiczne suszy się bezwodnym siarczanem magnezu, przesącza a po odparowaniu rozpuszczalnika otrzymuje się jodolakton, który następnie oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym jako eluent stosując mieszaninę heksan : aceton w stosunku objętościowym 20:1. Otrzymuje się 0,28 g (64% wydajności teoretycznej) (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu o wzorze 2.

Dane fizyczne i spektroskopowe otrzymanego (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu są następujące: białe kryształy, t.t.=104–107°C; [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = +56,49 (c = 0,6, CH<sub>3</sub>Cl, ee > 99%); <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.26 (ddt, 1H, J = 14.6, 10.1, 5.0 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-5), 1.35 (dddt, 1H, J = 14.0, 10.6, 7.7, 3.7 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-4), 1.46 (m, 1H, jeden z CH<sub>2</sub>-3), 1.62 (m, 2H, jeden z CH<sub>2</sub>-3 i jeden z CH<sub>2</sub>-4), 1.81 (m, 1H, jeden z CH<sub>2</sub>-5), 1.94 (d, 3H, J = 7.0, CH<sub>3</sub>-11), 2.01 (dt, 1H, J = 14.8, 4.4 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-2), 2.13 (ddd, 1H, J = 14.8, 11.5, 4.7 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-2), 2.25 (dd, 1H, J = 17.5, 3.0 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-7), 2.78 (dd, 1H, J = 17.4, 7.8 Hz, jeden z CH<sub>2</sub>-7), 2.84 (ddt, 1H, J = 8.6, 6.1, 3.0 Hz, H-6), 4.36 (q, 1H, J = 7.0 Hz, H-10); <sup>13</sup>C NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 20.2 (C-3), 21.02 (C-4), 22.77 (C-11), 28.01 (C-2), 28.74 C-5), 33.01 (C-10), 36.57 (C-7), 37.79 (C-6), 87.8 (C-1), 175.9 (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

(+) -jodolakton (Wzór 1)	IC <sub>50</sub> [µg/mL] ± SD	
	Linia CLB70	GL-1
	19,93 ± 0,07	14,53 ± 2,38
Etopozyd	14,31 ± 2,83	4,4 ± 1,14

IC<sub>50</sub> – stężenie związku, które hamuje aktywność metaboliczną 50% komórek

SD – odchylenie standardowe

Etopozyd – kontrola, lek należący do cytostatyków

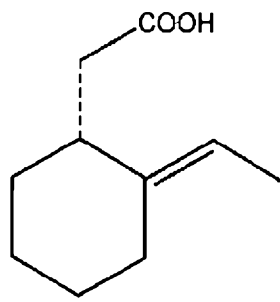
Została również określona cytotoksyczność związku będącego przedmiotem wynalazku, względem krwinek czerwonych na podstawie jego aktywności hemolitycznej, według metody opisanej w literaturze (W. Gładkowski, A. Włoch, A. Pawlak, A. Sysak, A. Białońska, M. Mazur, P. Mituła, G. Maciejewska, B. Obmińska-Mrukowicz, H. Kleszczyńska. Preparation of enantiomeric  $\beta$ -(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.

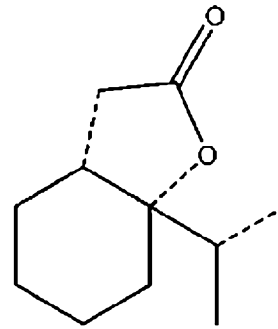
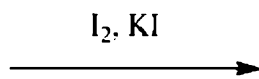
### Zastrzeżenia patentowe

1. (+)-*rel*-(1R,6R,1'R)-1'-Jodoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania (+)-*rel*-(1R,6R,1'R)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu, **znamienny tym**, że kwas (+)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowy o wzorze 1 poddaje się reakcji jodolaktonizacji za pomocą roztworu jodu w jodku potasu, przy czym reakcję prowadzi się w układzie dwufazowym eteru dietylowego i, 0,5 molowego roztworu NaHCO<sub>3</sub>, w wyniku której otrzymuje się (+)-*rel*-(1R,6R,1'R)-1-(1'-jodoetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 2, który oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej.

## Rysunki



Wzór 1



Wzór 2