

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **236838**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **426978**

(22) Data zgłoszenia: **10.09.2018**

(51) Int. Cl.
C07D 307/33 (2006.01)
C07B 53/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **trans-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on
oraz sposób jego otrzymywania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
23.03.2020 BUP 07/20

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
22.02.2021 WUP 04/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIwersytet przyrodniczy
we Wrocławiu, Wrocław, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

WITOLD GŁADKOWSKI, Wrocław, PL
ANGELIKA SYSAK, Wrocław, PL
ALEKSANDRA PAWLAK, Poznań, PL
ALEKSANDRA WŁOCH, Wrocław, PL
**BOŻENA OBMIŃSKA-MRUKOWICZ,
Wrocław, PL**
HALINA KLESZCZYŃSKA, Wrocław, PL
MARCELINA MAZUR, Rybnik, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Anna Kasperowicz

PL 236838 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest optycznie czynny *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.

Przedmiotem wynalazku jest również sposób otrzymywania bromolaktonu o wzorze 1 z kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego.

Związek ten może znaleźć zastosowanie w farmacji jako składnik leków antynowotworowych.

Dotychczas z opisów patentów PL229558 oraz PL229559, znane były optycznie czynne jodolaktony z pierścieniem 2,5-dimetylofenylowym, wykazujące aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec linii komórkowych: białaczki ludzkiej (Jurkat), psiej białaczki B-komórkowej (GL-1), psiej osteosarkomy (D17) oraz psiego chłoniaka B-komórkowego (CLBL-1).

Wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania na drodze syntezy chemicznej optycznie czynnego *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-onu o wzorze 1 z kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego. Istota wynalazku polega na tym, że kwas (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowy poddaje się reakcji z N-bromoimidem kwasu bursztynowego, a z otrzymanej mieszaniny bromolaktonów wydziela się metodą chromatografii kolumnowej czysty *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on oraz jego znane izomery.

Korzystnie jest, gdy reakcję bromolaktonizacji kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego prowadzi się w tetrahydrofuranie.

Korzystnie jest także, gdy reakcję bromolaktonizacji kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego prowadzi się w obecności katalitycznych ilości kwasu octowego.

Zasadniczą zaletą wynalazku jest otrzymanie *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-onu o wzorze 1 wykazującego aktywność antyproliferacyjną *in vitro* z bardzo wysokim nadmiarem enancjomerycznym (ee = 99%).

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania

P r z y k ł a d.

W kolbie okrągłodennej umieszcza się 1,51 g kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego, 2,5 g N-bromoimidu kwasu bursztynowego (NBS), 70 cm³ THF i kroplę kwasu octowego. Całość miesza się na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej kontrolując przebieg reakcji za pomocą chromatografii cienkowarstwowej heksan : aceton w stosunku objętościowym 3 : 1. Po całkowitym przereagowaniu substratu całość przenosi się do rozdzielacza, rozcieńcza 30 cm³ eteru dietylowego i przemywa nasyconym roztworem NaHCO₃ (dwukrotnie po 20 cm³). Warstwę organiczną zubożnia się solanką wobec papierka wskaźnikowego i osusza bezwodnym siarczanem(VI) magnezu. Po odsączeniu środka suszącego odparowuje się rozpuszczalnik. Otrzymuje się surową mieszaninę bromolaktonów, z której metodą chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym przy zastosowaniu jako eluentu mieszaniny heksan : aceton w stosunku objętościowym 20 : 1 wydziela się jako jeden z produktów *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on w ilości 0,233 g (11% wydajności teoretycznej). Pozostałe produkty reakcji stanowią znane izomery otrzymanego związku, tj. (4R,5R,6S)-5-*t*-bromo-4-*r*-(2',5'-dimetylofenylo)-6-*c*-metylotetrahydropiran-2-on oraz *cis*-(4R,5R,6S)-5-(1-bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on.

Dane fizyczne i spektroskopowe otrzymanego *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-onu są następujące:

Oleista ciecz, R_f = 0,38 (heksan/aceton, 3 : 1), $[\alpha]_D^{20} = + 3.8$ (c 1,0; CH₂Cl₂, ee = 99%).

¹H NMR, δ 1,69 (d, J = 7,2 Hz, 3H, CH₃-7); 2,34 (s, 3H, CH₃-5'), 2,38 (s, 3H, CH₃-2'), 2,54 (dd, J = 18,6 i 6,6 Hz, 1H, jeden z CH₂-3), 3,14 (dd, J = 18,6 i 10,2 Hz, 1H, jeden z CH₂-3), 3,95 (dublet dubletów dubletów, J = 10,2, 6,6 i 5,4 Hz, 1H, H-4), 4,33 (kwartet dubletów, J = 7,2 i 5,4 Hz, 1H, H-6), 4,67 (tryplet, J = 5,4 Hz, 1H, H-5), 7,01-7,03 (m, 2H, H-4', H-6'), 7,09 (d, J = 7,8 Hz, 1H, H-3');

¹³C NMR, δ 19,45 (CH₃-2'), 21,07 (CH₃-5'), 23,37 (C-7), 38,41 (C-3), 38,53 (C-4), 45,29 (C-6), 86,76 (C-5), 126,45 (C-6'); 128,47 (C-4'), 130,91 (C-3'), 133,29 (C-2'), 136,11 (C-5'), 136,42 (C-1'), 176,41 (C-2); IR (cm⁻¹): 1779 (s), 1505 (w), 1151 (s), 1006 (s), 811 (m), 634 (m).

δ-Bromo-γ-lakton z pierścieniem 2,5-dimetylofenylowym o wzorze 1 wykazuje aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec psich linii komórek nowotworowych: chłoniaka B-komórkowego (CLBL-1), białaczki B-komórkowej (GL-1 oraz CLB70) oraz kostniakomięsaka (D17). Związek ten nie indukuje hemolizy erytrocytów, nie wpływa więc destrukcyjnie na błony erytrocytów. Badania oddziaływań

związku z błonami biologicznymi wykazały natomiast, że powoduje on znaczące zmiany w obszarze główek polarnych lipidów (wzrost uogólnionej polaryzacji sondy Laurdan oraz wzrost intensywności sondy MC540) i wykazuje nieznaczny wpływ na obszar hydrofobowy błon.

Tabela 1 przedstawia wyniki testów biologicznych *in vitro* 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.

<i>trans</i> - δ -bromo- γ -lakton (Wzór 1)	IC_{50} [μ g/ml] \pm SEM		
	Linia CLBL-1	Linia GL-1	Linia CLB70
	18,09 \pm 3,33	14,92 \pm 0,48	20,08 \pm 0,32

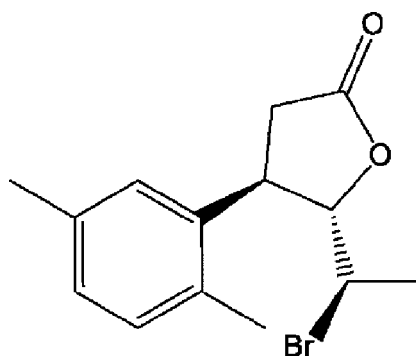
IC_{50} – stężenie związku, przy którym żywotność komórek wynosi 50%

SEM – błąd standardowy średniej

Zastrzeżenia patentowe

1. *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.
2. Sposób otrzymywania *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on, **znamienny tym**, że kwas (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowy poddaje się bromolaktonizacji otrzymując mieszaninę produktów, z której metodą chromatografii kolumnowej wydziela się *trans*-(4R,5S,6R)-5-(1-Bromoetylo)-4-(2',5'-dimetylofenylo)-dihydrofuran-2-on o wzorze 1 oraz jego znane izomery.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję bromolaktonizacji kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego prowadzi się w tetrahydrofuranie.
4. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że reakcję bromolaktonizacji kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego prowadzi się w obecności katalitycznych ilości kwasu octowego.

Rysunek



Wzór 1