

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **240959**
(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430744**

(22) Data zgłoszenia: **29.07.2019**

(51) Int.Cl.
C12P 7/22 (2006.01)
C12P 7/62 (2006.01)
C12P 41/00 (2006.01)
C12N 9/18 (2006.01)
C12R 1/69 (2006.01)

(54) **Sposób kinetycznego rozdziału racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
08.02.2021 BUP 03/21

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
04.07.2022 WUP 27/22

(73) Uprawniony z patentu:
**UNIWERSYTET PRZYRODNICZY
WE WROCŁAWIU, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:
ALEKSANDRA LEŚNIAREK, Oleśnica, PL
WITOLD GŁADKOWSKI, Wrocław, PL
ANNA CHOJNACKA, Wrocław, PL

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 240959 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób kinetycznego rozdziału znanego racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu w procesie transestryfikacji.

Produkty otrzymane w wyniku kinetycznego rozdziału racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu czyli (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-ol o wzorze 2 oraz ester (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu o wzorze 3 mogą znaleźć zastosowanie jako chiralne syntony w syntezie optycznie czynnych laktonów o aktywności biologicznej np. antyproliferacyjnej względem komórek nowotworowych.

Znany jest kinetyczny rozdział racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu w procesie transestryfikacji z udziałem lipazy B z *Candida antarctica* oraz malonianu dimetylu jako dawcy grupy acylowej, prowadzący do uzyskania (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym 93% oraz jego estru o nadmiarze enancjomerycznym 97% w temperaturze 40°C przy obniżonym ciśnieniu 1066 Pa w obecności KHCO_3 . (Fehr C., Galindo J. A New variant of the Claisen rearrangement from malonate-derived allylic trimethylsilyl ketene acetals: efficient, highly enantio- and diastereoselective syntheses of (+)-methyl dihydroepijasmonate and (+)-methyl epijasmonate. *Angewandte Chemie International Edition*, 2000, 39, 569–573).

Znany jest także kinetyczny rozdział racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu w temperaturze 40°C w procesie transestryfikacji z zastosowaniem lipazy z *Pseudomonas cepacia* immobilizowanej na ziemi okrzemkowej oraz octanu izopropenylu jako dawcy grupy acylowej, prowadzący po 4 h do otrzymania (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-olu i octanu (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarami enancjomerycznymi odpowiednio >99% i 87% (Ghanem A., Schurig V. Lipase-catalyzed access to enantiomerically pure (R)- and (S)-trans-4-phenyl-3-butene-2-ol. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, 14, 57–62).

Znany jest również kinetyczny rozdział racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu z zastosowaniem lipazy z *Burkholderia cepacia*, w wyniku którego po 24 h reakcji z octanem winylu w eterze t-butyłowometylowym uzyskuje się (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-ol oraz octan (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z 98%-owymi nadmiarami enancjomerycznymi (Brenna E., Fuganti C., Gatti F.G., Passoni M., Serra S. Enantioselective synthesis of benzylic stereocentres via Claisen rearrangement of enantiomerically pure allylic alcohols: preparation of (R)- and (S)-3-methyl-2-phenylbutylamine. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2003, 14, 2401–2406).

Znany jest także kinetyczny rozdział racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu w procesie transestryfikacji z udziałem lipazy B z *Candida antarctica* oraz propionianu winylu jako dawcy grupy acylowej, prowadzący do uzyskania (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym >99% oraz propionianu (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym 99% (Gładkowski W., Skrobiszewski A., Mazur M., Siepka M., Białońska A. Convenient chemoenzymatic route to optically active β -aryl- δ -iodo- γ -lactones and β -aryl- γ -iodo-5-lactones with the defined configurations of stereogenic centers. *European Journal of Organic Chemistry*, 2015, 3, 605-615).

Wynalazek dotyczy kinetycznego rozdziału racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu.

Istota wynalazku polega na tym, że racemiczny (E)-4-fenylobut-3-en-2-ol o wzorze 1 poddaje się reakcji z propionianem winylu w rozpuszczalniku organicznym w obecności biokatalizatora, którym jest fosfolipaza A₁ z *Aspergillus oryzae* immobilizowana na agarozie aktywowanej bromocyjanem. Postępując zgodnie ze sposobem wytwarzania, otrzymuje się nieprzereagowany (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-ol oraz ester (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi, które rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.

Korzystnie jest, gdy reakcję prowadzi się w eterze diizopropylowym albo eterze t-butyłowometylowym.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest osiągnięcie kinetycznego rozdziału racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu w łagodnych warunkach, to jest temperaturze pokojowej i ciśnieniu atmosferycznym. Zaletą wynalazku jest także krótki czas reakcji (2 godziny). Zaletą wynalazku jest również otrzymanie (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-olu oraz estru (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z wysokimi wydajnościami izolowanymi i bardzo wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi. Zaletą wynalazku jest ponadto zastąpienie komercyjnie stosowanych w procesie transestryfikacji lipaz tańszym preparatem fosfolipazy A₁ z *Aspergillus oryzae*. Zaletą wynalazku jest też skrócenie procedury izolowania i oczyszczania produktów z mieszaniny preakcyjnej dzięki zastosowaniu preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładach wykonania.

Przykład 1

W szklanej buteleczce o pojemności 20 cm³ umieszcza się 0,2 g (1,3 mmola) racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu i 1,05 g (0,057 U) preparatu fosfolipazy A₁ z *Aspergillus oryzae* (Lecitase™ Ultra) immobilizowanego na agarozie aktywowanej bromocyjanem, dodaje 6 cm³ eteru diizopropylowego oraz 2 cm³ propionianu winylu i całość miesza na mieszadło magnetycznym w temperaturze 20°C. Po 2 godzinach reakcję przerywa się poprzez odsączenie preparatu enzymatycznego na ziemi okrzemkowej (Celite 560). Z przesączu odparowuje się rozpuszczalnik na wyparce próżniowej i otrzymaną mieszaninę (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-olu i propionianu (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym z zastosowaniem jako eluentu mieszaniny heksan : aceton w stosunku objętościowym 10:1. Otrzymuje się 0,09 g (90% wydajności teoretycznej) (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym 98% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20} = -19,0$ ($c = 1,38$; CH₂Cl₂) oraz 0,109 g (80% wydajności teoretycznej) propionianu (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym 99% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20} = +115,7$ ($c = 1,15$; CH₂Cl₂).

Przykład 2

Postępuje się jak w przykładzie 1 z tym, że jako rozpuszczalnik stosuje się eter t-butyloowo-metylowy. Otrzymuje się 0,083 g (83% wydajności teoretycznej) (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym 99% oraz 0,113 g (82% wydajności teoretycznej) propionianu (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym 99%.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób kinetycznego rozdzielenia racemicznego (E)-4-fenylobut-3-en-2-olu, **znamienny tym**, że racemiczny (E)-4-fenylobut-3-en-2-ol o wzorze 1 poddaje się reakcji z propionianem winylu w rozpuszczalniku organicznym w obecności biokatalizatora, którym jest fosfolipaza A₁ z *Aspergillus oryzae* immobilizowana na agarozie aktywowanej bromocyjanem, a nieprzereagowany (S,E)-4-fenylobut-3-en-2-ol o wzorze 2 i powstały ester (R,E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu o wzorze 3 rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w eterze diizopropylowym.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w eterze t-butyloowo-metylowym.

Rysunek

