

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **236949**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **425833**

(22) Data zgłoszenia: **07.06.2018**

(51) Int.Cl.

C07D 307/78 (2006.01)

A61K 31/343 (2006.01)

A61P 13/00 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

(54) **1-(Bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuran, sposób jego wytwarzania
oraz zastosowanie w inhibicji aktywności ureazy bakteryjnej**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
08.04.2019 BUP 08/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
08.03.2021 WUP 05/21

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, Wrocław, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

KATARZYNA MACEGONIUK, Wrocław, PL

AGATA KOZIOŁ, Wrocław, PL

AGNIESZKA STAROSTA, Opole, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Katarzyna Paprzycka

PL 236949 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest terpenoidowy furan, będący 1-(bromometylo)-4,4,7a-trimetylooktahydro-2-benzofuranem oraz sposób jego wytwarzania. Przedmiotem wynalazku jest również zastosowanie 1-(Bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu w inhibicji aktywności ureazy bakteryjnej z *Proteus mirabilis*.

Enzymatyczna hydroliza mocznika jest procesem zaangażowanym w rozwój różnych stanów patologicznych u ludzi, szczególnie związanych z układem moczowym – infekcje wywołane głównie przez szczepy *Proteus sp.* Wzmoczona aktywność ureazy przez kolonizujące układ moczowy szczepy bakterii powoduje uwalnianie dużej ilości amoniaku przyczyniając się do podniesienia pH moczu z wartości około 6.5 do 9.0. W tych warunkach dochodzi do wytrącenia rozpuszczalnych fosforanów (głównie Ca^{2+} oraz Mg^{2+}) oraz krystalizacji struwitu ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) i apatytów: hydroksylowego $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_6]$, oraz węglanowego $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{CO}_3]$. Konsekwencją jest wystąpienie licznych zaburzeń układu moczowego, m.in. powstanie kamicy nerkowej i/lub odmiedniczkowego zapalenie nerek oraz tworzeniem ognisk zapalnych

Kontrolowanie hydrolizy mocznika przez wykorzystanie inhibitorów ureazy może wpłynąć na poprawę terapeutycznych strategii w leczeniu zakażeń wywołanych przez ureolityczne bakterie. Umiejętność sterowania aktywnością katalityczną ureazy za pomocą specyficznie dobranych niskocząsteczkowych inhibitorów stwarza możliwość uzyskania związków o potencjalnym zastosowaniu w medycynie. Wśród najlepiej zbadanych inhibitorów ureaz są: kwasy hydroksamowe, amidy kwasu fosforowego i ich estry, kwas borowy, związki tiolowe, chinony, pochodne kwasów fosfinowych i fosfonowych, związki heterocykliczne, związki polihydroksylowe oraz jony metali ciężkich i ich kompleksy.

Dotychczas nie jest znany z literatury związek będący przedmiotem wynalazku oraz sposób jego wytwarzania. Nie jest również znane z literatury zastosowanie 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu jako czynnika redukującego stopień zainfekowania układu moczowego przez mikroorganizmy ureolityczne.

Istotą wynalazku jest 1-(Bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuran o wzorze 1.

Sposób wytwarzania 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu o wzorze 1 polega na tym, że (2Z)-3-(2,6,6-trimetylcykloheks-1-en-1-yl)prop-2-en-1-ol poddaje się zmodyfikowanej reakcji addycji elektrofilowej, przy czym reakcję prowadzi się w temperaturze pokojowej w obecności *N*-bromoimidu kwasu bursztynowego, tetrahydrofuranu i wody, aż do momentu całkowitego przereagowania alkoholu, a następnie po zakończeniu reakcji oddestylowuje się rozpuszczalniki.

Korzystnie surowy produkt w postaci 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu oczyszcza się za pomocą błyskawicznej chromatografii kolumnowej typu Flash, gdzie eluentem jest heksan:octan etylu użyty w proporcji 5:3.

Istotą wynalazku jest również zastosowanie 1-(Bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu jako środka przeciwbakteryjnego, zwłaszcza wobec *Proteus mirabilis*.

Przedmiot wynalazku przedstawiony jest bliżej w przykładach wykonania.

Przykład 1

W kolbie o pojemności 50 ml, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne, oraz zabezpieczonej przed dostępem wilgoci umieszcza się 0,11 g (0,62 mmol) (2Z)-3-(2,6,6-trimetylcykloheks-1-en-1-yl)prop-2-en-1-ol, 5 ml THF-u i 2 ml H_2O . Po 10 minutach do mieszaniny dodaje się 0,44 g (2,35 mmol) *N*-bromoimdu kwasu bursztynowego. Utworzoną mieszaninę miesza się 24 godziny, w temperaturze pokojowej, kontrolując przebieg reakcji chromatografią TLC w eluencie heksan:octan etylu (5:3). Reakcję prowadzi się do momentu całkowitego przereagowania alkoholu. Po zakończeniu reakcji do mieszaniny dodaje się 5 ml Et_2O i fazę wodną ekstrahuje się 4x 6 ml Et_2O . Połączone ekstrakty przemywa się dwukrotnie nasyconym NaHCO_3 i H_2O . Warstwę organiczną osusza się bezwodnym MgSO_4 . Po osuszeniu, środek suszący odfiltruje się, a rozpuszczalniki odparowuje na wyparce rotacyjnej. Otrzymuje się 0,25 g surowego produktu. Surowy produkt oczyszcza się za pomocą błyskawicznej chromatografii kolumnowej stosując eluent heksan:octan etylu (5:3). W wyniku oczyszczania otrzymuje się 0,045 g związku będącym 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranem, co stanowi 41% wydajności tej reakcji.

Produkt otrzymany według przykładu posiada następujące właściwości fizyczne i spektralne:

Wzór sumaryczny: $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{BrO}$

Masa molowa: 261,199 [g/mol]

¹H NMR (601 MHz, CDCl₃ δ) 0,99 (m, 3H, przy C-10), 1,00 (m, 6H, przy C-11, C-12), 1,31 (s, 1H, przy C-1), 1,46 (m, 2H, przy C-3), 1,53 (m, 2H, przy C-4), 1,87 (m, 2H, przy C-5), 3,54 (d, *J* = 10.0 Hz, 2H, C-9), 3,81 (m, 2H, C-7), 3,78 (s, 1H, przy C-8)

¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃ δ) 14,03 (C-10), 19,35 (C-4), 29,06 (C-11, C-12), 29,70 (C-9), 31,65 (C-6), 34,60 (C-3), 41,37 (C-5), 42,39 (C-2), 57,40 (C-1), 67,91 (C-7), 77,17 (C-8)

Przykład 2

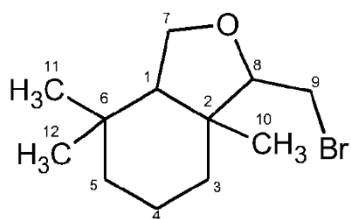
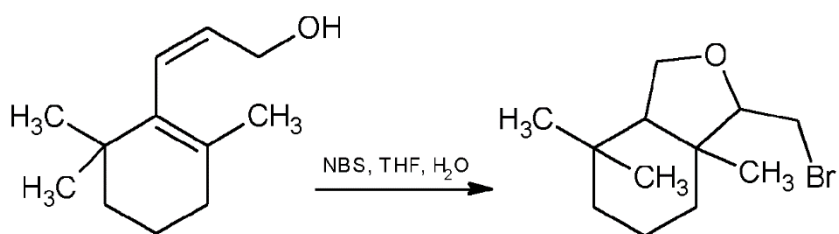
Oznaczanie aktywności antyureolitycznej *in vitro* wobec wypreparowanej ureazy bakteryjnej.

Aktywność inhibicyjna 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu została określona wobec wyizolowanej i wysoce oczyszczonej natywnej ureazy z *Proteus mirabilis* za pomocą indofenolowej, kolorymetrycznej reakcji Berthelota. Stałe kinetyczne zostały obliczone za pomocą programu komputerowego GraphPad Prism 5 wykorzystującego metodę regresji nieliniowej. Analiza hydrolizy mocznika w obecności 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuran wykazała odwracalny, niekompetycyjny model inhibicji z wartością stałej inhibicji wynoszącą $43,875 \pm 2,154 \mu\text{M}$.

Biorąc pod uwagę powyższe wyniki, związek chemiczny będący przedmiotem wynalazku jest pierwszym przedstawicielem nowej klasy niskocząsteczkowych inhibitorów wobec natywnej ureazy z *Proteus mirabilis*. Związek ten stanowi nowe podejście w projektowaniu wysoce aktywnych inhibitorów ureaz opierających się na związkach wiążących się z ureazą poza centrum aktywnym enzymu. Główną zaletą tego związku jest połączenie wysokiej aktywności inhibicyjnej z hydrolityczną stabilnością oraz dobrą rozpuszczalnością. Mikromolowa wartość stałej inhibicji potwierdza słuszność przyjętej koncepcji w projektowaniu inhibitorów ureaz, jak również zachęcają do badania nowych związków, których mechanizm inaktywacji enzymu opiera się na powyższych założeniach.

Zastrzeżenia patentowe

1. 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuran o wzorze 1.
2. Sposób wytwarzania 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu o wzorze 1, **znamienny tym**, że (2Z)-3-(2,6,6-trimetylcykloheks-1-en-1-yl)prop-2-en-1-ol poddaje się zmodyfikowanej reakcji bromolaktonizacji, przy czym reakcję prowadzi się w temperaturze pokojowej w obecności *N*-bromoimidu kwasu bursztynowego, tetrahydrofuranu i wody, aż do momentu całkowitego przereagowania alkoholu, a następnie po zakończeniu procesu oddestylowuje się rozpuszczalniki.
3. Sposób według zastrz. 2, **znamienny tym**, że surowy produkt w postaci 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuranu oczyszcza się za pomocą błyskawicznej chromatografii kolumnowej typu Flash, gdzie eluentem jest heksan:octan etylu użyty w proporcji 5:3.
4. 1-(bromometylo)-2,6,6-trimetylooktahydro-2-benzofuran do zastosowania jako środek przeciwbakteryjny, zwłaszcza wobec *Proteus mirabilis*.

Rysunki**Wzór 1****Schemat reakcji**