RZECZPOSPOLITA POLSKA

Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **239852**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430751**

(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 octanu (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 239852 B1

Opis wynalazku

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

Produkty otrzymane w wyniku kinetycznego rozdziału racemicznego octanu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu czyli octan (*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 octanu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu w procesie hydrolizy z udziałem lipazy B z *Candida antarctica* w buforze fosforanowym o pH=6, w wyniku którego po 24 godzinach prowadzenia reakcji otrzymuje się octan (*S,E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym 74,5–80% oraz czysty optycznie (*R,E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol. (Ghanem A.; Schurig V. Lipase-catalyzed access to enantiomerically pure (*R*) and (*S*)-frans-4-phenyl-3-butene-2-ol. Tetrahedron Asymmetry 2003, 14, 57–62).

Znany jest także kinetyczny rozdział racemicznego octanu (*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 168 godzinach reakcji do otrzymania octanu (*S,E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu i (*R,E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarami enancjomerycznymi odpowiednio 56% i 85% (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 octanu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu.

Istota wynalazku polega na tym, że rozpuszczony w acetonie racemiczny octan (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu o wzorze 1 poddaje się 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 octan (*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 octanu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu w łagodnych warunkach, to jest temperaturze pokojowej i ciśnieniu atmosferycznym. Zaletą wynalazku jest również otrzymanie octanu (*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 cm^3 umieszcza się 0,2 g (1 mmol) racemicznego octanu (*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 octanu (*S,E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu i (*R,E*)-4-fenylobut-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 0,09 g (90% wydajności teoretycznej) octanu (*S,E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym 93% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = - 77,3 (c=2,38; CH_2Cl_2) oraz 0,076 g (97% wydajności teoretycznej) (*R,E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym >99% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = + 19,9 (c=1,35; CH_2Cl_2).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób kinetycznego rozdziału racemicznego octanu (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu, **znamienny tym**, że racemiczny octan (*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 octan (*S,E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu o wzorze 2 i powstały (*R,E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol o wzorze 3 rozdziela się metodą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że reakcję prowadzi się w buforze fosforanowym o pH=7,2.

Rysunek

