RZECZPOSPOLITA POLSKA

Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **240592**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **430760**

(22) Data zgłoszenia: **29.07.2019**

(51) Int.Cl.
C12P 7/22 (2006.01)
C12P 7/62 (2022.01)
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:
02.05.2022 WUP 18/22

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

(72) Twórca(y) wynalazku:
ALEKSANDRA LEŚNIAREK, Oleśnica, PL
WITOLD GŁADKOWSKI, Wrocław, PL
RADOSŁAW DROZD, Szczecin, PL
MAGDALENA SZYMAŃSKA, Chociwel, PL

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 240592 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 propionian (*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, 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 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*-butylowometylowym 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 δ-aryl-γ-iodo-δ-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 A_1 z *Aspergillus oryzae* immobilizowana na modyfikowanej celulozie bakteryjnej. Postępując zgodnie ze sposobem wytwarzania, otrzymuje się nieprzereagowany (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol oraz propionian (*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.

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 również otrzymanie z wysokimi wydajnościami izolowanymi (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu oraz propionianu (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu. Zaletą wynalazku jest również otrzymanie (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu z wysokim nadmiarem enancjomerycznym oraz czystego optycznie propionianu (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu. Zaletą wynalazku jest ponadto zastąpienie komercyjnie stosowanych w procesie transestryfikacji 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 fiolce o pojemności 20 cm^3 umieszcza się 0,2 g (1,3 mmola) racemicznego (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu i 0,4 g (0,018 U) fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae* (Lecitase™Ultra). Fosfolipaza immobilizowana jest na otrzymywanych z kultur wytrząsanych *Komagataeibacter xylinus* i modyfikowanych cząstkami ferromagnetycznymi i polietylenoiminą, sferach celulozy bakteryjnej, zwanej modyfikowaną celulozą bakteryjną (Drozd R, Szymańska M, Rakoczy R, Junka A, Szymczyk P, Fijałkowski K. Functionalized magnetic bacterial cellulose beads as carrier for Lecitase® Ultra immobilization. Applied Biochemistry and Biotechnology 2019, 187(1), 176–193). Następnie dodaje się 6 cm3 eteru diizopropylowego oraz 2 cm^3 propionianu winylu i całość miesza na mieszadle magnetycznym w temperaturze 20°C. Po 72 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 0,08 g (80% wydajności teoretycznej) (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu z nadmiarem enancjomerycznym 92% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = - 16,9 (c=0,62; CH_2Cl_2) oraz 0,108 g (79% wydajności teoretycznej) propionianu (*R*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ylu z nadmiarem enancjomerycznym 98% o skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20}$ = + 114,9 (c=0,55; CH_2Cl_2).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób kinetycznego rozdziału racemicznego (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-olu, **znamienny tym**, że racemiczny (*E*)-4-fenylobut-3-en-2-oi poddaje się. reakcji z propionianem winylu w rozpuszczalniku organicznym w obecności fosfolipazy A_1 z *Aspergillus oryzae* immobilizowanej na modyfikowanej celulozie bakteryjnej, a nieprzereagowany (*S*,*E*)-4-fenylobut-3-en-2-ol o wzorze 2 i powstały propionian (*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.

Rysunki

