



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO

(21) Broj prijave:



HR P20000537A A2

HR P20000537A A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl. 7: C 07 C 255/00
C 07 D 207/02

(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 11.08.2000.
(43) Datum objave prijave patenta u HR: 31.10.2000.
(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US99/01689
Datum podnošenja međunarodne prijave: 27.01.1999.
(87) Broj međunarodne objave: WO 99/41230
Datum međunarodne objave: 19.08.1999.

(31) Broj prve prijave: 60/074,327; (32) Datum podnošenja prve prijave: 11.02.1998.; (33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(71) Podnositelj prijave:

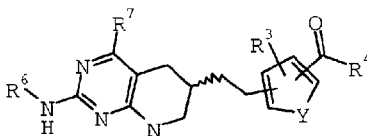
(72) Izumiteljji:

Eli Lilly and Company, Lilly Corporate Center, Indianapolis, IN, US
Charles Jackson Barnett, 7540 North Pennsylvania Street, Indianapolis,
46240 IN, US
Steven Eugene Dunlap, 9872 Logan Lane, Fishers, 46038 IN, US
Michael Edward Kobierski, 3969 Shadow Hill Court, Greenwood, 46142 IN,
US
John Arnold Werner, 806 Chapelwood Boulevard, Indianapolis, 46214 IN,
US
(74) Punomoćnik: Silvije HRASTE, ZAGREB, HR

(54) Naziv izuma:

POSTUPCI I MEĐUPRODUKTI KORISNI ZA PROIZVODNJU ANTIFOLATA

(57) Sažetak:



V;

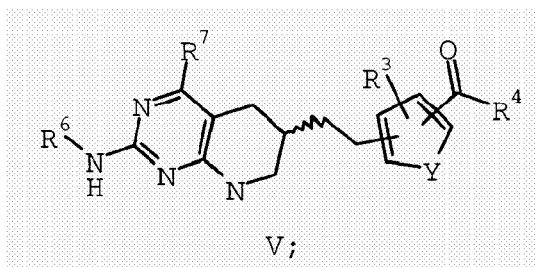
Ovaj izum se bavi međuproduktima, i postupcima usmjerenim prema i od tih spojeva, na seriju derivata pirimidina formule (V), koji su međuprodukti za korisne antifolatne spojeve ili su sami po sebi korisni antifolatni spojevi.

HR P20000537A A2

OPIS IZUMA

Ovaj izum se odnosi na sintetsku organsku kemiju. Specifično, izum se odnosi na postupak za pripravu međuprodukata korisnih u sintezi važnih antifolatnih spojeva.

Spojevi za koje se zna da imaju antifolatno djelovanje su priznati kao kemoterapijska sredstva za liječenje raka. Serija derivata N-(6-amino-(pirolo(2,3-*d*)pirimidin-3-ilacil)glutaminske kiseline formule V:



gdje

Y je CH=CH, O, ili S;

R³ je vodik, kloro, ili fluoro;

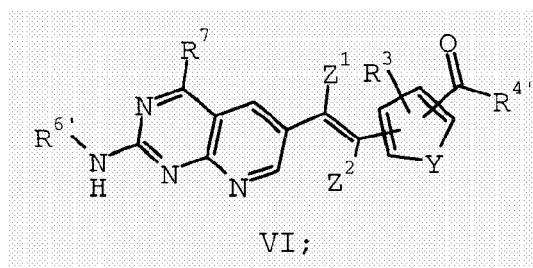
R⁴ je hidroksi, karboksi zaštitna skupina, ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i

R⁵ je vodik ili karboksi zaštitna skupina;

R⁶ je vodik ili amino zaštitna skupina;

R⁷ je hidroksi ili amino; i konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i njihove farmaceutske soli, su otkriveni kao antifolati ili međuprodukti do antifolata u US Patentima br. 4.684.653 i 4.882.334.

Ključni korak u sintezi spojeva formule V, otkrivenih u US '334 i '653, je hidrogenacija spojeva formule VI:

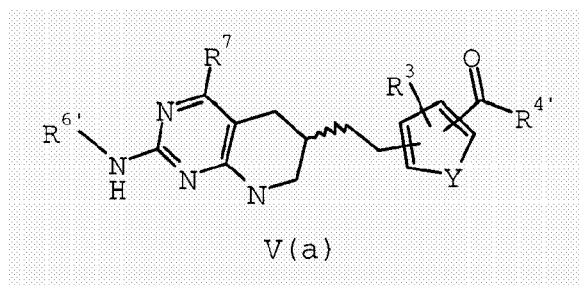


gdje Z¹ i Z² su oba vodik ili uzeti zajedno čine vezu; R^{4'} je karboksi zaštitna skupina ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵;

R⁵ je karboksi zaštitna skupina; i

R⁶ je amino zaštitna skupina;

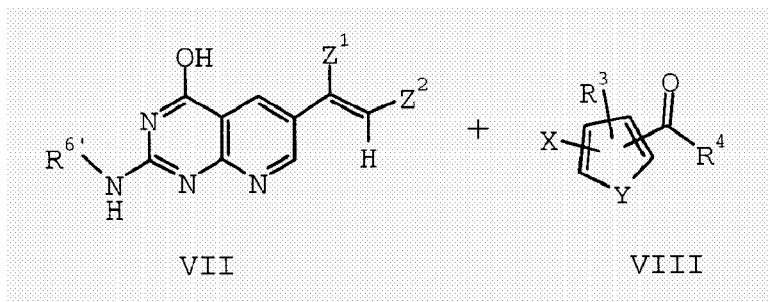
kojom nastaje smjesa izomera spojeva formule V(a):



Dobivenom spoju formule V(a) se mogu po potrebi ukloniti njegove zaštitne skupine, da nastane smjesa izomera spojeva formule V. US '334 i '653 dalje poučavaju da se pojedinačni diastereomeri formule V mogu odvojiti mehanički kromatografijom ili se poželjno pojedinačni diastereomeri mogu odvojiti stvaranjem diastereomernih soli s

kiralnim kiselinama, kao što je kamforsulfonska kiselina, nakon čega slijedi selektivna kristalizacija jednog od diastereomera.

US '334 i '653 poučavaju da se spojevi formule VI mogu dobiti najprije spajanjem spoja formule VII sa spojem formule VIII:

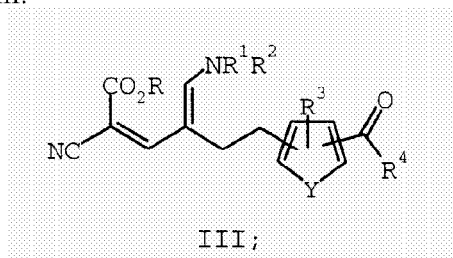


gdje X je bromo ili jodo; u prisutnosti katalizatora paladij/trisupstituirani fosfin, tipa onog koji je opisan od Sakamoto u *Synthesis*, 1983, 312 et. seq.

Sinteza skicirana iznad ima mnoge nedostatke. U industrijskom mjerilu, upotreba plemenitog metalnog katalizatora je skupa, dovodi do pitanja pročišćavanja i okoliša, i može biti nejednolična zbog varirajućih količina plemenitog metala koji je u ispravnom oksidacijskom stanju/kompleksiranom obliku za katalizu. Dalje, ako slijedi poželjan postupak odvajanja kristalizacijom opisan iznad, nakon izoliranja diastereomera filtracijom, filtrat će sadržavati smjese dvaju diastereomera. Ovaj filtrat često nije podložan daljnjem odvajanju kristalizacijom, i tako je smanjena efikasnost odvajanja, bez pribjegavanja neželjenom kromatografskom odvajanju. U određenim slučajevima, npr., gdje Y je S, R³ je vodik, R⁴ je NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, i R⁷ je hidroksi, čak do 80% željenog izomera (onoga s većom antifolatnom aktivnošću) se može pronaći u filtratu/frakcijama.

Poboljšanje u odnosu na ranije staje tehnike se ne bi oslanjalo na katalizu plemenitim metalom da se proizvedu spojevi formule VI, i povećalo bi apsolutne prinose željenog diastereomera formule VI kristalizacijom iz smjese koje sadržavaju oba diastereomera.

Ovaj izum se odnosi na spoj formule III:



gdje:

Y je CH=CH, O, ili S;

R je C₁-C₆ alkil;

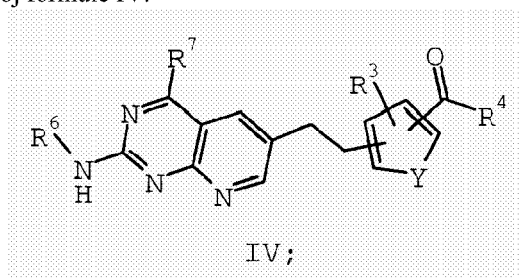
R¹ i R² su nezavisno C₁-C₆ alkil ili uzeti zajedno sa dušikom za koji su vezani formiraju heterocikl;

R³ je vodik, kloro, ili fluoro;

R⁴ je hidroksi, karboksi zaštitna skupina, ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i

R⁵ je vodik ili karboksi zaštitna skupina; ili njegovu sol ili solvat.

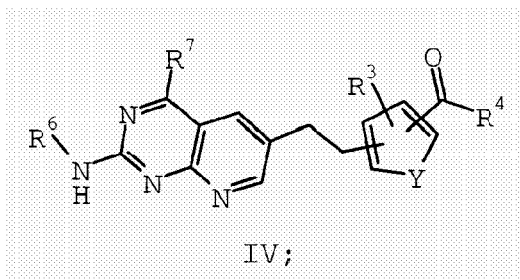
Ovaj izum se također odnosi na spoj formule IV:



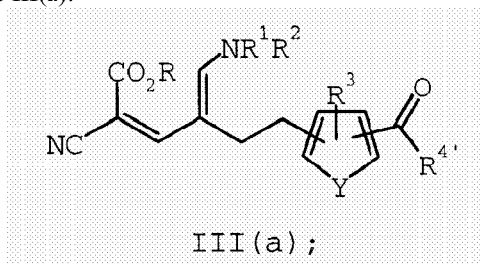
gdje:

R^6 je vodik ili amino zaštitna skupina; i
 R^7 je hidroksi ili amino; ili njegovu sol ili solvat.

Dalje, ovaj izum se odnosi na postupak za dobivanje spojeva formule IV:



koji uključuje reakciju spoja formule III(a):

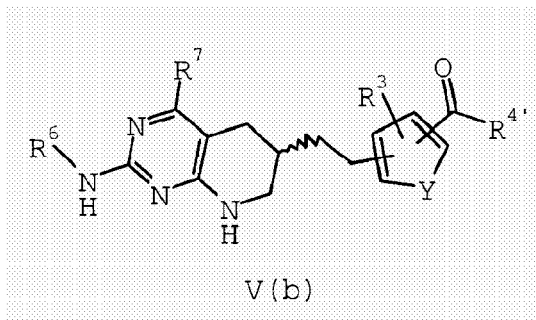


gdje:

- 10 $R^{4'}$ je karboksi zaštitna skupina ili $NHC^*H(C(O)R^{5'})CH_2CH_2C(O)R^{5'}$ gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i
 $R^{5'}$ je karboksi zaštitna skupina;

sa 2,4-diamino-6-hidroksipirimidinom u prisutnosti prikladne kiseline i otapala.

- 15 Dalje, izum se također odnosi na postupak za dobivanje spoja formule IV, ili njegove soli ili solvata, koji uključuje reakciju spoja formule V(b):



- 20 ili njegove soli ili solvata, s oksidirajućim sredstvom u prisutnosti prikladnog otapala.

Spojevi

- 25 U općim formulama u ovom dokumentu, općeniti kemijski termini imaju svoja uobičajena značenja. Na primjer, termin "C₁-C₄ alkil" se odnosi na metil, etil, propil, izopropil, ciklopropil, n-butil, s-butil, t-butil, i ciklobutil. Termin "C₁-C₆ alkil" obuhvaća one nabrojene za C₁-C₄ alkil, kao i alifatske, ravne, razgranate, ili cikličke, monovalentne skupine koje imaju pet ili šest ugljikovih atoma i uključuju, ali nisu ograničene na, pentil, ciklopentil, heksil, cikloheksil, 2-metilpentil, i slično. Termin "C₁-C₄ alkoksi" se odnosi na C₁-C₄ alkilnu skupinu vezanu preko atoma kisika.

- 30 Termin "halo" ili "halogenid" se odnosi na kloro, bromo, ili jodo.

Termin "heterocikl" se odnosi na 5 ili 6 člani zasićeni, djelomično nezasićeni, ili aromatski heterociklički prsten koji sadrži atom dušika i može po potrebi sadržavati dodatni heteroatom odabran od N, S, ili O.

- 35 Termin "karboksi zaštitna skupina" se odnosi na supstituent karbonila, koji se često upotrebljava da blokira ili zaštiti karboksi funkcionalnu skupinu dok se izvode reakcije na ostalim skupinama na spoju. Ovaj supstituent, kad se uzme s

karbonilom za koji je vezan, može formirati ester, npr., C₁-C₆ alkil, supstituirani C₁-C₆ alkil, C₂-C₆ alkenil, supstituirani C₂-C₆ alkenil, benzil, supstituirani benzil, benzhidril, supstituirani benzhidril, tritil, supstituirani tritil, i trialkilsilil ester. Točna vrsta karboksilne skupine nije presudna sve dok je derivatizirana karboksilna skupina stabilna na uvjete subsekvencijalnih reakcija(a) i može se ukloniti u prikladnom stupnju bez razbijanja ostatka molekule. Kad R⁴ sadrži karboksilnu zaštitnu skupinu, zaštitna skupina je poželjno C₁-C₄ alkoksi ili benziloksi. Najpoželjnije zaštitne skupine su metoksi, etoksi, i benziloksi. Karboksilna zaštitna skupina "koja se može ukloniti katalitičkom hidrogenacijom" uključuje, na primjer, benzil zaštitne skupine. Drugi primjeri tih skupina su opisani u T. W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons, New York, N.Y., (2nd ed., 1991), (dalje u tekstu označenu kao *Greene*), poglavlje 5.

Termin "C₂-C₆ alkenil" se odnosi na mono-nezasićenu, monovalentnu, ugljikovodičnu skupinu koja sadrži od 2 do 6 ugljikovih atoma koji mogu biti u konfiguraciji ravnog ili razgranatog lanca. Termin je tumačen skupinama kao što su, ali ne ograničeno na, etilenil, propilenil, alil, butilenil, i pentilenil.

Termini "supstituirani C₁-C₆ alkil" i "supstituirani C₂-C₆ alkenil" se odnose na C₁-C₆ alkil i C₂-C₆ alkenil skupinu pojedinačno, supstituiranu od 1 do 3 puta nezavisno sa halo, fenil, tri(C₁-C₄ alkil)silil, ili supstituiranom fenilsulfonil skupinom.

Termini "supstituirani benzil", "supstituirani benzhidril", i "supstituirani tritil" se odnose na benzil, benzhidril, i tritil skupinu, pojedinačno, supstituiranu od 1 do 5 puta nezavisno sa nitro, C₁-C₄ alkoksi, C₁-C₆ alkil, ili hidroksi(C₁-C₆ alkil) skupnom. Te supstitucije će postojati samo na sterički moguć način tako da skupina bude kemijski stabilna.

Termin "trialkilsilil" se odnosi na monovalentnu silil skupinu supstituiranu od 1 do 3 puta nezavisno sa C₁-C₆ alkil skupinom.

Termin "supstituirani fenilsulfonil" se odnosi na fenilsulfonil skupinu u kojoj je fenil skupina para supstituirana sa C₁-C₆ alkil, nitro, ili halo skupinom.

Termin "amino zaštitna skupina", kako je upotrijebljen u opisu, odnosi se na supstituent amino skupine koji se obično upotrebljava da blokira ili zaštiti amino funkcionalnu skupinu dok reagiraju ostale funkcionalne skupine na spoju. Amino zaštitna skupina, kad se uzme sa dušikom za koji je vezana, može formirati ciklički imid, npr., ftalimido i tetraklorftalimido; karbamat, npr., metil, etil, i 9-fluorenilmethylkarbamat; ili amid, npr., N-formil i N-acetilamid. Točan rod i vrsta upotrijebljene amino zaštitne skupine nije presudna, sve dok je derivatizirana amino skupina stabilna u uvjetima subsekvencijalnih reakcija(a) na drugim položajima molekula međuprodukata i može se selektivno ukloniti u prikladnom stupnju, bez razbijanja ostatka molekule uključujući bilo koju drugu amino zaštitnu skupinu(e). Općenito, poželjne su amino zaštitne skupine koje se uklanjaju kiselom hidrolizom, tj., one koje su nestabilne uz kiseline. Dakle, poželjna amino zaštitna skupina je 2,2-dimetil-1-oksopropil. Daljnji primjeri skupina i postupaka na koje se poziva gornjim terminima, su opisani u *Greene* u poglavlju 7.

Termin "farmaceutska sol" i "sol", kako su ovdje upotrijebljeni, se odnose na soli pripravljene reakcijom spojeva iz ovog izuma s mineralnom ili organskom kiselinom (npr., kloridnom, bromidnom, jodidnom, ili p-toluensulfonskom kiselinom) ili anorganskom bazom (npr., natrij, kalij, litij, i magnezij hidroksidom, karbonatom, ili bikarbonatom). Takve soli su poznate kao kisele adicijske ili bazične adicijske soli. Za daljnje tumačenje tih soli, vidi, npr., Berge, S.M., Bighley, L.D., i Monkhouse, D.C., *J. Pharm. Sci.*, 66, 1, 1977.

Termin "solvat" predstavlja agregat koji sadrži jednu ili više molekula otopljenih tvari, kao npr. spoja formule III ili IV, s jednom ili više molekula otapala.

Reagensi

Termin "prikladno otapalo" se odnosi na bilo koje otapalo, ili smjesu otapala, inertno prema reakciji koja se odvija, koje dovoljno solubilizira reaktante da stvori medij unutar kojeg se događa željena reakcija.

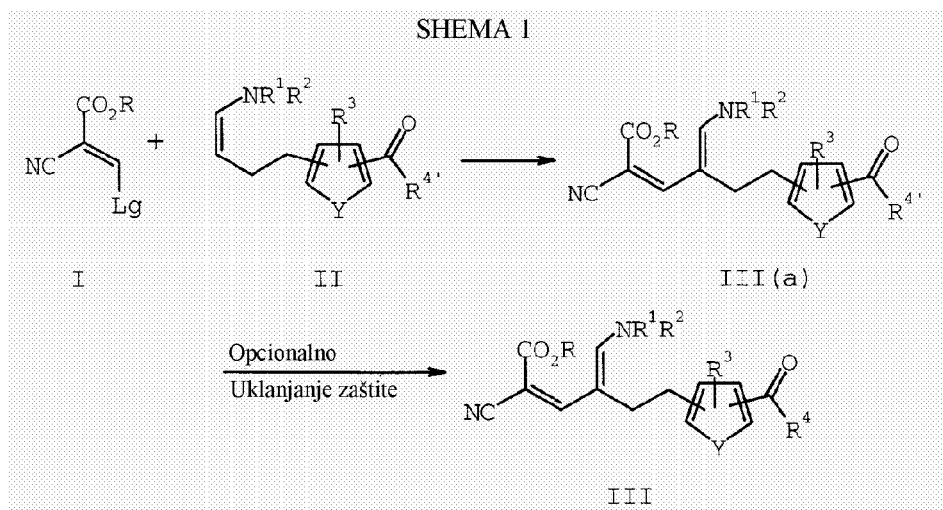
Termin "prikladna kiselina" se odnosi na kiselinu čija K_a je dovoljno niska da provede željenu reakciju bez da značajno utječe na bilo koju neželjenu reakciju.

Termin "oksidirajući reagens" se odnosi na reagens čiji oksidacijski potencijal je dovoljno visok da provede željenu reakciju bez da značajno utječe na bilo koju neželjenu reakciju. Prikladni oksidansi uključuju metale kao što je nikal, paladij, platina, i slično; adsorbirane metale na krutini kao što je paladij ili platina na ugljiku, i slično; metalne komplekse kao što je živa(II), mangan dioksid, ili bakar(II) acetat, i oksidanse na bazi benzokinona kao što je 2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon (DDQ) i tetraklor-1,4-benzokinon (kloranil), i slično.

Termin "termodinamička baza" se odnosi na bazu koja omogućava reverzibilno deprotoniranje kiselog supstrata, ili je klopka za proton za one protone koji se mogu proizvesti kao nus-produkti reakcije, i dovoljno je reaktivna da izvrši željenu reakciju bez da značajno utječe na bilo koju neželjenu reakciju. Primjeri termodinamičkih baza uključuju, ali nisu ograničeni na, acetate, acetat dihidrate, karbonate, bikarbonate, C₁-C₄ alkoksidi, i hidroksidi (npr. litij, natrij, ili kalij acetat, acetat dihidrat, karbonat, bikarbonat, C₁-C₄ alkoksid, ili hidroksid), tri-(C₁-C₄ alkil)amine, ili aromatske heterocikle koji sadržavaju dušik (npr., imidazol i piridin).

Sinteza

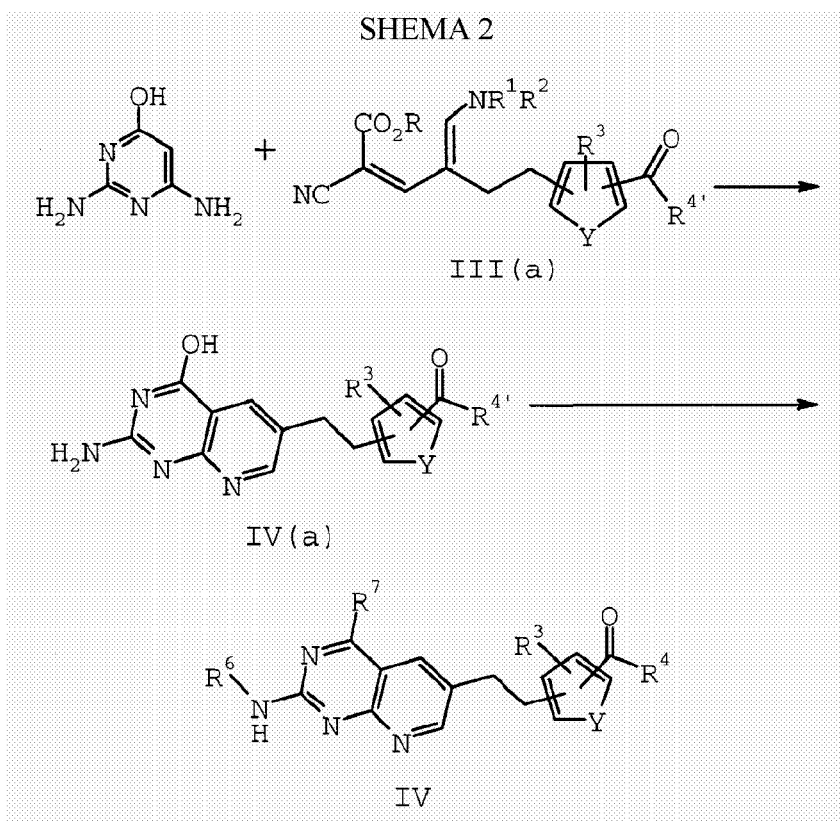
- 10 Spojevi formule III s mogu pripremiti iz spojeva formule I i II kako je prikazano u shemi 1 ispod, gdje Lg je kloro, bromo, jodo, OSO₂Me, OSO₂-fenil, ili OSO₂-p-toluenil i R, R¹, R², R³, R⁴, R^{4'}, i Y su kako je definirano iznad.



- 15 Spojevi formule I se mogu dodati spojevima formule II otopljenima ili suspendiranim u prikladnom otapalu, u prisutnosti termodinamičke baze, da se dobiju spojevi formule III(a). Poželjno i prikladno otapalo je diklormetan. Poželjna i prikladna baza je trietilamin. Poželjno se upotrebljava jedan ekvivalent baze i spoja formule I, u odnosu na spoj formule II, ali se može tolerirati mali suvišak reda veličine 0,01 do 0,1 ekvivalent. Reakcija se može izvesti između -78 °C i sobne temperature, ali se poželjno izvodi između -25 °C i -20 °C. Reakcija tipično završava nakon 30 minuta do 18 sati, ali kad se izvodi na poželjnoj temperaturi, završava nakon 1 do 3 sata. Poželjni halogenid u spojevima
- 20 formule I je klorid. R je poželjno C₁-C₄ alkil, naročito metil ili etil. R¹ i R² su poželjno C₁-C₄ alkil, ali je naročito poželjno kad su oba ili metil ili etil. Poželjno je da je R^{4'} karboksi zaštitna skupina, gdje je ta zaštitna skupina C₁-C₄ alkoksi, naročito metoksi ili etoksi, ili skupina koja se može ukloniti katalitičkom hidrogenacijom, npr., benziloksi (kao u shemi 3 niže). U ovom opisu, R³ je poželjno vodik i Y je poželjno CH=CH ili S.

Iako se dobivenom spoju formule III(a) može ukloniti njegova karboksi zaštitna skupina kako je opisano u *Greene*, za svrhe provođenja ukupnog postupka iz shema m1-3, karboksi zaštitna skupina se poželjno ostavlja netaknutom kad se napreduje na reakciju(e) iz sheme 2.

- 30 Spojevi formule IV se mogu pripremiti iz spojeva formule III(a) novim postupkom ilustriranim u shemi 2 niže, gdje R, R¹, R², R³, R⁴, R^{4'}, R⁶, R⁷, i Y su kako je definirano iznad.

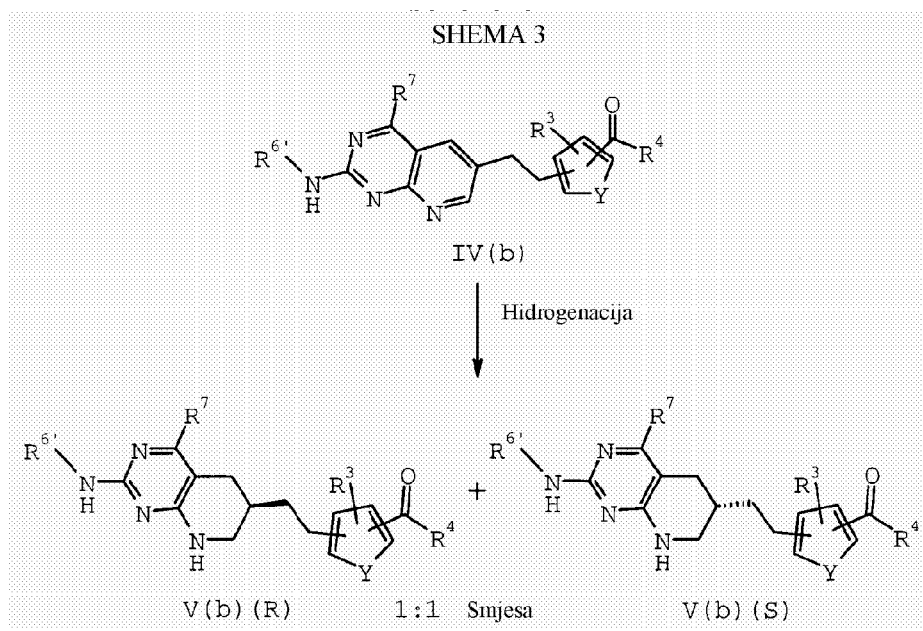


Tautomerna smjesa 2,4-diamino-6-hidroksipirimidina ili 2,4-diaminopirimidin-6-ona (dalje u tekstu označen kao 2,4-diamino-6-hidroksipirimidin) se može dodati spoju formule III(a), otopljenom ili suspendiranom u prikladnom otapalu, u prisutnosti prikladne kiseline, da se dobiju spojevi formule IV(a). Prikladno i poželjno otapalo je približno 1:1 (v:v) smjesa acetonitrila i vode. Omjer acetonitrila prema vodi nije presudan, ali je poželjno da omjer može formirati otopinu u kojoj su reaktanti svi na početku spojeni. Prikladna i poželjna kiselina je octena kiselina. Kiselina se tipično upotrebljava u molarnom suvišku. Na primjer, općenito se upotrebljava oko 2 do oko 4 ekvivalenta, u odnosu na spoj formule III(a), dok su tipično poželjna 3 ekvivalenta. Broj ekvivalenata 2,4-diamino-6-hidroksipirimidina u odnosu na spoj formule III(a) nije presudan, ali poželjno je oko 1 do oko 2 ekvivalenta. Još poželjnija količina je oko 1 do oko 1,5, a najpoželjnija oko 1 do oko 1,1 ekvivalent. Reakcija se može izvesti na temperaturama u opsegu od sobne temperature do temperature refluksa smjese. Dalje, reakcija može trajati od 12 do oko 48 sati, ovisno o temperaturi reakcije. Kad e reakcija izvodi na temperaturi refluksa smjese, tipično je potpuno dovršena nakon oko 18 sati. R je poželjno C₁-C₄ alkil, naročito metil ili etil. R¹ i R² su poželjno C₁-C₄ alkil, ali je naročito poželjno kad su oba ili metil ili etil. R³ je poželjno vodik. Kako je ranije naznačeno, poželjno je da je R⁴ karboksi zaštitna skupina, gdje je ta zaštitna skupina C₁-C₄ alkoksi skupina, naročito metoksi ili etoksi, ili skupina koja se može ukloniti katalitičkom hidrogenacijom (kao u shemi 3).

Spojevi formule IV u kojima R⁷ je amino skupina se mogu pripremiti iz spojeva formule IV(a), kako je opisano u US Patentu br. 4.882.334, prethodno uklopljenom po referenci, ali je poželjno da R⁷ bude hidroksi.

Spojevi formule IV u kojima R⁶ je amino zaštitna skupina se mogu pripremiti iz spojeva formule IV(a), kako je opisano u *Greene* ili kako je prodiskutirano u pripravi 8 niže. Dalje, potrebno je da amino zaštitna skupina, poželjno skupina koja se može ukloniti kiselim hidrolizom kao u shemi 5 niže, npr., 2,2-dimetil-1-oksopropil, bude prisutna na R⁶ ili da amino skupina bude protonirana prije prelaska na hidrogenaciju opisanu u shemi 3 niže. Osim toga, iako spojevima formule IV(a) mogu njihove zaštitne skupine biti uklonjene kako je opisano u *Greene*, za svrhe provođenja ukupnog postupka iz shema 2-3, poželjno je da karboksi zaštitne skupine ostanu netaknute kad se prelazi na reakciju iz sheme 3.

Izomerna smjesa spojeva formule V(b) se može pripremiti iz spojeva formule IV(b) kako je ilustrirano u shemi 3 niže, gdje R³, R⁴, R⁶, R⁷, i Y su kako je definirano iznad.



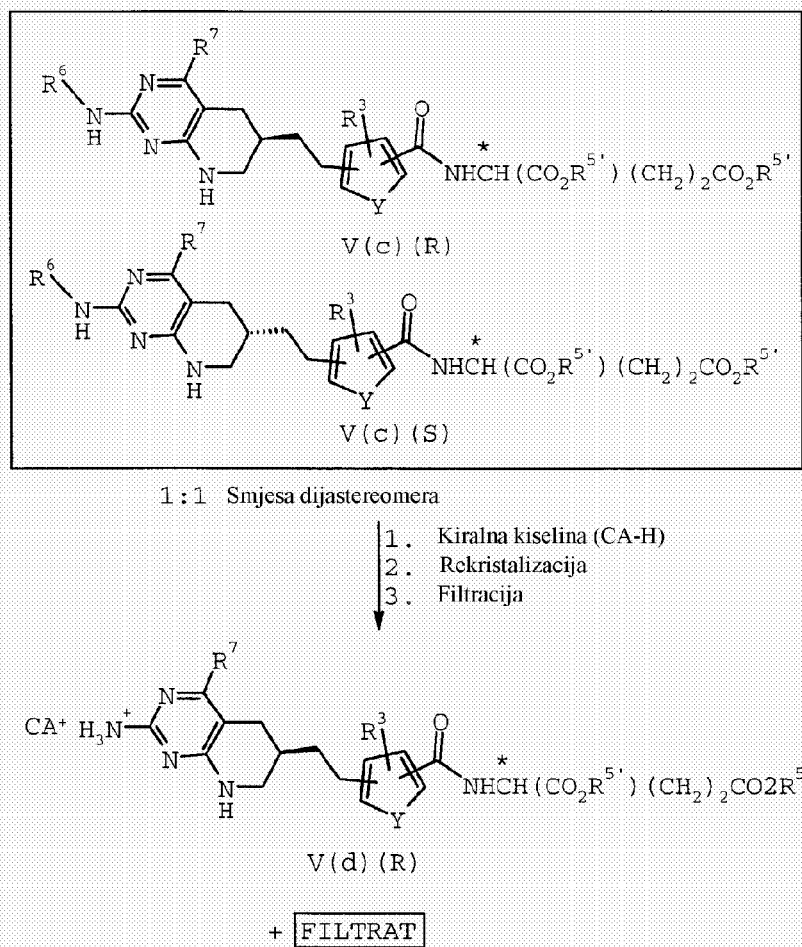
Spojevi formule IV(b), pripremljeni kako je opisano u shemama 1 i 2, se mogu hidrogenirati uglavnom kako je opisano u US Patentima br. 4.684.653 i 4.882.334, čije su spoznaje ovdje uklopljene po referenci. Za lakše snalaženje po referencama, spojevi formule IV(b) iz ovog izuma odgovaraju spojevima formule III iz US '653 i spojevima formule II iz US '334. Poželjno je da se amino zaštitna skupina ne uklanja prema *Greene*, nego ostavi netaknuta kad se nastavlja sa postupcima odvajanja opisanim u shemama 4 i 5 niže.

Ako se postupak iz sheme 3 izvodi sa spojevima formule IV(b) sa poželjnom skupinom na R^4 , tj., karboksi zaštitnom skupinom, i ta karboksi zaštitna skupina se može ukloniti katalitičkom hidrogenacijom, onda će ta zaštitna skupina biti uklonjena hidrogenacijskim uvjetima u reakciji iz sheme 3. To uklanjanje, čime nastaju spojevi formule V(b) u kojima R^4 je hidroksi, olakšava umetanje R^4 skupine koja se nalazi u antifolatnim konačnim produktima, tj., kiralne glutaminske kiseline, o čemu slijedi diskusija.

Spojevi formule V koji posjeduju antifolatu aktivnost, su oni u kojima R^4 je $\text{NHC}^*\text{H}(\text{C}(\text{O})\text{R}^5)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^5$ i R^6 je vodik (dalje u tekstu naznačeni kao "konačni produkti"), i prema tome, ti spojevi su poželjni. Iako se glutamatni postranični lanac može umetnuti u bilo kojem stupnju ukupnog postupka iz ovog izuma, kad se postupci iz shema 1, 2, 3 izvode u slijedu, s poželjnim skupinama naznačenim iznad, poželjno vrijeme za umetanje glutamatnog ostatka je nakon izvođenja hidrogenacije opisane u shemi 3. To se postiže spajanjem spoja formule V ili V(b) gdje R^4 je hidroksi, sa karboksi zaštićenim derivatom glutaminske kiseline formule $\text{H}_2\text{NC}^*\text{H}(\text{C}(\text{O})\text{R}^5)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^5$, na način općenito opisan u PCT prijavi WO 86/05181, upotrebom konvencionalnih tehnika za stvaranje peptidnih veza. Te tehnike uključuju aktivaciju karboksne skupine preko formiranja miješanog anhidrida ili kislinskog klorida, obrađivanjem sa dicikloheksilkarbodiimidom, ili upotrebom difenilklorfosfonata. Za daljnje instrukcije o općim postupcima stvaranja te amidne veze, vidi, npr., Bodanszky, M., *Principles of Peptide Synthesis*, 2nd Ed., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1993. Poželjno je da bude prisutan glutamatni postranični lanac i obje karboksne zaštitne skupine, npr., C_1 - C_6 alkoksi, kad se izvode postupci iz shema 4 i 5. Sve diskusije i strukture koje vezane uz sheme 4 i 5 niže, odnose se na situaciju kad su prisutni poželjni supstituenti na R^4 , ali ti supstituenti nisu neophodni da bi se postupci iz shema 4 i 5 mogli odvijati.

Od konačnih produkata spojeva formule V, poželjni su spojevi formule V(c)(R), prikazani niže, zbog njihove pojačane antifoladne aktivnosti u odnosu na spojeve formule V(c)(S). Ti pojedinačni diastereomerni konačni produkti, pripremljeni kako je opisano iznad ili u US Patentima br. 4.684.653 i 4.882.334, prethodno uklopljenim po referenci, se mogu odvojiti kako je opisano u tim patentima, tj., kromatografijom ili poželjno prekrizalizacijom. Na primjer, može se upotrijebiti odgovarajuće odabrana kiralna kiselina, da načini smjesu diastereomernih soli koja je više podložna selektivnoj prekrizalizaciji jednog diastereomera, kako je prikazano u shemi 4 niže, gdje R^3 , R^5 , R^6 , R^7 , i Y su kako je definirano iznad.

SHEMA 4



Da bi se provelo odjeljivanje iz sheme 4, potrebno je da R^6 u spojevima formule $V(c)$ bude vodik. Ako se postupak iz sheme 4 izvodi sa poželjnom skupinom na R^6 , tj., zaštitnom skupinom koja se može ukloniti kiselim hidrolizom kao npr. 2,2-dimetil-1-oksopropil, onda će ta skupina biti uklonjena dodatkom kiralne kiseline i poseban korak za uklanjanje neće biti potreban. Dakle, spojevi formule $V(c)$ u kojima R^6 je vodik ne moraju nužno biti pripremljeni u odvojenom koraku prije nego se prijeđe na postupak odvajanja iz sheme 4. Eliminacija zahtjeva za tim dodatnim korakom je razlog zašto su poželjne amino zaštitne skupine koje su nestabilne u kiseline.

Prvi korak u shemi 4 je dodavanje kiralne kiseline smjesi spojeva formule $V(c)$ otopljenih ili suspendiranih u prikladnom otapalu. Ovim dodavanjem se vrše dvije funkcije: kiralna kiselina uklanja amino zaštitnu skupinu na R^6 i formira diastereomernu kiselu adicijsku sol spoja formule $V(d)$. Kad Y je $CH=CH$, poželjna kiselina za tu svrhu je (1*S*)-(+)-kamforsulfonska kiselina. Kad Y je O ili S , poželjna kiselina je (1*R*)-(-)-kamforsulfonska kiselina. Poželjno otapalo za uklanjanje zaštitne skupine i formiranje soli je niži alkohol, poželjno etanol.

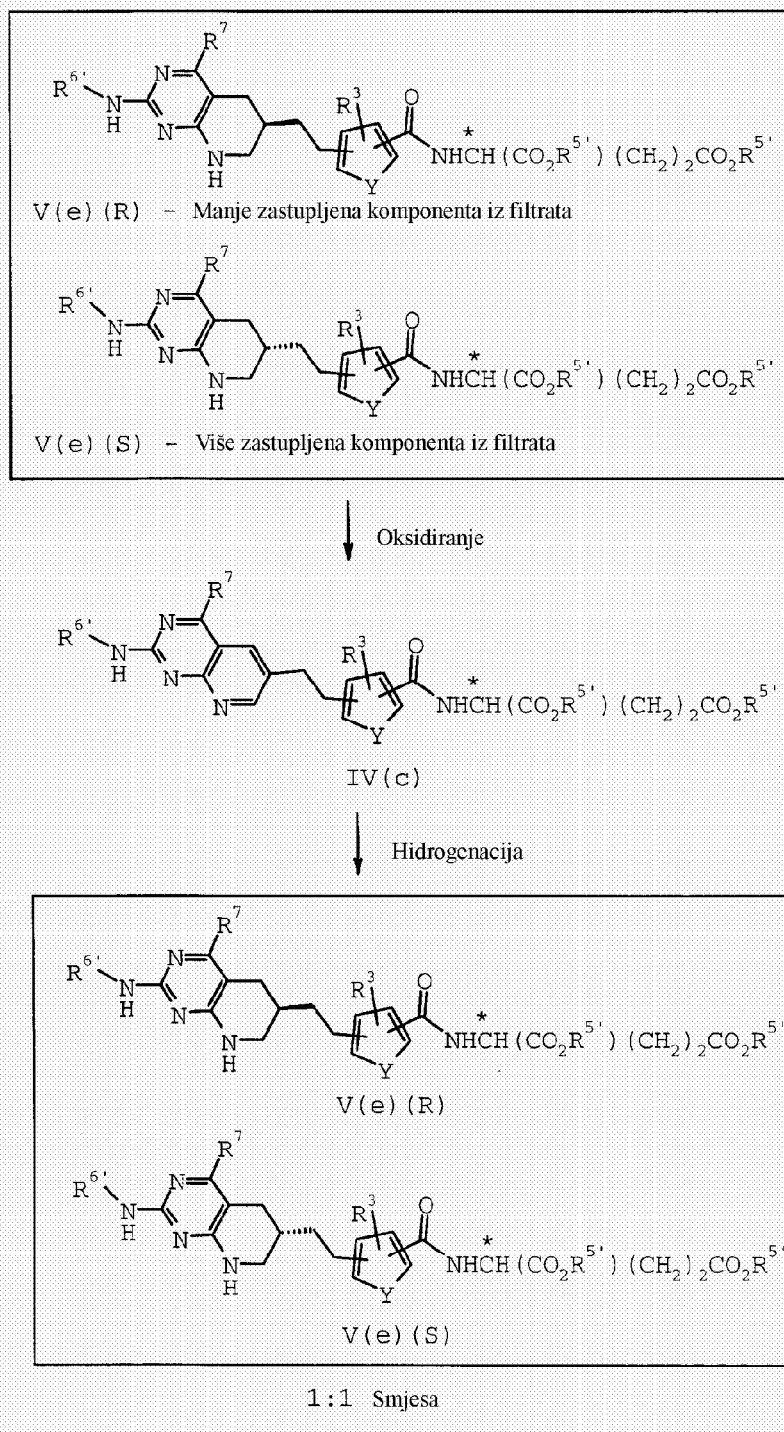
Kad je sol formirana, odvajanje ili prekrizalizacija iz koraka 2 se izvodi suspendiranjem spojeva formule $V(d)$ u prikladnom otapalu, zagrijavanjem smjese dok ne nastane otopina, i zatim ostavljanjem otopine da se ohladi, kako bi se istaložio željeni izomer. Važni parametri kod kiralnog odvajanja općenito, i kad se specifično odvajaju spojevi formule $V(d)$, su sustav otapala, brzina miješanja, i temperatura. Poželjni sustavi otapala su smjese nižeg alkohola, poželjno etanola, i vode. Omjer etanola prema vodi, po volumenu, može biti od oko 0,33 do oko 3 prema 1, ali poželjna je 1:1 smjesa. Omjer otapala prema otopljenoj tvari bi trebao biti oko 10 do oko 20 prema 1, ali poželjan omjer je oko 15 prema 1. Brzina miješanja za vrijeme kristalizacije može imati znatan učinak na odvajanje. Poželjno je, kad su soli formirane i otopljene zagrijavanjem u kristalizacijskom otapalu, da se uzorci ne miješaju dok se hlade. Temperatura također može imati učinak na odvajanje. Kontinuirano hlađenje ispod sobne temperature može povećati prinos produkta, ali uz cijenu efikasnosti odvajanja. Poželjno je ostaviti da se kristalizacija odvija pri temperaturi između oko 20 °C i 34 °C, s tim da je sobna temperatura (oko 22 °C) najpoželjnija.

Da bi se izbjegla hidroliza estera na glutamatnom ostatku u vodenim kiselim uvjetima odvajanja, poželjno se upotrebljava pufer kao npr. natrij acetat. Poželjno se dodaje količina natrij acetata približno ekvivalentna suvišku kiseline nakon što je solvoliza amino zaštitne skupine dovršena.

- 5 Filtrat proizveden u shemi 4 će sadržavati smjesu diastereomernih soli formule V(d). Ta smjesa je obogaćena diastereomerom formule V(d)(S), tj., kiselom adicijskom soli V(d)(S), koja se nije kristalizirala. Ta obogaćena smjesa obično nije podložna daljnjem odvajanju kristalizacijom. Dakle, velika većina željenog izomera se zasada ne može dobiti daljnjom kristalizacijom. Shema 5 niže, gdje R^3 , R^4 , R^6 , R^7 , i Y su kako je definirano iznad, ilustrira još jedan novi postupak za dobivanje spojeva formule IV, koji olakšava daljnje odvajanje te smjese kristalizacijom.

10

SHEMA 5



Ako se postupak iz sheme 5 treba izvoditi upotrebom sastojaka filtrata iz sheme 4 kao izvora početnih materijala, poželjno je da se najprije ekstrahiraju spojevi formule V(c) slobodne baze iz te smjese. To se lako postiže razrjeđivanjem smjese s organskim otapalom koje se ne miješa s vodom, i obrađivanjem smjese sa slabom bazom otopljenom u vodi, kao što je otopina natrij bikarbonata u vodi. Diklormetan i vodeni natrij bikarbonat su poželjni reagensi za tu svrhu. Na primjer, obrađivanjem filtrata sa diklormetanom (oko 0,33 mL/g filtrata) i oko 2 ekvivalenta 1M vodenog natrij bikarbonata, oko 30 minuta na sobnoj temperaturi, će nastati dvije bistro, lako odjeljive faze. Organska faza se odvoji i poželjno osuši s uobičajenim sredstvom ili sredstvima za sušenje prije nastavljanja. ispiranje koje slijedi, sa slanom vodom i 1M vodenim natrij bikarbonatom, je poželjan postupak sušenja.

Kad se izvede postupak ekstrakcije, amino zaštitna skupina se ponovno mora ugraditi na R⁶ ili se ta amino skupina mora protonirati prije izvođenja postupka ilustriranog u shemi 5. Ponovno zaštićivanje je poželjno i može se postići kako je opisano u *Greene* citiranjem iznad ili kako je prodiskutirano u pripravi 9 niže. Poželjno je da se amino zaštitna skupina može ukloniti kiselim hidrolizom, npr., 2,2-dimetil-1-oksopropil zaštitna skupina. Dobiveni spojevi formule V(e) se zatim odvajaju kako slijedi.

Pojedinačni diastereomeri ili smjese bilo kojeg omjera spojeva formule V(c) se mogu otopiti ili suspendirati u prikladnom otapalu i dodaje se oksidirajući reagens da nastanu spojevi formule IV(b). Izbor otapala, temperature reakcije, i vremena će općenito ovisiti o upotrijebljenom oksidirajućem reagensu.

DDQ je poželjno oksidirajuće sredstvo. Kad se DDQ ili kloranil upotrebljava kao oksidirajuće sredstvo, prikladni su ugljikovodici kao npr. pentan, heksan, toluen, i slično; niži alkoholi kao npr. metanol, etanol, izopropanol, i slično; ili klorirani ugljikovodici kao npr. kloroform, diklormetan, i slično. Poželjni su klorirani ugljikovodici, naročito diklormetan. Kad se oksidacija provodi u poželjnim uvjetima na poželjnim spojevima formule V(c), kromatografija za pročišćavanje dobivenih spojeva formule IV(b) općenito nije potrebna. Vidi, npr., primjer 6 niže.

Reakcija se tipično ostavi da napreduje pri temperaturama između 0 °C i 200 °C od oko 30 minuta do oko 24 sata. Reakcija se poželjno izvodi pri temperaturama između 15 °C do 80 °C. Još poželjnije je kad se reakcija izvodi između 20 °C do 40 °C, i najpoželjnije je kad se reakcija izvodi na sobnoj temperaturi od 20 minuta do 1 sat.

Količina oksidirajućeg reagensa će varirati ovisno o tome koji oksidans se upotrebljava, ali općenito će se kretati od oko 0,1 ekvivalent do oko 5 ekvivalenta u odnosu na spoj formule V(e). Kad se upotrebljava DDQ, poželjno je oko 1,1 do oko 3 ekvivalenta. Još poželjnije je od 1,8 do oko 2,2 ekvivalenta, a najpoželjnije je od 1,9 do oko 2,1 ekvivalenta.

Karboksi i/ili amino zaštitne skupine u spojevima formule IV(b) se poželjno ne uklanjaju prema *Greene*. Umjesto toga, poželjan smjer djelovanja je reduciranje spojeva formule IV(b) nazad do 50:50 diastereomerne smjese spojeva formule V(e), da bi se provelo odvajanje kiralnom kiselinom opisano u shemi 4.

Hidrogenacija se može izvesti otapanjem ili suspendiranjem spoja formule IV(b) u prikladnom otapalu, u prisutnosti hidrogenacijskog katalizatora, i izlaganjem smjese atmosferi vodika. Prikladan i poželjno otapalo je oko 4:1 smjesa, po volumenu, tetrahidrofurana i etanola. Prikladan i poželjan hidrogenacijski katalizator je 5%-tni paladij na ugljiku. Katalizator se tipično upotrebljava, u odnosu prema masi spojeva formule IV(b), u rasponu od oko 20% do oko 75%, s tim da je poželjno oko 25%. Tipično je poželjno stvoriti atmosferu vodika u kojoj je tlak vodika jednak ili veći od atmosferskog tlaka. Tipičan raspon tlaka je od oko atmosferskog do oko 6,89 bar vodika. Poželjnija je atmosfera vodika između 2,76 bar i oko 4,13 bar, s tim da je 3,45 bar najpoželjnije. Reakcija se može izvesti na temperaturama koje se kreću od sobne do oko temperature refluksa smjese. Pri 3,45 bar vodika, poželjna temperatura reakcije je oko 100 °C, i reakcija je tipično potpuno dovršena u manje od 4 sata.

Kad je 1:1 smjesa spojeva formule V(e) stvorena kako je opisano u shemi 5, ona je dalje podložna odvajanju kako je prodiskutirano u shemi 4 iznad. Ovaj ciklus se može ponoviti koliko god puta to izvođač želi, da bi se maksimizirao prinos diastereomera formule V(d)(R).

2,4-diamino-6-hidroksipirimidin, zaštićene glutaminske kiseline formule H₂NC*H(C(O)R^{5'})CH₂CH₂C(O)R^{5'} i spojevi formule I i II su poznati u struci, i zasada nisu komercijalno dostupni, nego se lako sintetiziraju standardnim postupcima obično upotrijebljenim u struci. Na primjer, vidi pripreme 1-6 niže.

Optimalno vrijeme za izvođenje reakcija iz shema 1-5 se može odrediti praćenjem napredovanja reakcije konvencionalnim kromatografskim tehnikama. Izbor otapala općenito nije presudan sve dok je upotrijebljeno otapalo inertno prema reakciji koja se odvija i dovoljno solubilizira reaktante da pruži medij unutar kojeg se događa željena reakcija. Ako nije drukčije naznačeno, sve reakcije ovdje opisane se provode pod inertnom atmosferom. Poželjna inertna atmosfera je dušik.

Sljedeće pripreve i primjeri su samo ilustrativni i nisu namijenjeni ograničavanju opsega izuma ni na koji način. Termin i skraćnice upotrijebljeni u sljedećim primjerima imaju svoja normalna značenja, ako nije drugačije naznačeno. Na primjer, "°C", "N", "mmol", "g", "mg", "d.e.", "mL", "M", "HPLC", "mp", "EA", "MS(FD)", "MS(HR)", "IR", i "¹H-NMR", znače stupanj Celzsius, normalan ili normalnost, milimol, gram, miligram, 5 diastereomerni suvišak, mililitar, molarni ili molarnost, visokotlačna tekućinska kromatografija, talište, elementarna analiza, masena spektrometrija desorpcijom polja, masena spektrometrija visoke rezolucije, infracrvena spektroskopija, i protonska nuklearna magnetska rezonancija, pojedinačno. Dodatno, apsorpcijski maksimumi nabrojani za IR spektre su samo oni od interesa, a ne svi primijećeni maksimumi.

10 Priprava 1

5-(3-[1,3-dioksolan-2-il]propil)-2-tiofen karboksilna kiselina

Otopini 64,8 g (640 mmol, 83,9 mL) diizopropil amina u 400 mL tetrahidrofurana, koja je prethodno bila ohlađena do -15 °C se dodaje 400 mL (640 mmol) 1,6N n-butilitija u heksanu kap po kap tijekom 25 minuta, održavajući 15 temperaturu reakcije ispod -5 °C. Nakon 15 minuta miješanja, dodaje se otopina 5-metil-2-tiofenkarboksilne kiseline (41,4 g, 291 mmol) u 150 mL tetrahidrofurana kap po kap tijekom 30 minuta, ponovno uz održavanje temperature ispod -5 °C. Dobivena tamno zelena dianionska otopina se miješa pri -15 °C do -10 °C 90 minuta. Ovoj otopini se dodaje 2-(2-brometil)-1,3-dioksolan (57,9 g, 320 mmol) kap po kap tijekom 15 minuta i grimizno-obojena otopina se miješa 3 sata pri -10 °C do -5 °C. HPLC analiza (30% acetonitril/70% 1%-tna vodena otopina octene kiseline, 2 mL/min, 30 cm 20 C-18 stupac, λ = 280 nm) u tom vremenu je pokazala 9,0% 5-metil-2-tiofenkarboksilne kiseline i 88,5% naslovnog spoja. Reakcija se prekine sa 600 mL vode i zakiseli do pH 3 sa 6N kloridnom kiselinom. Žuta smjesa se ekstrahira tri puta sa 500 mL t-butilmetil etera i sjedinjeni organski ekstrakt se osuši iznad magnezij sulfata, filtrira, i koncentrira. Sirovi produkt se triturira sa 300 mL heptana i krutina se filtrira, ispere sa heptanom, i isušuje na filtru, da nastane 58,21 g (82,5%) naslovnog spoja koji je sadržavao manje od 3% početnog materijala prema ¹H NMR. ¹H NMR (300 MHz, 25 CDCl₃) δ 1,81 (m, 4H), 2,91 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 3,92 (m, 4H), 4,90 (t, J = 4,4 Hz, 1H), 6,84 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 3,7 Hz, 1H).

Priprava 2

Metil-5-(3-[1,3-dioksolan-2-il]propil)-2-tiofen karboksilat

Otopini 5-(3-[1,3-dioksolan-2-il]propil)-2-tiofen karboksilne kiseline (58,0 g, 239 mmol) u 300 mL dimetilformamida se doda kalij karbonat (41,4 g, 299 mmol), zatim metil jodid (51,0 g, 359 mmol). Suspenzija se miješa na sobnoj 35 temperaturi 17 sati i zatim izlije u 600 mL vode. Dobivena suspenzija se ekstrahira dvaput sa 500 mL t-butilmetil etera i sjedinjeni ekstrakt se ispere s vodom, osuši iznad magnezij sulfata, filtrira, i koncentrira rotacijskim uparavanjem da se dobije 57,84 g (94,3%) naslovnog spoja koji je bio dovoljno čist za upotrebu u pripravi 3. IR (CHCl₃, cm⁻¹) 3021, 1707, 1541, 1463, 1296, 1101. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1,75 (m, 4H), 2,84 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,82 (m, 2H), 3,92 (m, 2H), 4,84 (t, J = 4,3 Hz, 1H), 6,76 (d, J = 3,9 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 3,7 Hz, 1H).

Priprava 3

Metil-5-(butan-4-al)-2-tiofen karboksilat

Metil-5-(3-[1,3-dioksolan-2-il]propil)-2-tiofen karboksilat (10,0 g, 39,0 mmol) i 1,0 mL koncentrirane kloridne kiseline se otope u 120 mL 2:1 octene kiseline/vode i dobivena žuta otopina se zagrijava u 60 °C uljnoj kupelji 2 sata. Otopina se ostavi da se ohladi do 25 °C i izlije u 120 mL vode. Nakon miješanja 15 minuta, ova smjesa se ekstrahira dvaput sa 125 mL t-butilmetil etera. Sjedinjeni organski ekstrakt se ispere dvaput s vodom i dvaput sa zasićenom vodenom 45 otopinom natrij bikarbonata, zatim osuši iznad magnezij sulfata, filtrira, i koncentrira do 8,24 g (99,5%) naslovnog spoja koji je bio dovoljno čist za upotrebu u pripravi 4. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2,01 (m, 2H), 2,50 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,87 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 3,84 (s, 3H), 6,79 (d, J = 3,7 Hz, 1H), 7,61 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 9,75 (s, 1H).

50 Priprava 4

Metil-5-(4-dietilaminobut-3-enil)-2-tiofen karboksilat

Metil-5-(butan-4-al)-2-tiofen karboksilat (16,7 g, 78,6 mmol) se ohladi na 0 °C - 5 °C uz miješanje, i obraduje s dietilaminom (11,5 g, 157 mmol) tijekom 5 minuta. Kupelj za hlađenje se ukloni i doda se 27,6 g kalij karbonata u 55 jednom obroku. Narančasta smjesa se zagrijava pri 60 °C jedan sat i zatim ostavi da se ohladi do 25 °C. Reakcijska smjesa se razrijedi sa 50 mL diklormetana i filtrira kroz Hyflo®, ispirući dobro sa suviškom diklormetana. Filtrat se koncentrira do 19,6 g (93,4%) naslovnog spoja, koji je bio dovoljno čist za upotrebu u pripravi 5. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1,01 (t, J = 7,1 Hz, 6H), 2,28 (q, J = 7,4 Hz, 2H), 2,68 (m, 2H), 2,91 (q, J = 7,1 Hz, 4H), 3,89 (s, 3H), 4,12 (m, 1H), 5,84 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 7,23 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,94 (d, J = 8,1 Hz, 2H).

Priprava 5**Natrij metil-hidroksimetilen-cijanoacetat**

Metalni natrij (11,8 g, 0,511 mol) se otopi u 450 mL metanola i toj toploj otopini se dodaje otopina etil formijata (104 g, 1,41 mol) i metil cijanoacetata (43,8 g, 0,440 mol) tijekom dvije minute. Tijekom dodavanja se stvori mala količina taloga. Reakcijska smjesa se zagrije do refluksa i tako održava 1,5 sat. Gusta bijela suspenzija se ostavi da se ohladi do 20-25 °C i talog se filtrira, ispere sa dietil eterom, i osuši u vakuumu pri 45 °C da se dobije 40,4 g (61,6%) naslovnog spoja koji je bio dovoljno čist za upotrebu u pripravi 6.

Priprava 6**Metil-klormetilen-cijanoacetat**

Suspenziji natrijeve soli metil-hidroksimetilen-cijanoacetat (19,0 g, 127 mmol) u 200 mL diklormetana se doda fosfor pentaklorid (26,5 g, 127 mmol) u jednom obroku. Reakcijska smjesa se ostavi da egzotermno dostigne temperaturu refluksa i zatim održava pri refluksu uz miješanje 4 sata. Dobivena svijetlo žuta suspenzija se ostavi da se ohladi do 23 °C i zatim izlije u 400 mL hladne vode. Smjesa se miješa 15 minuta i faze se odvoje. Vodeni sloj se ekstrahira sa 100 mL diklormetana i sjedinjeni organski sloj se ispere dvaput sa vodom, osuši iznad magnezij sulfata, i koncentrira do 16,8 g naslovnog spoja koji je bio dovoljno čist za upotrebu u primjeru 1. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 3,88 (s, 3H), 7,58 (s, 0,35H), 8,04 (s, 0,65H).

Priprava 7**Dietil ester N-[[5-[2-(6R)-2-amino-3,4,5,6,7,8-heksahidro-4-oksopirido-(2,3-d)-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline, sol (1R)-(-)-10-kamforsulfonske kiseline (R-R-L)**

Smjesa dietil estera N-[[5-[2-[2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)-amino]-3,4,5,6,7,8-heksahidro-4-oksopirido-(2,3-d)-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline (456,1 g, 0,748 mol) i bezvodne (1R)-(-)-10-kamforsulfonske kiseline (197,6 g, 0,84 mol) u 3,4 L apsolutnog etanola se zagrijava pod refluksom. Nakon 28 sati se ustanovi da je reakcija dovršena pomoću HPLC analize (C18 stupac pri 40 °C, 40:60 acetonitril:pufer, brzina protoka 2,0 mL/min, detekcija na 280 nm, pufer = 1:0,3:100 glacialna octena kiselina:triethylamin:voda). Smjesa se ostavi da se ohladi do 68 °C i doda se 6,34 g natrij acetata, 3,4 L vode, i 23 g aktivnog ugljena. Smjesa, ohlađena do 46 °C nakon dodavanja, se ostavi 20 min, zatim filtrira kroz Hyflo[®]. Dobivena otopina se miješa, ohladi do 34 °C, i zasije. Smjesa se ostavi da stoji na sobnoj temperaturi 2 sata bez pokretanja, da se omogući stvaranje kristala. Kristali se sakupe filtracijom i osuše. Filtrat se odloži preko noći, što uzrokuje pojavu dodatne kristalizacije. Kristali iz filtrata se sakupe, sjedine s prvim talogom i osuše, dajući 292,2 g R-R-L naslovnog spoja. Djelomično pročišćena sol se prekrizalizira dva puta iz smjese količine 15 puta svoje mase etanola-vode 1:1. Dobije se 101,9 g (35,6% teorijski) naslovnog spoja kao monohidrata, 95,4% d.e. prema HPLC analizi. Talište 207 °C - 210 °C. MS(FD) m/z 505 (M⁺); [α]₅₈₉ -52,8°, [α]₃₆₅ -267,7° (c 1,0, DMSO). EA izračunato za C₃₃H₄₇N₅O₁₀S₂·H₂O (755,90): C, 52,44; H, 6,53; N, 19,25. Ustanovljeno: C, 52,31; H, 6,35; N, 19,20.

Priprava 8**Regeneracija 2:3 smjese R-L i S-L diastereomera dietil estera N-[[5-[2-(6R)-2-amino-3,4,5,6,7,8-heksahidro-4-oksopirido-(2,3-d)-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline, iz filtrata iz priprave 7**

Otopina 1M vodenog natrij bikarbonata se uz miješanje doda smjesi filtrata iz priprave 7 (1000 g, oko 1,93% naslovnih spojeva (mas/mas)) i diklormetana (333 g). pH se podese do 5,0 do približno 7 pomoću dodatne količine 1M vodenog natrij bikarbonata (50,0 g). Dobivena smjesa se miješa 1 sat. Faze se odvoje da nastane 392,9 g bistre, žute organske faze. Otopina se ispire sa 0,5M vodenim natrij bikarbonatom (50 g) 30 minuta. Faze se odvoje da se dobije 341,3 g blago zamućene, žute organske faze. Uzme se uzorak za čuvanje od 5 g i preostala otopina ispire s otopinom 10%-tnog vodenog natrij klorida (100 g) 15 minuta. Nakon 1-satnog odvajanja faza, izolira se 293,4 g blago zamućene, žute organske faze. Uzme se uzorak za čuvanje od 5 g i otopina se koncentrira do pjene rotacijskim uparavanjem. Ostatak se ponovno otopi u diklormetanu (100 g) i ponovno koncentrira do pjene. Sušenjem u vakuumu 18 sati pri 45 °C/5 Torr (666 Pa) se dobije 17,86 g žute pjene (90,6% jakosti smjese 36,8:63,2 naslovnih spojeva, pojedinačno, 88,7% regeneracije bazirano na testu jakosti originalnog filtrata, 90,0% regeneracije bazirano na masenoj ravnoteži produkta u vodenom i organskom sloju). Ovaj materijal se prenese u postupak recikliranja iz primjera 6 i 7 bez daljnjeg pročišćavanja.

Priprava 9**2:3 smjesa R-L i S-L diastereomera dietil estera N-[[5-[2-[2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-3,4,5,6,7,8-heksahidro-4-oksopirido-(2,3-d)-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline**

Bezvodni piridin (50,9 g, 642,9 mmol) se doda 2:3 smjesi R-L i S-L diastereomera dietil estera N-[[5-[2-[2-amino-3,4,5,6,7,8-heksahidro-4-oksopirido-(2,3-d)-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline (24,7 g, 49,0 mmol) iz priprave 8 i 4-dimetilaminopiridina (1,489 g, 12,2 mmol). Nakon zagrijavanja do 100 °C uz miješanje, ostaje žuta otopina. Anhidrid pivalinske kiseline (19,0 g, 102,8 mmol) se dodaje tijekom 4 minute; sa svakom kapi se stvori bijela krutina koja se zatim dispergira. Nakon 4,5 sati reakcijska smjesa se ohladi do 50 °C (oprez: skrutnjava se na nižoj temperaturi), prenese u lijevak za odjeljivanje i dodaju se diklormetan (500 mL), zatim 1N vodena kloridna kiselina (660 mL). Organski sloj se odvoji i ekstrahira sa 1N vodenom kloridnom kiselinom (250 mL), uz diklormetan (100 mL) da spriječi zamućivanje. Dobiveni organski sloj se ispere sa slanom vodom (200 mL), ponovno uz dodatni diklormetan (100 mL) da spriječi zamućivanje, zatim osuši iznad magnezij sulfata. Otapalo se djelomično ukloni pri 26,5 inch Hg (0,9 Bar) vakuuma i 40 °C dok isparavanje skoro ne prestane. Preostaloj otopini se dodaje bezvodni dietil eter (300 mL) tijekom 35 minuta, da nastane bijela smjesa. Nakon 15 minuta miješanja, krutina se sakupi vakuum filtracijom, ispirući dvaput sa dietil eterom (100 mL). Napomena: za filtracije je bilo potrebno 15-30 minuta i miješanje nakon svakog dodatka dietil etera. Sušenjem u vakuumu pri 40 °C/5 Torr (666 Pa) 2 sata se dobije 27,88 g sirovog produkta. Ovaj ostatak se refluksira u etil acetatu (700 mL) dok se ne dobije svijetlo žuta otopina. Sastojci se ostave da se uravnoteže na sobnoj temperaturi uz miješanje 1 sat. Bijela smjesa se postavi u ledenu kupelj i miješa 1,5 sat. Produkt se izolira vakuum filtracijom, ispirući tri puta s hladnim etil acetatom (50 mL) i jednom sa dietil eterom (100 mL). Sušenjem u vakuumu pri 40 °C/5 Torr (666 Pa) se dobije 19,40 g (68%) naslovnog spoja kao bijele krutine. Talište 169 °C - 170 °C. $[\alpha]_D^{20}$ -0,2° (c 1,01, MeOH). EA izračunato za C₂₈H₃₉N₅O₇S: C, 57,03; H, 6,67; N, 11,88; O, 18,99; S, 5,44. Ustanovljeno: C, 57,05; H, 6,47; N, 11,66; O, 19,16; S, 5,66.

Primjer 1

Metil-5-(3-[2-cijano-2-karboetoksietenil]-4-dietilaminobut-3-enil)-2-tiofen karboksilat

Otopini metil-5-(4-dietilaminobut-3-enil)-2-tiofen karboksilata (19,4 g, 72,4 mmol) i trietilamina (7,3 g, 72,4 mmol) u 160 mL diklormetana ohlađenoj do -25 °C se dodaje otopina metil-klormetilen-cijanoacetata (10,5 g, 72,4 mmol) u 40 mL diklormetana kap po kap tijekom 25 minuta, održavajući temperaturu posude ispod -20 °C. Mutna narančasta otopina se miješa pri -25 °C do -20 °C dva sata i zatim ostavi da se ugrije do 20 °C. Reakcijska smjesa se razrijedi sa 150 mL vode i dva sloja se miješaju zajedno nekoliko minuta i odijele. Organski sloj se osuši iznad magnezij sulfata, filtrira, i koncentrira do narančastog ulja. Ulje se trituriira sa dietil eterom, što uzrokuje kristalizaciju željenog produkta. Dobivena krutina se filtrira, ispere s eterom i osuši da se dobije 19,6 g (72%) naslovnog spoja koji je bio dovoljno čist za upotrebu u primjeru 2. MS m/z 377 (M+H). EA izračunato za C₁₉H₂₄N₂O₄S: C, 60,62; H, 6,43; N, 7,44. Ustanovljeno: C, 61,67; H, 6,85; N, 7,33.

Primjer 2

2-amino-1,4-dihidro-4-oksopirido-6-(2-[2-karbometoksitiofen-5-il]etil)[2,3-d]pirimidin

Otopini metil-5-(3-[2-cijano-2-karboetoksietenil]-4-dietilaminobut-3-enil)-2-tiofen karboksilata (10,0 g, 26,56 mmol) u 50 mL acetonitrila se doda 2,4-diamino-6-hidroksipiridin (3,35 g, 26,56 mmol), 45 mL vode, i 5 mL octene kiseline. Dobivena suspenzija se refluksira 18 sati i zatim ostavi da se ohladi do 25 °C. Reakcijska smjesa se neutralizira do pH 6,7 pomoću 2N vodenog natrij hidroksida, što uzrokuje zgušnjavanje taloga. Krutina se filtrira, ispere sa 1:1 acetonitrilom/vodom, i osuši u vakuumu pri 50 °C da nastane 5,96 g (68%) naslovnog spoja.

Primjer 3

2-amino-1,4-dihidro-4-oksopirido-6-(2-[2-karbometoksitiofen-5-il]etil)[2,3-d]pirimidin

2-amino-1,4-dihidro-4-oksopirido-6-(2-[2-karbometoksitiofen-5-il]etil)[2,3-d]pirimidin (5,4 g, 16,35 mmol) se otopi u 54 mL 2N vodenog natrij hidroksida i zagrijava do 40 °C uz miješanje. HPLC analiza (3% acetonitril/70% 1%-tna vodena otopina octene kiseline, 1 mL/min, C8 25 cm stupac, λ = 280 nm) je pokazala potpunu hidrolizu metil estera. Otopina se razrijedi sa 81 mL etanola i zakiseli do pH 3 pomoću 6N vodene kloridne kiseline. Dobiveni talog se filtrira, ispere sa 1:1 etanolom/vodom, i osuši u vakuumu pri 50 °C da nastane 5,02 g (97%) naslovnog spoja kao svijetlo žute krutine. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 2,97 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 3,15 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 6,89 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 8,05 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,45 (d, J = 1,8 Hz, 1H).

Primjer 42-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-1,4-dihidro-4-oksopirido-6-(2-[2-karboksitiofen-5-il]etil)[2,3-d]pirimidin

Suspenciji 2-amino-1,4-dihidro-4-oksopirido-6-(2-[2-karboksitiofen-5-il]etil)[2,3-d]pirimidina (0,93 g, 2,94 mmol) u 20 mL anhidrida pivalinske kiseline se doda dimetilaminopiridin (0,036 g, 0,294 mmol) i smjesa se zagrijava pri 150 °C 18 sati, u kojem vremenu se smjesa znatno zgusne. Reakcija se ostavi da se ohladi do 25 °C i produkt se istaloži dodatkom 100 mL dietil etera. Talog se filtrira uz usisavanje i ispere s eterom. Dobivena krutina se suspendira u 10 mL vode i obrađuje sa 1N vodenom otopinom natrij hidroksida dok ne nastane otopina. Otopina se zakiseli do pH 4 pomoću 6N vodene kloridne kiseline, što uzrokuje taloženje produkta. Krutina se filtrira, ispere s vodom i zatim s metanolom, i osuši u vakuumu pri 50 °C da nastane 0,84 g (71%) naslovnog spoja kao žućkasto-smeđe krutine. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1,23 (s, 9H), 3,14 (m, 4H), 6,90 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 7,48 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 8,27 (s, 1H), 8,70 (s, 1H), 11,37 (bs, 1H), 12,25 (s, 1H).

Primjer 5Dietil ester N-[[5-[2-[2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-1,4-dihidro-4-oksopirido-[2,3-d]-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline

Smjesi 2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-1,4-dihidro-4-oksopirido-6-(2-[2-karboksitiofen-5-il]etil)[2,3-d] pirimidina (0,54 g, 1,35 mmol) i N-metilmorfolina (0,41 g, 4,05 mmol) u 5 mL dimetilformamida se doda 2-klor-4,6-dimetoksi-1,3,5-triazin (0,31 g, 1,75 mmol) u jednom obroku. Dobivena suspenzija se miješa na sobnoj temperaturi 16 sati. Nakon tog vremena, doda se dietil ester L-glutaminske kiseline (0,36 g, 1,48 mmol) i miješanje se nastavi na sobnoj temperaturi 3 sata. Reakcijska smjesa se razdjeli između 30 mL metilen klorida i 30 mL vode, i dva sloja se miješaju zajedno i ostave da se odvoje. Organski sloj se koncentrira do žućkasto-smeđeg ulja koje se tritirira s etanolom, što uzrokuje stvaranje krutog taloga. Krutina se filtrira, ispere s etanolom, i osuši u vakuumu pri 50 °C da nastane 0,59 g (75%) naslovnog spoja. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 1,14 (m, 6H), 1,22 (s, 9H), 2,04 (m, 2H), 2,38 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 3,12 (m, 4H), 4,05 (m, 4H), 4,34 (m, 1H), 6,88 (d, *J* = 3,6 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,61 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H), 8,72 (s, 1H), 10,85 (vbs, 2H).

Primjer 6Dietil ester N-[[5-[2-[2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-1,4-dihidro-4-oksopirido-[2,3-d]-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline

Diklormetan (350 mL) se doda 2:3 smjesi R-L i S-L diastereomera dietil estera N-[[5-[2-[2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-3,4,5,6,7,8-heksahidro-4-oksopirido-(2,3-d)-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline (17,0 g, 28,9 mmol) iz pripreme 9 i miješa 30 minuta dok se ne stvori svijetlo žuta otopina. Kao krutina, doda se 2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon (DDQ) (13,4 g, 59,2 mmol). Otopina najprije postane ljubičasta, zatim nakon 30 minuta miješanja na sobnoj temperaturi prijeđe u svijetlo ružičastu smjesu. Ružičasta krutina se ukloni filtracijom, ispere tri puta sa diklormetanom (25 mL). Filtrat se ispere tri puta po 30 minuta sa zasićenom otopinom natrij bikarbonata (200 mL) i odvoji. Konačni organski sloj se miješa 30 minuta s natrij bikarbonatom (100 mL) i vodom (100 mL), zatim odvoji. Organski sloj se ispere sa slanom vodom (100 mL) i osuši iznad magnezij sulfata. Uklanjanjem otapala uz sniženi tlak nastaje 14,7 g (87,1%) naslovnog spoja. Talište 57 °C - 87 °C. IR (CHCl₃): 3690-3025, 2978, 3000, 1736, 1677, 1629, 1558, 1449, 1245, 1147, 1022, 811 cm⁻¹. MS(HR) izračunato za C₂₈H₃₅N₅O₇S: 586.234100. Ustanovljeno: 586.233546.

Primjer 71:1 smjesa R-L i R-S diastereomera dietil estera N-[[5-[2-[2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-3,4,5,6,7,8-heksahidro-4-oksopirido-(2,3-d)-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline

Dietil ester N-[[5-[2-[2-[(2,2-dimetil-1-oksopropil)amino]-1,4-dihidro-4-oksopirido-[2,3-d]-pirimidin-6-il]etil]-2-tienil]karbonil]-L-glutaminske kiseline (1,0 g, 1,8 mmol), katalizator 5%-tni paladij na ugljiku (0,26 g), etanol (4,0 mL), i tetrahidrofuran (16,0 mL) se dodaju u posudu za hidrogeniranje. Dobivena smjesa se tri puta izloži tlaku dušikom (10 psig (0.69 Bar)) i plin pusti. Zatim se smjesa izloži tri puta tlaku vodika (50 psig (3,44 Bar)) i plin pusti. Tlak vodika se zatim podesi do 50 psig i temperatura povisi do 100 °C. Nakon 22 sata, uz 7% preostalog početnog materijala prema HPLC, reakcija se ostavi da se uravnoteži do sobne temperature i katalizator se ukloni filtracijom kroz Celite i ispere sa 4:1 tetrahidrofuranom/etanolom. Filtrat se upari, ponovno otopi u diklormetanu (25 mL), ekstrahira s vodenim natrij bikarbonatom (25 mL), osuši iznad magnezij sulfata, i upari. Ostatak se miješa u etil acetatu (10 mL) pri refluksu. Nakon 1 sat, smjesa se ostavi da se ohladi do sobne temperature i zatim se miješa u ledenoj kupelji 30 minuta. Nakon hladnog miješanja, reakcijska smjesa se filtrira i filtracijski kolač se ispere sa hladnim etil acetatom (3 mL). Filtracijski kolač se osuši u vakuumu pri 40 °C/5 Torr (666 Pa), dajući 940 mg (83%) naslovnog spoja kao bijele

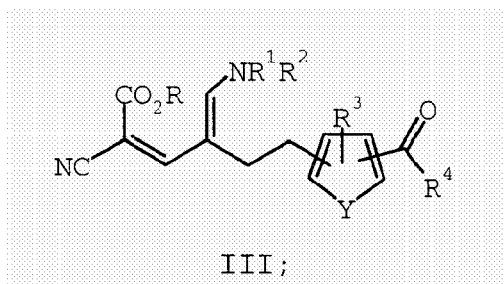
krutine. Talište 169 °C - 170 °C. EA izračunato za C₂₈H₃₉N₅O₇S: C, 57,03; H, 6,67; N, 11,88; O, 18,99; S, 5,44. Ustanovljeno: C, 57,26; H, 6,45; N, 11,86; O, 18,73; S, 5,74.

Ovaj izum je detaljno opisan, uključujući njegova poželjna ostvarenja. Međutim, razumljivo je da će stručnjaci, nakon razmatranja ovog otkrića, moći načiniti modifikacije i/ili poboljšanja koja pripadaju unutar opsega i duha izuma kako je naznačeno u sljedećim zahtjevima.

Iako su spojevi formule III i III(a) prikazani u ovom opisu kao da imaju samo jednu određenu orijentaciju oko svoje dvije dvostruke veze, svi mogući izomeri su obuhvaćeni unutar opsega ovog izuma.

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Spoj formule III:



naznačen time, što:

Y je CH=CH, O, ili S;

R je C₁-C₆ alkil;

R¹ i R² su nezavisno C₁-C₆ alkil ili uzeti zajedno sa dušikom za koji su vezani formiraju heterocikl;

R³ je vodik, kloro, ili fluoro;

R⁴ je hidroksi, karboksi zaštitna skupina, ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i

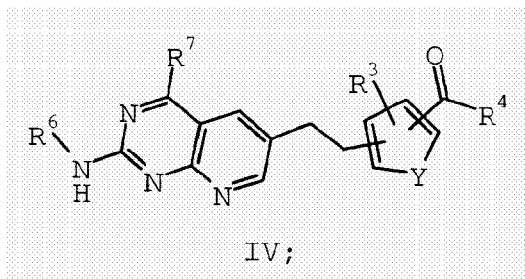
R⁵ je vodik ili karboksi zaštitna skupina;

ili njegova sol ili solvat.

2. Spoj prema zahtjevu 1, **naznačen time**, što Y je CH=CH ili S, R je C₁-C₄ alkil, R¹ i R² su nezavisno C₁-C₄ alkil, R³ je vodik, i R⁴ je C₁-C₄ alkoksi ili benziloksi; ili njegova sol ili solvat.

3. Spoj prema zahtjevu 2, **naznačen time**, što R je metil ili etil, R¹ i R² su oba metil ili etil, i R⁴ je metoksi, etoksi, ili benziloksi; ili njegova sol ili solvat.

4. Spoj formule IV:



naznačen time, što:

Y je CH=CH, O, ili S;

R³ je vodik, kloro, ili fluoro;

R⁴ je hidroksi, karboksi zaštitna skupina, ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i

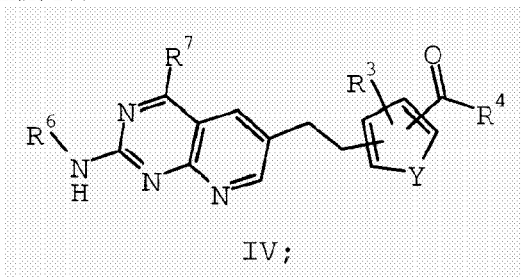
R⁵ je vodik ili karboksi zaštitna skupina;

R⁶ je vodik ili amino zaštitna skupina; i

R⁷ je hidroksi;

ili njegova sol ili solvat.

5. Spoj prema zahtjevu 4, **naznačen time**, što Y je CH=CH ili S i R³ je vodik; ili njegova sol ili solvat.
6. Spoj prema zahtjevu 5, **naznačen time**, što R⁴ je metoksi, etoksi, benziloksi, ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵; R⁵ je C₁-C₆ alkil; R⁶ je amino zaštitna skupina; i R⁷ je hidroksi; ili njegova sol ili solvat.
7. Spoj prema zahtjevu 6, **naznačen time**, što R⁴ je NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵; ili njegova sol ili solvat.
8. Postupak za dobivanje spoja formule IV:



gdje:

Y je CH=CH, O, ili S;

R³ je vodik, kloro, ili fluoro;

R⁴ je hidroksi, karboksi zaštitna skupina, ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i

R⁵ je vodik ili karboksi zaštitna skupina;

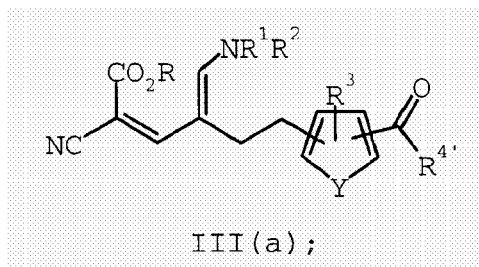
R⁶ je vodik ili amino zaštitna skupina; i

R⁷ je hidroksi ili amino;

ili njegove soli ili solvata;

naznačen time, što sadrži:

a) reakciju spoja formule III(a):



gdje:

R je C₁-C₆ alkil;

R¹ i R² su nezavisno C₁-C₆ alkil ili uzeti zajedno sa dušikom za koji su vezani formiraju heterocikl;

R⁴ je karboksi zaštitna skupina ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵ gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i

R⁵ je karboksi zaštitna skupina;

sa 2,4-diamino-6-hidroksipirimidinom u prisutnosti prikladne kiseline i otapala;

b) po potrebi umetanje amino zaštitne skupine na R⁶; i

c) po potrebi uklanjanje svih zaštitnih skupina sa R⁴.

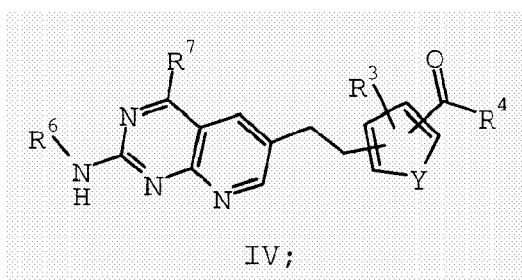
9. Postupak prema zahtjevu 8, **naznačen time**, što spoj formule IV je spoj u kojem R⁷ je hidroksi, Y je CH=CH ili S, i R³ je vodik; ili njegova sol ili solvat.

10. Postupak prema zahtjevu 9, **naznačen time**, što spoj formule III(a) je spoj u kojem R⁴ je metoksi, etoksi ili benziloksi; ili njegova sol ili solvat; i izvodi se korak b) iz zahtjeva 8.

11. Postupak prema zahtjevu 10, **naznačen time**, što spoj formule IV je spoj u kojem R⁶ je 2,2-dimetil-1-oksopropil; ili njegova sol ili solvat.

12. Postupak prema zahtjevu 8, **naznačen time**, što kiselina je octena kiselina i otapalo je acetonitril.

13. Postupak za dobivanje spoja formule IV:



gdje:

Y je CH=CH, O, ili S;

R³ je vodik, kloro, ili fluoro;

R⁴ je hidroksi, karboksi zaštitna skupina, ili NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, gdje konfiguracija oko ugljikovog atoma označenog * je S; i

R⁵ je vodik ili karboksi zaštitna skupina;

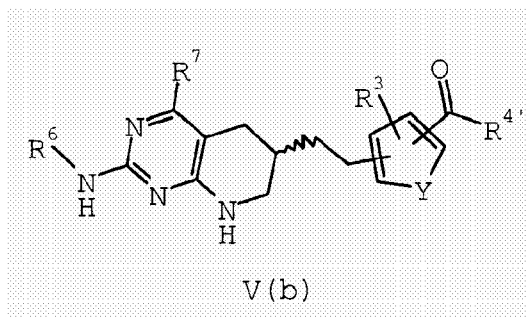
R⁶ je vodik ili amino zaštitna skupina; i

R⁷ je hidroksi ili amino;

ili njegove soli ili solvata;

naznačen time, što sadrži:

a) reakciju spoja formule V(b):



gdje:

R⁴ je karboksi zaštitna skupina ili NHCH(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵; i

R⁵ je karboksi zaštitna skupina;

ili njegove soli ili solvata;

s oksidirajućim sredstvom u prisutnosti prikladnog otapala; i

b) po potrebi uklanjanje svih zaštitnih skupina sa R⁴ i/ili sa R⁶;

pod uvjetom da ako je R⁶ u spoju formule V(b) vodik, onda spoj formule V(b) mora biti kisela adicijska sol.

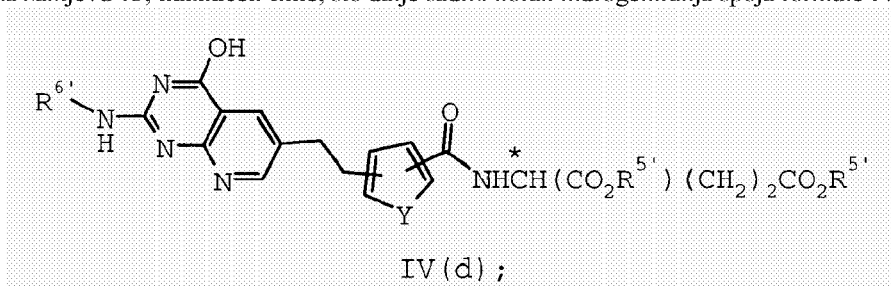
14. Postupak prema zahtjevu 13, **naznačen time**, što spoj formule IV je spoj u kojem Y je CH=CH ili S i R³ je vodik; ili njegova sol ili solvat.

15. Postupak prema zahtjevu 14, **naznačen time**, što spoj formule V(b) je spoj u kojem R⁴ je NHC*H(C(O)R⁵)CH₂CH₂C(O)R⁵, R⁵ je C₁-C₆ alkil; R⁶ je amino zaštitna skupina; i R⁷ je hidroksi; ili njegova sol ili solvat.

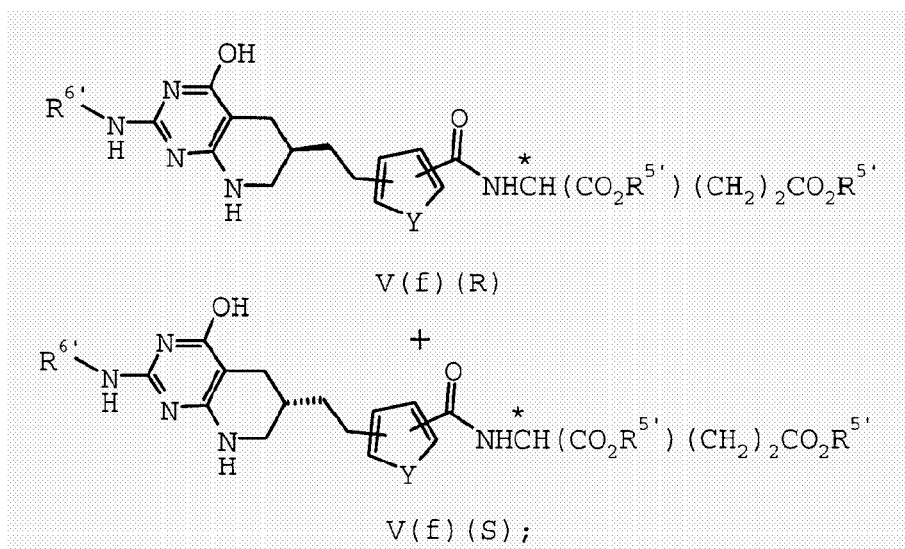
16. Postupak prema zahtjevu 15, **naznačen time**, što spoj formule V(b) je spoj u kojem R⁵ je metil ili etil i R⁶ je 2,2-dimetil-1-oksopropil; ili njegova sol ili solvat.

17. Postupak prema zahtjevu 13, **naznačen time**, što sredstvo za oksidiranje je 2,3-diklor-5,6-dicijano-1,4-benzokinon i otapalo je diklormetan.

18. Postupak prema zahtjevu 15, **naznačen time**, što dalje sadrži korak hidrogeniranja spoja formule IV(d):



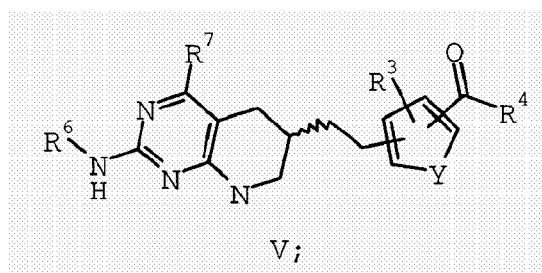
u prikladnom otapalu; da nastane smjesa koja sadrži spojeve formule V(f)(R) i V(f)(S):



ili sol ili solvat svakog od njih.

5

SAŽETAK



10

Ovaj izum se bavi međuproduktima, i postupcima usmjerenim prema i od tih spojeva, na seriju derivata pirimidina formule (V), koji su međuprodukti za korisne antifolatne spojeve ili su sami po sebi korisni antifolatni spojevi.