

19



Octrooiraad  
Nederland

11 194915

12 C OCTROOI

21 Aanvraag om octrooi: 9000730

22 Ingediend: 28.03.1990

51 Int.Cl.<sup>7</sup>  
C07D491/048

30 Voorrang:  
03.04.1989 GB 0008907480

43 Ter inzage gelegd:  
01.11.1990 I.E. 1990/21

44 Openbaargemaakt:  
03.03.2003 I.E. 2003/03

47 Dagtekening:  
04.07.2003

45 Uitgegeven:  
01.09.2003 I.E. 2003/09

73 Octrooihouder(s):  
Société Anonyme dite: Société de Conseils de  
Recherches et d'Applications Scientifiques  
(S.C.R.A.S.) te Parijs, Frankrijk (FR).

74 Gemachtigde:  
Mr. G.L. Kooy c.s. te 2514 BB Den Haag.

54 Scheiding van enantiomeren van 7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinederivaten.

## Scheiding van enantiomeren van 7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinederivaten

De uitvinding heeft betrekking op een werkwijze voor het scheiden van 7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinederivaten met formule I van het formuleblad, waarin

- 5  $R_3$  een alkylgroep met rechte keten en 1-5 koolstofatomen of een fenylgroep voorstelt, welke groepen desgewenst gesubstitueerd zijn door één of een aantal chloor- of fluoratomen,  
 $R_4$  een waterstofatoom voorstelt en  
 $R_6$  een verzadigde koolwaterstofgroep met maximaal 5 koolstofatomen voorstelt.

- 10 Een aantal furo[3,4-c]pyridinederivaten is bekend in hun racemische vorm, bijvoorbeeld in de Nederlandse octrooiaanvragen 8200180 (inmiddels 1716697), 8403181, 8403318, 8403353, 8500241 en 8502412 van aanvraagster. Ze hebben verschillende therapeutische werkingen. Een enantiomeer is actiever dan de andere. Het is dus wenselijk een werkwijze te vinden voor het scheiden van hun enantiomeren.

Het doel van de uitvinding is het verschaffen van een werkwijze voor het scheiden van de enantiomeren van de 7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinederivaten met formule I, zoals die in de aanhef worden gedefinieerd.

- 15 Gevonden is dat bovengenoemd doel wordt bereikt met een werkwijze, zoals omschreven in de aanhef, daardoor gekenmerkt dat men een volledig O-geacetyleerd monosaccharidehalogenide laat reageren met een racemaat van het gekozen 7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinederivaten tot de (+) en (-) (O-geacetyleerd monosaccharide) (furo-[3,4-c]pyridine-7-yl-derivaat)ethers, daarna  
20 de (+) en de (-) ethers in een waterig methanol-ethanol- of propanolmedium scheidt door selectieve kristallisatie hetzij van de geacetyleerde vormen, hetzij van de overeenkomstige, gedeacetyleerde vormen, en ten slotte elk van de afgescheiden derivaten opwerkt, desgewenst de esterfunctie hydrolyseert, en de etherverbinding tussen het monosaccharide en furo[3,4-c]pyridinederivaten verbreekt.

- 25 Ten aanzien van de stand van de techniek wordt nog het volgende opgemerkt.

- De Europese octrooiaanvraag EP-A 0.157.384 heeft betrekking op verbindingen met formule A-O-B die gevormd kunnen worden door reactie van een verbinding A-OH met een reactief derivaat van een verbinding B-OH. A-OH kan een hydroxynitropyridine voorstellen. B-OH kan een suiker of een derivaat daarvan voorstellen. De verbindingen A-O-B worden gebruikt in hydrolasereacties. Een eventuele stereoiso-
- 30 merie en scheiding van stereoisomeren van de verbindingen A-O-B worden niet beschreven.

De Britse octrooiaanvraag GB-A 779.318 heeft betrekking op een werkwijze voor het verkrijgen van één stereoisomeer uit het racemaat DL-threo-1-(p-nitrofenyl)-2-amino-1,3-propaandiol. Hierin bestaat de eerste stap uit reactie van dit racemaat met een optisch actief, niet O-geacetyleerd monosaccharide waarvan als enig voorbeeld D-glucose gegeven wordt (zie bladzijde 1, regels 33, 34).

- 35 De bovengenoemde Nederlandse octrooiaanvraag 8200180 heeft betrekking op racemische furo[3,4-c]pyridinederivaten, werkwijzen voor bereiding daarvan, therapeutische preparaten die deze bevatten. Een werkwijze voor het scheiden van de stereoisomeren van de racemische derivaten is niet vermeld.

- De niet voorgepubliceerde Nederlandse octrooiaanvraag met oudere voorrang 8920307 heeft betrekking op stereospecifieke werkwijzen voor de bereiding van furo[3,4-c]pyridinederivaten met formule I. Deze  
40 werkwijzen omvatten oxidatie van een voorloper met formule II tot een keton, reactie van het keton met een chiraal reductiemiddel, waardoor een enantiomere verbinding ontstaat, en een aantal stappen waardoor ten slotte een enantiomeer furo[3,4-c]pyridinederivaat met formule I gevormd wordt.

- Bij de werkwijze volgens de uitvinding dient het deacetyleren te worden uitgevoerd voor de selectieve kristallisatie indien de gedeacetyleerde derivaten een groter verschil in oplosbaarheid in het waterige  
45 methanol-, ethanol- of propanolmedium vertonen dan de geacetyleerde derivaten. De aanduiding monosaccharide beoogt een glucuronaatester of een glucoside aan te geven en de aanduiding O-geacetyleerd monosaccharidehalogenide heeft een bromide of chloride van het genoemde monosaccharide aan waarin alle hydroxylgroepen geacetyleerd zijn.

### 50 Voorbeeld 1

Dit voorbeeld beschrijft de scheiding van de stereoisomeren van 1,3-dihydro-6-methyl-3-(p-chloor)fenyl-furo[3,4-c]pyridine.

(I :  $R_3$  = een groep met formule II,  $R_4$  = waterstof en  $R_6$  = de methylgroep).

**REACTIE NR. 1**

Synthese van het triacetaat van de methylester van (+)-1,3-dihydro-6-methyl-3-p-chloorfenyl-furo[3,4-c]pyridine 7-O-( $\beta$ -D-glucuronaat) en het triacetaat van de methylester van (-)-1,3-dihydro-6-methyl-3-p-chloorfenyl-furo[3,4-c]pyridine 7-O-( $\beta$ -glucuronaat).

- 5 Men suspendeerde 4,06 g (0,015 mol) 1,3 dihydro-6-methyl-3-p-chloorfenyl-7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinede vrije base, 1,13 g (4 m.mol) mercurichloride en 6,75 g moleculaire zeef (4 Å) in 85 ml 1,2-dichloorethaan en verhitte dit mengsel 15 min. onder terugvloeiing. Daarna voegde men in één portie 8,18 g (0,020 mol) methyl (tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosylbromide)-uronaat toe en zette het verhitten onder terugvloeiing gedurende 15 uur ine en stikstofatmosfeer voort. Na afkoelen decanteerde men het oplosmiddel in een
- 10 scheitrecther en spoelde de kolf-zeven vijfmaal met 50 ml porties methyleendichloride. De organische lagen werden gecombineerd en driemaal geëxtraheerd met 75 ml porties van een 10%-ige kaliumjodideoplossing, driemaal met enige porties van een 5%-ige natriumcarbonaatoplossing en tweemaal met 30 ml porties van een verzadigde natriumchlorideoplossing. Na drogen boven watervrije magnesiumsulfaat filtreerde men de oplossing en strippte het filtraat met een roterende verdampingsinrichting droog. Het verkregen, ruwe residu
- 15 (7,5 g) werd opgelost in 150 ml methanol.

Bij staan bij kamertemperatuur werden twee fracties van een pluizig, wit, vast product (2,26 g) verkregen. Het filtraat werd geconcentreerd tot 20 ml, waardoor bij koelen een tweede portie van een vast product, werd verkregen dat uit methanol werd herkristalliseerd. Door filtreren verkreeg men 1,6 g van een kristallijn, wit, vast product (opbrengst: 44,5%).

- 20 Op basis van spectroscopisch onderzoek bleek het eerste, vaste product het (-)methylester tri-acetaat en het tweede vaste product het (+)methylester tri-acetaat te zijn.

Analyse voor de (+) verbinding, berekend voor:  $C_{27}H_{28}ClN_2O_{11}$ , C 56,11%, H = 4,88%, N = 2,42%, Gevonden C = 55,90%, H = 4,80%, N = 2,64%,  $^1H$  NMR in  $CDCl_3$ , 2,03 ppm (3H, s), 2,05 ppm (3H, s), 2,13 ppm (3H, s), 2,49 ppm (3H, s) 3,75 ppm (3H, s);  $^{13}C$  NMR in  $CDCl_3$ , 18,7 ppm ( $CH_3$ ) 20,42 ppm ( $CH_3$ ,

- 25 52,77 ppm (O- $CH_3$ , 101,0 ppm (C-1'; (C = 0,41 in  $CHCl_3$ ); HPLC,  $R_T$  = 10,88 min. (98,0 %), smpt: 230-231°C.

**REACTIE NR. 2A**

Synthese van de gede-acetyleeerde vorm van de (-)methylesterverbinding van reactie 1.

- 30 Men loste 0,5 g (0,8 m.mol) van het (-)methylester tri-acetaat verkregen bij reactie nr. 1 op in 5 ml van een 1,5N oplossing van waterstofchloride in methanol. De oplossing werd in een rondbodempkolf van 25 ml voorzien van een koeler en stikstoffles gebracht. Het HPLC chromatografische profiel in het gekozen oplosmiddelsysteem werd bepaalt op tijdstip  $t = 0$  door monsters te nemen. De kolf werd daarna in een oliebad met een temperatuur van 85°C geplaatst en de hydrolysesnelheid werd bepaald bij 10 min., 30 min.
- 35 en 45 min. Op dat tijdstip was afgezien van 2,1% uitgangsmateriaal al het uitgangsmateriaal omgezet in een polairder product ( $R_T$  = 4,58 min., 0,01M natriumacetaat/methanol 3/7), dat 75,6% van het mengsel uitmaakte.

Men voegde 2 ml water toe en verwijderde de methanol met een roterende verdampingsinrichting bij kamertemperatuur. De waterige oplossing werd geneutraliseerd met 2 ml van een 5%-ige natriumcarbonaat-oplossing. Er vormde zich een wit neerslag, dat werd afgefiltreerd. Door kristalliseren van het vaste product uit ethanol verkreeg men 76,7% van een pluizig, wit, vast product (280 mg).

Analyse:  $^1H$  NMR in  $CD_3OD$ , 2,54 ppm (3H, s), 3,77 ppm (3H, s), 7,3 ppm (4H, s), HPLC  $R_T$  = 4,44 min. (77,5%) smpt: +300°C.

**45 REACTIE NR. 3A**

Hydrolyse van de (-)methylester van reactie nr. 2a

Men loste 0,18 g (0,4 m.mol) van de methylester verkregen bij reactie nr. 2a op in 1 ml 2N-zoutzuur in een reactievat, dat daarna in een stikstofatmosfeer werd afgedicht en op 86°C werd verhit. De hydrolysesnelheid werd 30 min., 1 uur en 18 uur gevolgd met HPLC. Daarna was het grootste gedeelte (2,5% overgebleven)

- 50 van de methylester omgezet in de hoofdmassa (91,2% van het product, onder elutie bij  $R_T$  = 5,17 min. (0,01 M natriumacetaat/methanol 7/3). De oplossing werd door toevoeging van een 5%-ige natriumcarbonaat-oplossing ingesteld op een pH van 7 en het oplosmiddel door lyofiliseren verwijderd. Het verkregen ruwe, vaste product werd een aantal maal gespoeld met ijskoude methanol en daarna gefiltreerd. Het filtraat werd drooggedampt. Het vaste residu werd gekristalliseerd uit een mengsel van gelijke volumedelen methanol en
- 55 water en verkregen als een wit, vast product (150 mg, 85,2% opbrengst).

Analyse:  $^1H$  NMR in  $CD_3OD$  2,05 ppm (3H, s), 3,48 ppm (3H, m) 5,33 ppm (2H, a, J = 13 Hz), 7,28 ppm (4H, s),  $^{13}C$  NMR in  $CD_3OD$  19,39 ppm ( $CH_3$ ), 1,09 ppm (C-1'), M.S.  $m^+z$  261, HPLC  $R_T$  - 12,78 min. (98,5%), smpt: 247-248°C.

**REACTIE NR. 4a**

Synthese van (-)-1,3-dihydro-6-methyl-3-p-chloorfenyl-7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinede

- Men bracht 0,14 g (0,4 m.mol) van de verbinding verkregen bij reactie nr. 3a in een rondbodemkolf van 25 ml voorzien van een koeler en stikstofinleidbuis. Het vaste product werd opgelost in 1 ml 6N-zoutzuur. De oplossing werd 1,5 uur verhit op 85°C en daarna afgekoeld in een ijsbad. Vervolgens voegde men een 5%-ige natriumbicarbonaatoplossing toe tot neutrale reactie. Het heterogene mengsel werd met een roterende verdampingsinrichting gestript totdat een droog product werd verkregen en dit vaste residu werd een aantal malen gewassen met methanol. Na verwijdering van het grootste gedeelte van de methanol bracht men de oplossing aan op een geprepareerde silica 2000 µ TLC plaat en elueerde met een mengsel van dichloormethaan en methanol (5:1, vol.). De belangrijkste U.V. band bij  $R_f = 0,65$  werd verwijderd. Het organische materiaal werd door wassen met methanol bevrijd van de silica en het filtraat werd door strippen gedroogd.

Het teruggenomen, witte, vaste product 0,1 g, 96%) bleek onder toepassing van HPLC samen te elueren met authentiek 1,3-dihydro-6-methyl-3-p-chloor-fenyl-7-hydroxy-furo[3-4-c]pyridine.

- 15 Analyse:  $^1\text{H}$  NMR in  $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$  2,46 ppm (3H, s), 5,21 ppm (2H, q,  $J = 12\text{Hz}$ ), 6,16 ppm (1H, s), 7,31 ppm (4H, s), 7,560 ppm (1H, s),  $[\delta]_D^{26} -109,4^\circ$  ( $C = 73$  in methanol).

**REACTIE NR. 2b**

Synthese van de gede-acetyleeerde vorm van de (+)methylesterverbinding van reactie nr. 1

- 20 Met loste 0,5 g (0,8 m.mol) van het (+)methylester tri-acetaat verkregen bij reactie nr. 1 op in 5 ml van een 1,5N oplossing van waterstofchloride in methanol. Daarna bracht men de oplossing in een rondbodemkolf van 25 ml voorzien van een koeler en stikstoffles. Door het nemen van monsters werd het HPLC chromatografieprofiel in het gekozen oplosmiddelsysteem bepaald op tijdstip  $t = 0$ . De kolf werd daarna geplaatst in een oliebad met een temperatuur van 85°C en de hydrolysesnelheid werd gevolgd op  $t = 20$  min., 40 min. en 60 min. Gedurende deze tijd werd het totale verbruik van het uitgangsmateriaal bepaald en een hoofdproduct (86,7%) werd gevonden bij  $R^T = 5,74$  min. (0,01 M natriumacetaat/methanol 3/7). Vervolgens voegde men 2 ml water toe en verwijderde de methanol door roterende verdamping bij kamertemperatuur. De waterige oplossing werd geneutraliseerd met 2 ml van een 5%-ige natriumbicarbonaatoplossing. Het witte, vaste product, (340 mg) dat zich vormde werd verzameld.
- 30 Opbrengst = 93,2%.  
Analyse:  $^1\text{H}$ -NMR in  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$ , 2,54 ppm (3H, s), 3,76 ppm (3H, s), 5,40 ppm (2H, a,  $j = 102\text{ Hz}$ ), 7,29 ppm (4H, s).

**REACTIE NR. 3b**

- 35 Hydrolyse van de (+)methylester van reactie nr. 2b

Zonder te zuiveren werd de gehele hoeveelheid (340 mg, 0,74 m.mol) van het product verkregen bij reactie nr. 2b geplaatst in een reactievat met 1 ml 2N-zoutzuur. Dit vast werd in een stikstofatmosfeer afgedicht en 18 uur verhit op 85°C. Daarna werd de oplossing afgekoeld en werd een 5%-ige natriumbicarbonaat-oplossing toegevoegd teneinde de pH in te stellen op 7. Het oplosmiddel werd door lyofiliseren verwijderd.

- 40 Het ruwe, vaste product werd een aantal malen gewassen met ijskoude methanol en werd daarna gefiltreerd. Het filtraat werd gestript totdat een droog product werd verkregen. Dit vaste residu werd gekristalliseerd uit een mengsel van methanol en water (4:1, vol.) en het verkregen witte, vaste product (180 mg, 58,5% opbrengst) werd verzameld.

- 45 Analyse:  $^1\text{H}$  NMR in  $\text{CD}_3\text{OD}$  2,56 ppm (3H, s), 3,55 ppm (3H, m), 5,48 ppm (2H, s), 6,16 ppm (1H, s), 7,34 ppm (4H, s);  $^{13}\text{C}$  NMR in  $\text{CD}_3\text{OD}$  19,56 ppm ( $\text{CH}_3$ , 105,21 ppm ( $\text{C}-1'$ ); M.S.  $m/z$  261; HPLC smpt. 259–261°C.

**REACTIE NR. 4b**

Synthese van (+)-1,3-dihydro-6-methyl-3-p-chloorfenyl-7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridine.

- 50 Men bracht 0,17 g (0,38 m.mol) van de verbinding verkregen bij reactie nr. 3b in een rondbodemkolf voorzien van een koeler en stikstoffles. Het vaste product werd opgelost in 1 ml 6N-zoutzuur. De oplossing werd 1,5 uur verhit op 85°C en daarna gekoeld in een ijsbad. Vervolgens voegde men een 5%-ige natriumbicarbonaatoplossing toe tot neutrale reactie. Het heterogeenmengsel werd met een roterende verdampingsinrichting gestript totdat een droog product werd verkregen en dit vaste residu werd een aantal malen gewassen met methanol. Na verwijdering van het grootste gedeelte van de methanol bracht men de oplossing aan op een preparatieve 2000 µm silica TLC plaat en elueerde met een mengsel van dichloormethaan en methanol (5:1, vol.). De belangrijkste U.V. bij  $R_f = 0,65$  (overeenkomstig de titelverbinding die direct

- van de TLC plaat was verwijderd) werd verwijderd. Het organische materiaal werd door wassen met methanol bevrijd van siliciumdioxide en het filtraat werd door strippen omgezet in een droog product. Het gewonnen, witte, vaste product (70 mg, 70,5%-ige opbrengst elueerde bij TLC tezamen met authentiek 1,3-dihydro-6-methyl-3-p-chloormethyl-7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridine en volgens HPLC een identieke
- 5 retentietijd als authentiek 1,3-dihydro-6-methyl-3-p-chloorfenyl-7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridine.

Analyse:  $[\delta]_D^{26} = + 117,3$  (C = 4,67 in methanol).

#### VOORBEELD 2

- In dit voorbeeld is de scheiding van enantiomeren van 1,3-dihydro-6-methyl-3-isopropyl-furo[3,4-c]pyridine
- 10 (I : R<sub>3</sub> = (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> CH R<sub>4</sub> = H R<sub>6</sub> = CH<sub>3</sub>) met (D-tetraacetaatglucosyl)bromide beschreven.

#### REACTIE NR. 2

De-acetylering en scheiding van (+) en (-) 1,3-dihydro-6-methyl-3-isopropyl-furo[3,4-c]pyridine 7-O-(D-tetraacetaat-glucosyl)

- 15 In een Erlenmeyer van 100 ml werden 6 g (12,4 m.mol) 1,3-dihydro-6-methyl-3-isopropyl-furo[3,4-c]pyridine, en 50 ml methanol gebracht. Het mengsel werd eerst met ijs gekoeld tot 10°C en daarna verzadigd met ammoniak. Vervolgens liet men het mengsel een nacht in de koelkast staan. Na filtreren werd het verkregen neerslag gewassen met methanol en vervolgens met diethylether. De verbinding werd daarna behandeld met 160 ml van een mengsel van gelijke volumedelen ethanol en water. Tenslotte werd 1,3 g van een wat,
- 20 vast product afgefiltreerd. Het filtraat werd geconcentreerd en gaf een tweede fractie van een vast product, dat uit ethanol werd herkristalliseerd. Na filtreren werd 1,4 g van een kristallijn, vast product verkregen (totale opbrengst: 67%).

Op basis van spectroscopisch onderzoek bleek het eerste, vaste product het (-) en het tweede vaste product het (+) isomeer van 1,3-dihydro-6-methyl-3-isopropyl-7-O-(D-glucosyl)furo[3,4-c]pyridine te zijn.

25

#### REACTIE NR. 3

Synthese van (+)-1,3-dihydro-6-methyl-3-isopropyl-7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridine

- Met goot in een Erlenmeyer van 50 ml 0,57 g (1,6 m.mol) van de (+) verbinding verkregen bij de hiervoor beschreven reactie, 3 ml 6N-zoutzuur en 1 ml water. Daarna werd het mengsel 2 uur verwarmd op 80°C en
- 30 vervolgens afgekoeld tot kamertemperatuur. Het verkregen neerslag werd afgefiltreerd, daarna gewassen met water en het neerslag loste op. Daarna werden de waterwasvloeistoffen geneutraliseerd met natriumbicarbonaat en er werd een neerslag gevormd. Het neerslag werd vervolgens gewassen met water en gedroogd, waardoor 0,20 g (65%) van de in de titel genoemde verbinding werd verkregen.

#### 35 REACTIE NR. 1

Synthese van (+) (-)-1,3-dihydro-6-methyl-3-isopropyl-furo[3,4-c]pyridine 7-O-(D-tetraacetaat-glucosyl)

- De reactie van (tetra-O-acetyl-glucosyl)bromide werd onder dezelfde omstandigheden uitgevoerd als beschreven in reactie nr. 1 van voorbeeld 1, echter zonder selectieve kristallisatie, omdat het verschil in oplosbaarheid in een alcoholisch medium, van de (+) en de (-) vormen van de verkregen verbinding niet
- 40 voldoende is.

#### Conclusie

- 45 Werkwijze voor het scheiden van 7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinederivaten met formule I van het formuleblad, waarin

R<sub>3</sub> een alkylgroep met rechte keten en 1-5 koolstofatomen of een fenylgroep voorstelt, welke groepen desgewenst gesubstitueerd zijn door één of een aantal chloor- of fluoratomen,

R<sub>4</sub> een waterstofatoom voorstelt en

- 50 R<sub>6</sub> een verzadigde koolwaterstofgroep met maximaal 5 koolstofatomen voorstelt, met het kenmerk, dat men op op zich bekende wijze een volledig O-geacetyleerd monosaccharidehalogenide laat reageren met een racemaat van het gekozen 7-hydroxy-furo[3,4-c]pyridinederivaten tot de (+) en (-) (O-geacetyleerd monosaccharide) (furo-[3,4-c]pyridine-7-yl-derivaat)ethers, daarna

de (+) en de (-) ethers in een waterig methanol-ethanol- of propanolmedium scheidt door selectieve kristallisatie hetzij van de geacetyeerde vormen, hetzij van de overeenkomstige, gedeacetyeerde vormen, en ten slotte

- 5 elk van de afgescheiden derivaten opwerkt, desgewenst de esterfunctie hydrolyseert, en de etherverbinding tussen het monosaccharide en furo[3,4-c]pyridinederivaten verbreekt.

---

Hierbij 1 blad tekening

---

