

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **235029**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **425551**

(51) Int.Cl.
C07D 309/10 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **15.05.2018**

(54) **(4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-2-on
oraz sposób jego otrzymywania**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
18.11.2019 BUP 24/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
18.05.2020 WUP 05/20

(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:

rzec. pat. Anna Kasperowicz

PL 235029 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest optycznie czynny (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-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.

Optycznie czynny β -fenylo- γ -bromo- δ -lakton o wzorze 1 może znaleźć zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym jako związek o działaniu antynowotworowym.

γ -Bromo- δ -lakton z pierścieniem 2,5-dimetylofenylowym o wzorze 1 wykazuje aktywność antyproliferacyjną *in vitro* wobec psich nowotworowych linii komórkowych: chłoniaka B-komórkowego (CLBL-1) oraz przewlekłej białaczki B-komórkowej (CLB70). Związek ten nie indukuje hemolizy erytrocytów, nie wpływa więc destrukcyjnie na błony erytrocytów. Badania oddziaływań związku z błonami biologicznymi i modelowymi 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. Związek ten może znaleźć zastosowanie w farmacji jako składnik leków antynowotworowych.

Dotychczas 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) (Gładkowski W., Skrobiszewski A., Mazur M., Gliszczyńska A., Czarnecka M., Pawlak A., Obmińska-Mrukowicz B., Maciejewska G., Białońska A. Chiral δ -iodo- γ -lactones derived from cuminaldehyde, 2,5-dimethylbenzaldehyde and piperonal: chemoenzymatic synthesis, and antiproliferative activity. Tetrahedron: Asymmetry, 2016, 27, 227–237; opis wynalazku P.415782 oraz P.415783).

Wynalazek, dotyczy sposobu wytwarzania na drodze syntezy chemicznej optycznie czynnego (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-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 (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-2-on.

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 (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-2-onu o wzorze 1 wykazującego aktywność antyproliferacyjną *in vitro* z bardzo wysokim nadmiarem enancjomerycznym (ee = 99%).

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

γ -Bromo- δ -lakton	IC ₅₀ [μ g/ml] \pm SEM	
	Linia CLB70	Linia CLBL-1
Wzór 1	31,30 \pm 4,2	45,86 \pm 3,5

IC₅₀ – stężenie związku, przy którym żywotność komórek wynosi 50%
SEM – błąd standardowy średniej

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania.

Przykład

W kolbie okrągłodennej umieszcza się 1,6 g kwasu (S,E)-3-(2',5'-dimetylofenylo)-heks-4-enowego, 2,5 g N-bromoimidu kwasu bursztynowego (NBS), 50 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 7:1. Po całkowitym przereagowaniu substratu całość przenosi się do rozdzielacza, rozcieńcza 30 cm³ eteru dietylowego i przemywa nasyconym roztworem NaHCO₃ (trzykrotnie po 20 cm³). Warstwę organiczną zubożają solanką wobec papierka wskaźnikowego i osusza bezwodnym siarczanem magnezu. Po odsączeniu środka suszącego odparowuje się rozpuszczalnik. Otrzymuje się 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 (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-2-on w ilości 0,38 g (23% wydajności teoretycznej).

Dane fizyczne i spektroskopowe otrzymanego (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-2-onu są następujące:

Bezbarwne kryształy, temperatura topnienia 113–120°C

$R_f = 0,33$ (heksan/aceton, 3:1), $[\alpha]_D^{20} = +11,5$ (c 0,25; CH₂Cl₂, ee = 99%).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃), δ: 1,68 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H, CH₃-7), 2,32 i 2,33 (dwa s, 6H, CH₃-2' i CH₃-5'), 2,63 (dd, $J = 18,0$ i 10,8 Hz, 1H, jeden z CH₂-3), 2,97 (dd, $J = 18,0$ i 6,6 Hz, 1H, jeden z CH₂-3), 3,74 (td, $J = 10,8$ i 6,6 Hz, 1H, H-4), 4,05 (t, $J = 10,8$ Hz, 1H, H-5), 4,68 (dublet kwartetów, $J = 10,8$ i 6,0 Hz, 1H, H-6), 6,92 (s, 1H, H-6'), 7,01 (dd, $J = 7,8$ i 1,2 Hz, 1H, H-4'), 7,08 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, H-3').

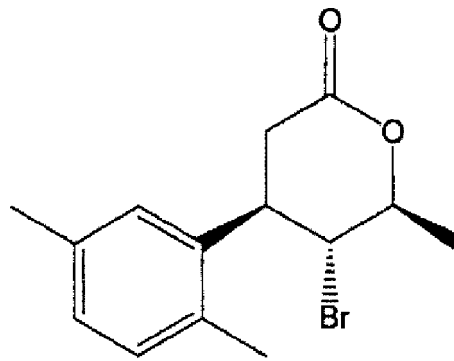
¹³C NMR, δ: 19,23 (CH₃-2'), 20,69 (C-7), 21,16 (CH₃-5'), 37,67 (C-3), 41,76 (C-4), 54,18 (C-5), 80,06 (C-6), 125,61 (C-6'), 128,28 (C-4'), 130,70 (C-3'), 132,60 (C-2'), 136,50 (C-5'), 138,83 (C-1') 169,25 (C-2);

IR (cm⁻¹): 1720 (s), 1506 (w), 1231 (s), 1037 (s), 972 (m), 820 (m), 632 (m)

Zastrzeżenia patentowe

1. (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydro-piran-2-on o wzorze 1 przedstawionym na rysunku.
2. Sposób otrzymywania (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydropiran-2-onu o wzorze 1, **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 (4R,5R,6S)-5-t-bromo-4-r-(2',5'-dimetylofenylo)-6-c-metylotetrahydro-piran-2-on.
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