RZECZPOSPOLITA POLSKA

Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **239846**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430986**

(22) Data zgłoszenia: **29.08.2019**

(51) Int.Cl.
C07C 69/025 (2006.01)
C07C 67/14 (2006.01)
C12P 7/62 (2006.01)
C12P 7/22 (2006.01)
C12P 41/00 (2006.01)
C12N 9/18 (2006.01)
C12R 1/69 (2006.01)

(54) Racemiczny maślan (E)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu i sposób jego otrzymywania oraz sposób kinetycznego rozdziału racemicznego maślanu (E)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
08.03.2021 BUP 05/21

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
17.01.2022 WUP 03/22

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

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

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 239846 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu o wzorze 2.

Przedmiotem wynalazku jest także sposób otrzymywania racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu.

Przedmiotem wynalazku jest także sposób kinetycznego rozdziału racemicznego maślanu (*E*)-4--(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu w procesie hydrolizy.

Racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu o wzorze 2 oraz produkty otrzymane w wyniku kinetycznego rozdziału racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu czyli maślan (*S*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu o wzorze 3 oraz (*R*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ol o wzorze 4 mogą znaleźć zastosowanie jako chiralne syntony w syntezie optycznie czynnych laktonów o aktywności biologicznej np. antyproliferacyjnej względem komórek nowotworowych.

Znane jest otrzymywanie innych racemicznych estrów (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu czyli octanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu oraz propionianu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu w wyniku estryfikacji (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu odpowiednimi chlorkami kwasowymi w pirydynie z wydajnością 75–85% (Gładkowski W., Gliszczyńska A., Siepka M., Czarnecka M., Maciejewska G., Kinetic resolution of (*E*)-4-(2',5'-dimethylphenyl)-but-3-en-2-ol and (*E*)-4- (benzo[d][1',3']dioxol-5'-yl)-but-3-en-2-ol through lipase-catalyzed transesterification. Tetrahedron:Asymmetry, 2015, 26, 702–709).

Znany jest także kinetyczny rozdział innych racemicznych estrów z układem 4-arylobut-3-en-2-olu czyli octanu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu oraz propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z zastosowaniem nieimmobilizowanej fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae* w procesach hydrolizy w buforze fosforanowym o pH = 7.2 w temperaturze 20°C. W wyniku hydrolizy octanu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu po 168 godzinach reakcji otrzymuje się octan (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu i (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol z nadmiarami enancjomerycznymi odpowiednio 56% i 85%, a w wyniku hydrolizy propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu po 120 godzinach reakcji otrzymuje się propionian (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu i (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol z nadmiarami enancjomerycznymi odpowiednio 31% i 90% (Leśniarek A., Chojnacka A., Gładkowski W. Application of Lecitase® Ultra-catalyzed hydrolysis to the kinetic resolution of (*E*)-phenylbut-3-en-2-yl esters. Catalysts 2018, 8(10), 423).

Wynalazek dotyczy sposobu otrzymywania racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu z (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu znanego w literaturze (Gładkowski W., Gliszczyńska A., Siepka M., Czarnecka M., Maciejewska G. Kinetic resolution of (*E*)-4-(2',5'-dimethylphenyl)-but-3-en-2-ol and (*E*)-4-(benzo[*d*][1',3']dioxol-5'-yl]-but-3-en-2-ol through lipase-catalyzed transesterification. Tetrahedron:Asymmetry, 2015, 26, 702–709) oraz sposobu kinetycznego rozdziału maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu w procesie hydrolizy.

Istotą wynalazku jest racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu.

Istota sposobu otrzymywania racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu, według wynalazku, polega na tym, że racemiczny (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ol o wzorze 1 poddaje się estryfikacji chlorkiem kwasu masłowego w bezwodnym rozpuszczalniku organicznym, a powstały racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu oczyszcza się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.

Korzystnie jest, gdy reakcję estryfikacji (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu prowadzi się w mieszaninie bezwodnego eteru dietylowego i bezwodnej pirydyny.

Z kolei, istotą sposobu kinetycznego rozdziału racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu jest to, że poddaje się go hydrolizie w buforze w obecności biokatalizatora, którym jest fosfolipaza A_1 z *Aspergillus oryzae* immobilizowana na agarozie aktywowanej bromocyjanem. Postępując zgodnie ze sposobem wytwarzania, otrzymuje się nieprzereagowany maślan (*S*,*E*)-4-(2',5'--dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu oraz (*R*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ol z wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi, które rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.

Korzystnie jest, gdy reakcję hydrolizy racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu prowadzi się w buforze fosforanowym o pH = 7.2.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu z (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu z wysoką wydajnością. Zaletą wynalazku jest również osiągnięcie kinetycznego rozdziału racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu w łagodnych warunkach, to jest temperaturze pokojowej i ciśnieniu atmosferycznym. Zaletą wynalazku jest również otrzymanie maślanu (*S*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu oraz

(*R*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu z wysokimi wydajnościami izolowanymi i bardzo wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi. Zaletą wynalazku jest ponadto zastąpienie komercyjnie stosowanych w procesie hydrolizy lipaz tańszym preparatem fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae*. Zaletą wynalazku jest też skrócenie procedury izolowania i oczyszczania produktów hydrolizy enzymatycznej z mieszaniny poreakcyjnej dzięki zastosowaniu preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania.

P r z y k ł a d

W kolbie okrągłodennej o pojemności 200 cm^3 umieszcza się 0,8 g (4,5 mmola) racemicznego (*E*)-2,5-dimetylofenylobut-3-en-2-olu w 50 cm^3 suchego eteru dietylowego i dodaje 1,3 cm^3 pirydyny. Całość umieszcza się na mieszadle magnetycznym w łaźni lodowej i przy ciągłym mieszaniu powoli wkrapla 0,62 cm^3 (6 mmoli) chlorku kwasu masłowego. Następnie reakcję kontynuuje się w temperaturze pokojowej. Po 24 godzinach mieszaninę zakwasza się 5 cm^3 0,1 M HCl i produkty ekstrahuje eterem dietylowym (3 x 50 cm^3). Połączone warstwy organiczne przemywa się kolejno 20 cm^3 nasyconego roztworu $NaHCO_3$, nasyconym roztworem NaCl do odczynu obojętnego, osusza bezwodnym siarczanem(VI) magnezu i przesącza przez sączek. Z uzyskanej fazy organicznej odparowuje się rozpuszczalnik na wyparce rotacyjnej a uzyskany racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu oczyszcza się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym z zastosowaniem jako eluentu mieszaniny heksan : aceton w stosunku objętościowym 10 : 1. Otrzymuje się 0,9 g (80% wydajności teoretycznej) racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu o następujących stałych fizycznych i spektroskopowych :

Bezbarwna ciecz, n_D^{20} = 1,5175

^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$), δ: 0,96 (t, *J* = 7,8 Hz, 3H, CH_3-8), 1,42 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H, CH_3-1), 1,68 (sekstet, *J* = 7,8 Hz, 2H, CH_2-7), 2,30 i 2,31 (dwa s; 6H, Ch_3-9 i CH_3-10), 2,29-2,32 (m, 2H, CH_2-6), 5,55 (M, 1H, H-2), 6,06 (dd, *J* = 15,6 i 6,6 Hz, 1H, H-3), 6,79 (d, *J* = 15,6 Hz i 6,6 Hz, 1H, H-3), 6,79 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, H-4), 6,98 (m, 1H, H-4'), 7,03 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H, H-3'), 7,25 (s, 1H, H-6')
^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$), δ: 13,6 (C-8), 18,5 (C-7), 19,2 (C-9), 20,9 (C-10), 20,5 (C-1), 36,6 (C-6), 70,9 (C-2), 126,2 (C-6'), 128,5 (C-4'), 129,4 (C-4), 130,0 (C-3), 130,2 (C-3'), 132,6, 135,2, 135,4 (C-1', C-2', C-5'), 172,9 (C-5)
IR (cm^{-1}): 1735 (s), 1457 (m), 1182 (s), 1040 (s), 966 (s), 808 (m)

Otrzymany racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu 0,2 g (0,8 mmola) umieszcza się w szklanej buteleczce o pojemności 20 cm^3, dodaje 1,05 g (0,057 U) preparatu fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae* (Lecitase™ Ultra) immobilizowanego na agarozie aktywowanej bromocyjanem, 3,5 cm^3 buforu fosforanowego o pH = 7.2 oraz 0,5 cm^3 acetonu i całość miesza na mieszadle magnetycznym w temperaturze 20°C. Po 48 godzinach produkty ekstrahuje się eterem dietylowym (2 x 10 cm^3), a połączone warstwy organiczne przesącza się przez ziemię okrzemkową (Celite 560), przemywając następnie złoże za pomocą 8 cm^3 eteru dietylowego. Uzyskaną frakcję osusza się bezwodnym siarczanem(VI) magnezu, odparowuje rozpuszczalnik na wyparce próżniowej, a otrzymaną mieszaninę nieprzereagowanego maślanu (*S*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu i powstałego (*R*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym z zastosowaniem jako eluentu mieszaniny heksan : aceton w stosunku objętościowym 10 : 1. Otrzymuje się 0,066 g (66% wydajności teoretycznej) maślanu (*S*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym >99% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = - 46,2 (c = 0,38; CH_2Cl_2) oraz 0,066 g (93% wydajności teoretycznej) (*R*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym 91% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = + 16,8 (c = 0,37; CH_2Cl_2).

Zastrzeżenia patentowe

1. Racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu o wzorze 2.
2. Sposób otrzymywania racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu, **znamienny tym**, że racemiczny (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ol o wzorze 1 poddaje się estryfikacji chlorkiem kwasu masłowego w środowisku bezwodnym, a powstały racemiczny

maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu oczyszcza się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.

3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w mieszaninie bezwodnego eteru dietylowego i bezwodnej pirydyny.
4. Sposób kinetycznego rozdziału racemicznego maślanu (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2--ylu, **znamienny tym**, że racemiczny maślan (*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu o wzorze 2, rozpuszczony w acetonie, poddaje się hydrolizie w buforze w obecności fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae*, immobilizowanej na agarozie aktywowanej bromocyjanem, a nieprzereagowany maślan (*S*,*E*)-4-(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ylu o wzorze 3 i powstały (*R*,*E*)-4--(2',5'-dimetylofenylo)but-3-en-2-ol o wzorze 4, rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.
5. Sposób według zastrz. 4, **znamienny tym**, że hydrolizę prowadzi się w buforze fosforanowym o pH = 7,2.

Rysunki

