RZECZPOSPOLITA POLSKA

Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **239855**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430756**

(22) Data zgłoszenia: **29.07.2019**

(51) Int.Cl.
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) **Sposób kinetycznego rozdziału racemicznego propionianu (E)-4-fenylobut-3-en-2-ylu**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
08.02.2021 BUP 03/21

(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 239855 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób kinetycznego rozdziału znanego racemicznego propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu w procesie hydrolizy.

Produkty otrzymane w wyniku kinetycznego rozdziału racemicznego propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu czyli propionian (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu o wzorze 2 oraz (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol 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 propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu w temperaturze 20°C w procesie hydrolizy z zastosowaniem nieimmobilizowanej fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae* w buforze fosforanowym o pH = 7.2, prowadzący po 120 godzinach reakcji do otrzymania propionianu (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu i (*R*,*E*)-4- fenylobut-3-en-2-olu 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 kinetycznego rozdziału racemicznego propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu.

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

Korzystnie jest, gdy reakcję prowadzi się w buforze fosforanowym o pH = 7.2.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest osiągnięcie kinetycznego rozdziału racemicznego propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu w łagodnych warunkach, to jest temperaturze pokojowej i ciśnieniu atmosferycznym. Zaletą wynalazku jest również otrzymanie propionianu (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu oraz (*R*,*E*)-4-fenylobut-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 z mieszaniny poreakcyjnej dzięki zastosowaniu preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania.

P r z y k ł a d

W szklanej buteleczce o pojemności 20 cm3 umieszcza się 0,2 g (0,09 mmola) racemicznego propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu rozpuszczonego w 0,5 cm^3 acetonu oraz 1,05 g (0,057 U) preparatu fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae* (Lecitase™ Ultra) immobilizowanego na agarozie aktywowanej bromocyjanem, dodaje 3,5 cm^3 buforu fosforanowego o pH = 7.2 i całość miesza na mieszadle magnetycznym w temperaturze 20°C. Po 24 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 mieszaninę propionianu (S,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu i (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-otu rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym z zastosowaniem jako eluentu mieszaniny heksan : aceton w stosunku objętościowym 10 : 1. Otrzymuje się 0,092 g (92% wydajności teoretycznej) propionianu (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym >99% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = -116,4 (c = 1,3 CH_2Cl_2) oraz 0,071 g (97% wydajności teoretycznej) (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym 96% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = +18,2 (c = 2,0; CH_2Cl_2).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób kinetycznego rozdziału racemicznego propionianu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu, **znamienny tym**, że racemiczny propionian (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu o wzorze 1 rozpuszczony w acetonie poddaje się hydrolizie w buforze w obecności fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae* immobilizowanej na agarozie aktywowanej bromocyjanem, a nieprzereagowany propionian (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu o wzorze 2 i (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol o wzorze 3 rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowa rstwowej.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w buforze fosforanowym o pH = 7.2.

Rysunek

