

Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 2323/87

(51) Int.Cl.6

C 07 D 471/04

(22) Indleveringsdag: 06 maj 1987

/(C 07 D 471/04,

(41) Alm. tilgængelig: 07 dec 1987

C 07 D 211:00,

(45) Patentets meddelelse bkg. den: 01 maj 1995

C 07 D 239:00)

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 06 jun 1986 US 871539

(73) Patenthaver: The *Trustees of Princeton University; P.O.Box 36; Nassau Street; Princeton; New Jersey 08544, US

(72) Opfinder: Edward C. *Taylor; US, George Peter *Beardsley; US, Chuan *Shih; US, Stephen R. *Fletcher; GB

(74) Fuldmægtig: Larsen & Birkeholm A/S Skandinavisk Patentbureau

(54) Diastereoisomere tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-derivater samt fremgangsmåde til adskillelse af disse diastereoisomere forbindelser

(56) Fremdragne publikationer

(57) Sammen drag:

2323-87

De diastereoisomere former af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre er antineoplastiske stoffer. Forbindelserne fremstilles ved adskillelse af den diastereoisomere form af de på tilsvarende måde beskyttede glutaminderivater og hydrolytisk eller hydrogenolytisk fjernelse af carboxylsyre- og/eller aminobeskyttelsesgrupper.

DIASTEREOISOMERE TETRAHYDROPYRIDO[2,3-d]PYRIMIDIN-DERIVATER
SAMT FREMGANGSMÅDE TIL ADSKILLELSE AF DISSE DIASTEREOISOME-
RE FORBINDELSER

5

DETALJERET BESKRIVELSE

Denne opfindelse angår hidtil ukendte diastereoisomere af
 N-(4-[2-(5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)
 10 ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre samt en fremgangsmåde til ad-
 skillelse af disse diastereoisomere forbindelser.

Den diastereoisomere forbindelse ifølge opfindelsen er
 ejendommelig ved, at den er udvalgt af gruppen, der består
 15 af:

- (i) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-
 5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)et-
 hyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

20

$$\begin{array}{rcl} & 25 & \\ [\alpha] & & = -21,06^{\circ}, \\ & 589\text{nm} & \end{array}$$

25

og er i hovedsagen fri for den diastereoisomer af
 N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydro-
 pyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]-benzoyl)-L-glu-
 taminsyre, der har

30

$$\begin{array}{rcl} & 25 & \\ [\alpha] & & = +31,09^{\circ}; \\ & 589\text{nm} & \end{array}$$

35

- (ii) den tautomere 4(3H)-oxo form deraf;

og

- 5 (iii) et farmaceutisk acceptabelt alkalimetal-, jordalkalimetal-, ikke-giftigt metal-, ammonium- eller substitueret ammoniumsalt deraf, der er i hovedsagen frit for det tilsvarende salt af den diastereoisomer, der har

$$\begin{array}{l} 25 \\ 10 \quad [\alpha] \quad = +31,09^\circ. \\ \quad \quad 589\text{nm} \end{array}$$

- 15 (iiii) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{l} 25 \\ \quad [\alpha] \quad = +31,09^\circ, \\ \quad \quad 589\text{nm} \end{array}$$

20

og er i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]-benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

25

$$\begin{array}{l} 25 \\ \quad [\alpha] \quad = -21,06^\circ; \\ \quad \quad 589\text{nm} \end{array}$$

- 30 (iiiiii) den tautomere 4(3H)-oxo form deraf;

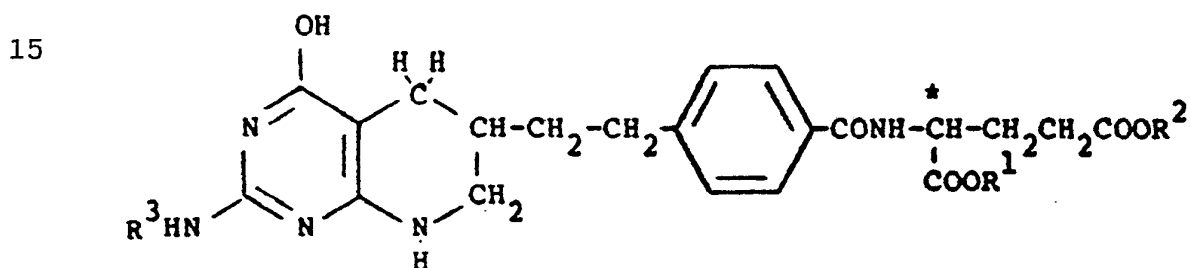
og

- 35 (iiiiiii) et farmaceutisk acceptabelt alkalimetal-, jordalkalimetal-, ikke-giftigt metal-, ammonium- eller substitueret ammoniumsalt deraf, som er i hoved-

sagen frit for det tilsvarende salt af den diastereoisomer, der har

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = -21,06^{\circ}.$$

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at man behandler en opløsning af en blanding af diastereoisomere forbindelser med formlen:



hvor

R^1 og R^2 er ens eller forskellige carboxylsyrebeskyttelsesgrupper;

R^3 er hydrogen eller en aminobeskyttelsesgruppe, og konfigurationen omkring det carbonatom, der er mærket * er L,

med en chiral syre, der er i stand til at danne salt med blandingen, adskille de resulterende to diastereoisomere salte af syren og forbindelsen, og derefter frigøre den kationiske del af mindst det ene af de adskilte salte som den fri base ved behandling med base og fjernelse af beskyttelsesgrupperne, idet frigørelsen udføres enten som et separat trin før eller efter fjernelse af beskyttelsesgrupperne,

eller samtidig med fjernelsen til dannelse af mindst én af

- (1) den diastereoisomer af N-(4-([2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = -21,06^{\circ},$$

i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = +31,09^{\circ},$$

og

- (ii) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = +31,09^{\circ},$$

i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{l} 25 \\ [\alpha] \quad \quad = -21,06^\circ. \\ 589\text{nm} \end{array}$$

5

Folsyreantimetabolitterne aminopterin og amethopterin (også kendt som 10-methylaminopterin eller methotrexat) er anti-neoplastiske stoffer. Disse stoffer inhiberer enzymatiske omdannelser, der involverer metaboliske derivater af folsyre. F.eks. inhiberer amethopterin dihydrofolatreductase, et enzym, der er nødvendigt for regenereringen af tetrahydrofolat fra dihydrofolat, som opstår ved omsætningen af 2-deoxyuridylat til thymidylat ved hjælp af enzymet thymidylatsyntetase.

15

Andre derivater af folsyre og aminopterin er syntetiseret og testet som antimetabolitter. Blandt disse er forbindelser, i hvilke en methylen- eller methylidengruppe optager en plads i molekylet, der normalt er besat med henholdsvis en imino- eller nitrilgruppe. Disse derivater har en varierende grad af antimetabolisk aktivitet. 10-deazaaminopterin er stærkt aktiv (Sirotak et al., Cancer Treat. Rep., 1978, 62, 1047), og 5-deazaaminopterin har en aktivitet svarende til amethopterins (Taylor et al., J. Org. Chem., 1983, 48, 4852). 8,10-dideazaaminopterin rapporteres at være aktiv (U.S. Patent nr. 4.460.591) og 5,8,10-trideazaaminopterin udviser aktivitet mod L1210 leukæmi i mus (Yan et al., J. Heterocycl. Chem., 1979, 16, 541). På den anden side viser 10-deazafolsyre ingen nævneværdig aktivitet (Struck et al., J. Med. Chem., 1971, 14, 693) og 5-deazafolsyre er kun svagt cytotoxisk. 8,10-dideazafolsyre er kun ganske lidt virksomt som dihydrofolatreductaseinhibitor (De Graw et al., "Chemistry and Biology of Pteridines", Elsevier, 1979, 229) og 5,8,10-trideazafolsyre viser også kun svag aktivitet mod L1210 leukæmi i mus (Oatis et al., J. Med. Chem., 1977, 20,

1393). 5,10-dideazaaminopterin og 5,10-dideaza-5,6,7,8-tetrahydroaminopterin og de tilsvarende 5,10-dideazafolsyrederivater er beskrevet af Taylor et al., J. Med. Chem., 28:7, 914 (1985).

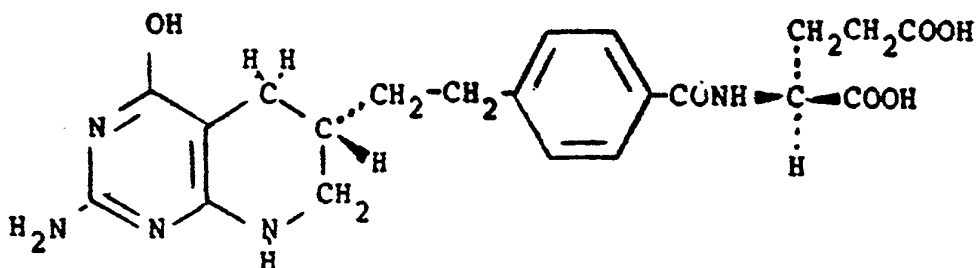
5

Som beskrevet i sydafrikansk patent nr. 86/1235 er forbindelsen N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetra-hydropyrido-[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre et
bredspektret antineoplastisk stof. Der er to chirale centre
i denne forbindelse: carbonatomet i tetrahydropyrido[2,3-
d]pyrimidinringens 6-stilling og alfa-carbonatomet i glutaminsyregruppen. Af de teoretisk fire former af forbindelsen
reducerer brugen af L-glutaminsyre som reagens ved den indledende kobling af forbindelserne som beskrevet i sydafrikansk patent nr. 86/1235 mulighederne til to. Begge disse
opstår imidlertid ved den efterfølgende hydrogenering og
følgelig opstår ved fjernelse af beskyttelsesgrupperne det
ønskede stof som en blanding af (S,S) og (R,S) diastereoisomererne:

20

(S,S):

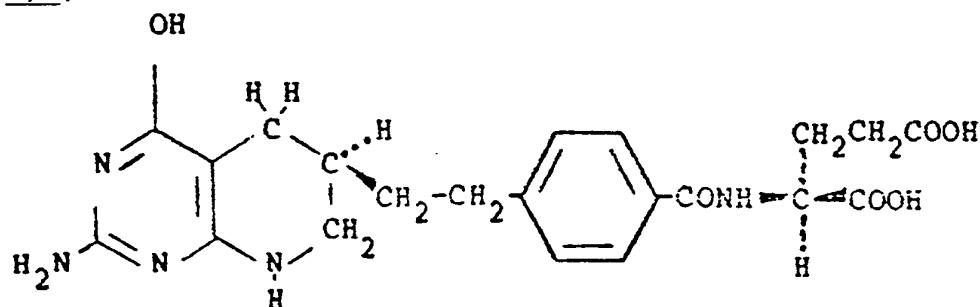
25



30

(R,S):

35



- Disse diastereoisomere kan adskilles mekanisk, f.eks. ved chromatografi, men dette besværliggøres i nogen grad, navnlig ved operationer i stor skala, af den lave opløselighed af disse forbindelser i de fleste organiske opløsningsmidler. Blandingen af diastereoisomere kan benyttes terapeutisk, idet de begge virker som substrater for relevante folatenzymer. De er imidlertid højeffektive mod tumorer, herunder sådanne, der er resistente over for methotrexat. En forklaring af denne overraskende egenskab kan findes i den kendsgerning, at de ikke inhiberer dihydrofolatreduktase, men i stedet GAR-transformylase. Dette er fuldstændig uventet, jfr. også de efterfølgende eksempler 2-5 med hensyn til den konstaterede antineoplastiske virkning.
- En opløsning af en blanding af diastereoisomert diethyl N-(4-[2-(2-acetamido-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutamat eller andre beskyttede derivater behandles med en chiral syre, der er i stand til at danne et salt hermed. De resulterende diastereoisomere salte adskilles så ved en eller flere fraktionerede omkrystallisationer, og derefter frigøres den frie base af den kationiske del af i det mindste ét af de udskilte salte ved behandling med en base og fjernelse af beskyttelsesgruppen. Frigørelsen af kationen fra saltet kan udføres som et separat trin før eller efter fjernelsen af beskyttelsesgrupperne, eller samtidig med fjernelsen, når disse grupper kan fjernes under basiske omstændigheder, d.v.s., basisk hydrolyse.
- Egnede chirale syrer omfatter de enkelte enantiomere af 10-camphersulfonsyre, camphersyre, alfa-bromcamphersyre, menthoxyeddikesyre, vinsyre, diacetylvinsyre, æblesyre og pyrrolidon-5-carboxylsyre.
- Således fås (i) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)et-

hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{lcl}
 & 25 & \\
 5 & [\alpha] & = -21,06^{\circ}, \\
 & 589\text{nm} &
 \end{array}$$

og er stort set fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{lcl}
 & 25 & \\
 & [\alpha] & = +31,09^{\circ}, \\
 & 589\text{nm} &
 \end{array}$$

15 og (ii) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{lcl}
 20 & 25 & \\
 & [\alpha] & = +31,09^{\circ}, \\
 & 589\text{nm} &
 \end{array}$$

25 og på den anden side er stort set fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{lcl}
 & 25 & \\
 30 & [\alpha] & = -21,06^{\circ}. \\
 & 589\text{nm} &
 \end{array}$$

35 Fjernelsen af beskyttelsesgrupperne kan opnås ved hydrolyse, der udføres ved normale temperaturer, idet der benyttes vandig syre eller base, som f.eks. vandig alkalimetalhydroxid, eventuelt under tilstedeværelse af et organisk

opløsningsmiddel, der er blandbart med vand, såsom methanol, ethanol, tetrahydrofuran, dimethylformamid og lignende, eller en syre, som f.eks. trifluoreddikesyre. Når der benyttes base, frigøres den kationiske del af saltet, og produktet fremkommer som det dikationiske glutamatsalt, der let kan fældes ved justering af pH ved tilsætning af syre, f.eks. eddikesyre. De resulterende produkter er i almindelighed højt-smeltende, krystalinske eller mikrokrytalinske, faste stoffer.

EKSEMPEL 1

En blanding af 1,0 g diethyl-N-(4-[2-(2-acetamido-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutamat og 880 mg d(+)-10-camphersulfonsyre i 50 ml vandfri ethanol opvarmes til reflux i 4 timer. Reaktionsblandingen fik lov til at køle til stuetemperatur og stod natten over. Det hvide, faste stof, der dannedes, blev filtreret fra og omkrystalliseret fraktioneret af ethanol seks gange, hvilket gav 37 mg af diastereoisomer "B" af diethyl-N-(4-[2-(2-acetamido-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutamat-d(+)-10-camphersulfonat, smp. 223-225°C,

25

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = -20,02^\circ.$$

Opløsningsmidlet fjernes fra moderluden ved inddampning, og det faste stof, der fremkommer, omkrystalliseres to gange af ethanol, hvilket giver diastereoisomer "A" af diethyl-N-(4-[2-(2-acetamido-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutamat-d(+)-10-camphersulfonat,

35

$$\begin{array}{l}
 25 \\
 [\alpha] \quad \quad = +29,35^{\circ} \\
 589\text{nm}
 \end{array}$$

5 En opløsning af diastereoisomer "B" af diethyl-N-(4-[2-(2-acetamido-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutamat-d(+)-10-campfersulfonat i 50 ml methanol indeholdende 3 ml 1N vandig natriumhydroxid blev omrørt ved stuetemperatur i 72 timer. Tilsætning af 2 ml eddikesyre efterfulgt af centrifugering gav diastereoisomer "B" af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, smp. 224-227°C (dec.)

15
$$\begin{array}{l}
 25 \\
 [\alpha] \quad \quad = -21,0581^{\circ} \text{ (c = 0,636, 0,1N NaOH); } \\
 589\text{nm}
 \end{array}$$

20 λ_{max} 278nm, 222nm, NMR (CDCl₃) delta 1,85 (m, 2H), 1,98 (m, 1H), 2,25 (m, 1H), 2,45 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,92 (m, 5H), 3,25 (t, J = 10 Hz, 1H), 3,82 (d, J = 10 Hz, 1H), 5,13 (m, 1H), 7,43 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,84 (d, J = 9 Hz, 2H). Den optiske renhed er >97 %.

25 Ved at følge den ovennævnte procedure, men benytte diastereoisomer "A" af diethyl-N-(4-[2-(2-acetamido-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutamat-d(+)-10-campfersulfonat i stedet for diastereoisomer "B", fås diastereoisomer "A" af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, smp. 253-255°C (dec.)

30

25

$[\alpha]_{589\text{nm}} = +31,0915^\circ$ (c = 3,605, 0,1N NaOH);

5 λ_{max} 278nm, 222nm, NMR (CDCl_3) delta 1,85 (m, 2H), 1,98 (m, 1H), 2,25 (m, 1H), 2,45 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,92 (m, 5H), 3,25 (t, J = 10 Hz, 1H), 3,82 (d, J = 10 Hz, 1H), 513 (m, 1H), 7,43 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,84 (d, J = 9 Hz, 2H). Den optiske renhed er >97 %.

10

EKSEMPEL 2

15 IC_{50} værdien blev bestemt i helcelle (eng: whole cell) humane leukæmi-cellelinier, CCRF-CEM, for diastereoisomer "A" og diastereoisomer "B". Resultaterne af disse undersøgelser er følgende:

	Forbindelse	IC_{50} (mcg/ml)
20	Diastereoisomer "A"	$2,6 \times 10^{-3}$
	Diastereoisomer "B"	$3,4 \times 10^{-3}$

EKSEMPEL 3

25 Grupper á 10 C3H hunmus blev podet intraperitonealt i axillærregionen med 6C3HED lymphosarcomceller. Teststoffet indgives så i Emulphor IP (0,5 ml) i 8 dage. Kontrollerne fik samme behandling uden teststof.

	Forbindelse	Dosis (mg/kg)	% Hæmning	Overlevende
5	Isomer A	6,00	74	10/10
		12,50	89	10/10
		25,00	100	10/10
		50,00	100	10/10
		100,00	100	10/10
10	Isomer B	3,60	71	10/10
		6,25	84	10/10
		12,50	89	10/10
		25,00	99	10/10
		50,00	100	10/10
15		100,00	100	8/10

EKSEMPEL 4

20

C3H bryst adenocarcinomceller blev implanteret i grupper af C3H mus og isomer B blev så indgivet som anført, idet kontroldyrene kun fik fortyndingsmidlet.

25

Kontinuert infusion (2 ml/dag)
i 1 % NaHCO₃ daglig i 5 dage.

	Dosis (mg/kg)	% Hæmning	Overlevende
30	0,62	20	5/5
	1,25	59	6/6
	2,50	93	6/6
	5,00	Toksisk	0/6

Intraperitonealt (0,5 ml/dag)
i Emulphor daglig i 10 dage.

5	Dosis (mg/kg)	% Hæmning	Overlevende
	3,60	76	10/10
	6,25	93	10/10
	12,50	99	8/10
10	25,00	100	7/10
	50,00	100	8/10
	100,00	Toksisk	0/10

15 Intraperitonealt (0,5 ml/dag)
i Emulphor, kun dag 1, 3, 5, 7 og 9.

	Dosis (mg/kg)	% Hæmning	Overlevende
20	50	91	10/10
	100	96	10/10
	200	100	10/10
	400	100	8/10

25 Intraperitonealt (0,5 ml/dag)
i Emulphor, kun dag 1, 3, 5, 7 og 9.

	Dosis (mg/kg)	% Hæmning	Overlevende
30	6,25	39	10/10
	12,50	21	10/10
	25,00	59	10/10
	50,00	60	10/10
	100,00	94	10/10

35

EKSEMPEL 5

5 X5563 plasmacelle myelomceller blev implanteret i grupper af C3H mus og isomer B blev så indgivet som anført, idet kontroldyrene kun fik fortyndingsmidlet.

Intraperitonealt (0,5 ml/dag)
i Emulphor daglig i 10 dage.

10	Dosis (mg/kg)	% Hæmning	Overlevende
	3,60	62	10/10
	6,25	76	7/10
	12,50	90	10/10
15	25,00	99	8/10
	50,00	99	7/9
	100,00	Toksisk	0/10

P A T E N T K R A V

1. Diastereoisomere tetrahydro-pyrido[2,3-d]pyrimidin-
forbindelser, k e n d e t e g n e t ved, at de er udvalgt
5 af gruppen, der består af:

(i) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-
5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)et-
hyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

10

$$\begin{array}{c} 25 \\ [\alpha] \quad = -21,06^{\circ}, \\ 589\text{nm} \end{array}$$

15

og er i hovedsagen fri for den diastereoisomer af
N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydro-
pyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]-benzoyl)-L-glu-
taminsyre, der har

20

$$\begin{array}{c} 25 \\ [\alpha] \quad = +31,09^{\circ}; \\ 589\text{nm} \end{array}$$

25

(ii) den tautomere 4(3H)-oxo form deraf;

og

30

(iii) et farmaceutisk acceptabelt alkalimetal-, jordal-
kalimetal-, ikke-giftigt metal-, ammonium- eller
substitueret ammoniumsalt deraf, der er i hovedsa-
gen frit for det tilsvarende salt af den diaste-
reoisomer, der har

$$\begin{array}{c} 25 \\ [\alpha] \quad = +31,09^\circ. \\ 589\text{nm} \end{array}$$

- 5 (iiii) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{c} 25 \\ 10 \quad [\alpha] \quad = +31,09^\circ, \\ 589\text{nm} \end{array}$$

- 15 og er i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]-benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{c} 25 \\ 20 \quad [\alpha] \quad = -21,06^\circ; \\ 589\text{nm} \end{array}$$

- (iiiiii) den tautomere 4(3H)-oxo form deraf;

og

- 25 (iiiiiii) et farmaceutisk acceptabelt alkalimetal-, jordalkalimetal-, ikke-giftigt metal-, ammonium- eller substitueret ammoniumsalt deraf, som er i hovedsagen frit for det tilsvarende salt af den diastereoisomer, der har
- 30

$$\begin{array}{c} 25 \\ [\alpha] \quad = -21,06^\circ. \\ 589\text{nm} \end{array}$$

35

2. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den er den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)-ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

5

$$\begin{array}{c} 25 \\ [\alpha] \quad = -21,06^{\circ}, \\ 589\text{nm} \end{array}$$

10 og er i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{c} 25 \\ 15 \quad [\alpha] \quad = +31,09^{\circ}. \\ 589\text{nm} \end{array}$$

3. Forbindelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at den er den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$\begin{array}{c} 25 \\ 25 \quad [\alpha] \quad = +31,09^{\circ}, \\ 589\text{nm} \end{array}$$

og er i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

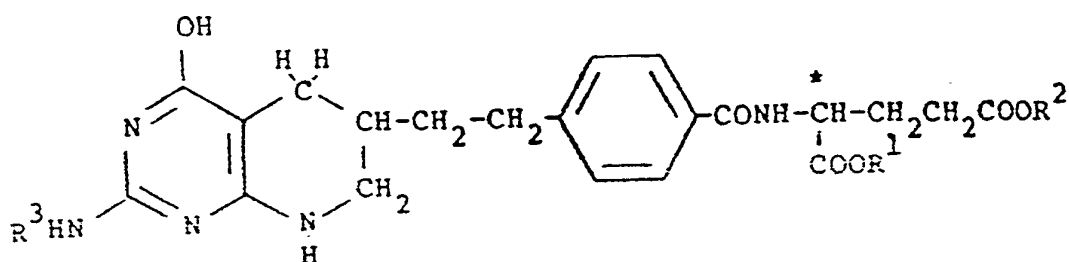
$$\begin{array}{c} 25 \\ 30 \quad [\alpha] \quad = -21,06^{\circ}. \\ 589\text{nm} \end{array}$$

35

4. Fremgangsmåde til adskillelse af diastereoisomere forbindelser, kendt ved, at man behandler en opløsning af en blanding af diastereoisomere forbindelser med formlen:

5

10



hvor

15 R^1 og R^2 er ens eller forskellige carboxylsyrebeskyttelsesgrupper;

R^3 er hydrogen eller en aminobeskyttelsesgruppe, og konfigurationen omkring det carbonatom, der er mærket * er L,

20

med en chiral syre, der er i stand til at danne salt med blandingen, adskille de resulterende to diastereoisomere salte af syren og forbindelsen, og derefter frigøre den kationiske del af mindst det ene af de adskilte salte som den fri base ved behandling med base og fjernelse af beskyttelsesgrupperne, idet frigørelsen udføres enten som et separat trin før eller efter fjernelse af beskyttelsesgrupperne, eller samtidig med fjernelsen til dannelselse af mindst én af

25

30 (i) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

25

35

$[\alpha] = -21,06^\circ,$

589nm

i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = +31,09^{\circ},$$

10

og

(ii) den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

15

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = +31,09^{\circ},$$

20

i hovedsagen fri for den diastereoisomer af N-(4-[2-(2-amino-4-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydropyrido[2,3-d]pyrimidin-6-yl)ethyl]benzoyl)-L-glutaminsyre, der har

25

$$[\alpha]_{589\text{nm}}^{25} = -21,06^{\circ}.$$