

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **238104**
(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **429348**

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

(22) Data zgłoszenia: **21.03.2019**

(54) **(+)-rel-(1R,6R,1'R)-1-(1'-Chloroetylo)-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
HANNA PRUCHNIK, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 238104 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest optycznie czynny lakton (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-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'-Chloroetylo)-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'-chloroetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on.

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

Istotą wynalazku jest również sposób otrzymywania (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on, polegający na tym, że kwas (+)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowy poddaje się reakcji chlorolaktonizacji N-chloroimidem kwasu bursztynowego w rozpuszczalniku, w obecności katalizatora, w której to reakcji otrzymuje się (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on, który następnie oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej.

Korzystnie jest, gdy jako rozpuszczalnik stosuje tetrahydrofuran.

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

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie z bardzo wysokim nadmiarem enancjomerycznym (ee > 98%), optycznie czynnego (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-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 cm³ tetrahydrofuranu, a następnie dodaje N-chloroimid kwasu bursztynowego (NCS) (0,39 g, 3 mmol) oraz kroplę kwasu octowego. Całość miesza się na mieszadło 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 cm³ eteru dietylowego i przemywa nasyconym roztworem NaHCO₃ (dwukrotnie po 20 cm³). Warstwę organiczną zobojętnia się solanką wobec papierka wskaźnikowego i osusza bezwodnym siarczanem(VI) magnezu. Po odsączeniu środka suszącego odparowuje się rozpuszczalnik. Otrzymany chlorolakton, oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym jako eluent stosując mieszaninę heksan : aceton w stosunku objętościowym 20 : 1. Otrzymuje się 0,19 g (63% wydajności teoretycznej) (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on.

Dane fizyczne i spektroskopowe otrzymanego (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-9-ok-sabicyklo[4.3.0]nonan-8-on są następujące: przeźroczyste kryształy, t.t. = 37-40°C; [α]_D²⁵ = +40,65 (c = 0,45, CH₃Cl, ee > 98%); ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 1.27 (m, 1H, jeden z CH₂-5), 1.34 (m, 1H, jeden z CH₂-4), 1.46 (m, 1H, jeden z CH₂-3), 1.54 (d, 3H, J = 6,7, CH₃-11), 1.60 (m, 1H, jeden z CH₂-4), 1.66 (dddd, J = 18.8, 9.1, 5.0, 1.4, 1H, jeden z CH₂-3), 1.84 (m, 1H, jeden z CH₂-5), 1.90 (dt, 1 H, J = 14.8, 4.4 Hz, jeden z CH₂-2), 1.97 (ddd, 1 H, J = 14.8, 11.4, 4.9 Hz, jeden z CH₂-2), 2.25 (dd, 1 H, J = 17.2, 2.7 Hz, jeden z CH₂-7), 2.74 (tdd, 1 H, J = 8.3, 5.9, 2.6 Hz, H-6), 2.79 (dd, 1 H, J = 17.2, 7.8 Hz, jeden z CH₂-7), 4.07 (q, 1 H, J = 6.7 Hz, H-10); ¹³C NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 19.3 (C-11), 20.0 (C-3), 21.0 (C-4), 25.7 (C-2), 28.6 (C-5), 35.5 (C-6), 36.3 (C-7), 59.9 (C-10), 88.0 (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

(+) -chlorolakton (Wzór 1)	IC ₅₀ [µg/mL] ± SD	
	Linia CLB70	GL-1
	18,43 ± 1,46	11,40 ± 3,62
Etopozyd	14,31 ± 2,83	4,4 ± 1,14

IC₅₀ – 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'-Chloroetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-onu, **znamienny tym**, że kwas (+)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowy o wzorze 1 poddaje się reakcji chlorolaktonizacji N-chloroimidem kwasu bursztynowego w rozpuszczalniku, w obecności katalizatora, w której otrzymuje się (+)-*rel*-(1*R*,6*R*,1'*R*)-1-(1'-chloroetylo)-9-oksabicyklo[4.3.0]nonan-8-on o wzorze 2, który oczyszcza się metodą chromatografii kolumnowej.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję chlorolaktonizacji kwasu (+)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowego o wzorze 1 prowadzi się w rozpuszczalniku, którym jest tetrahydrofuran.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję chlorolaktonizacji kwasu (+)-(2'-etylideno-cykloheksylo)octowego o wzorze 1 prowadzi się w obecności katalitycznych ilości kwasu octowego.

Rysunek

