

(11) *Número de Publicação:* PT 852580 E

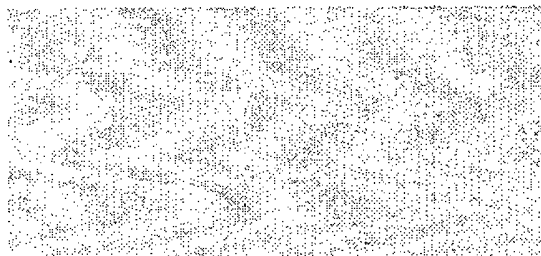
(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07D239/54 A C12P007/62 B
C12P013/02 B

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) <i>Data de depósito:</i> 1996.08.30	(73) <i>Titular(es):</i> LONZA AG (GESCHAFTSLEITUNG: 4002 BASEL) CH-3945 GAMPPEL CH
(30) <i>Prioridade:</i> 1995.08.31 CH 247495	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1998.07.15	(72) <i>Inventor(es):</i> JOHN MCGARRITY CH ANDREAS KIENER CH BEAT SCHMIDT CH
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2000.10.25	(74) <i>Mandatário(s):</i> ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA PT RUA DAS FLORES 74 4/AND. 1294 LISBOA

(54) *Epígrafe:* PROCESSO PARA A PRODUÇÃO DE DERIVADOS DE DI-HIDROXIPYRIMIDINA

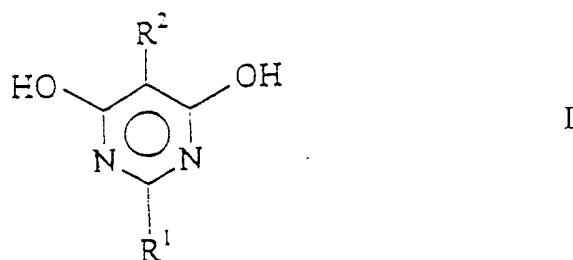
(57) *Resumo:*



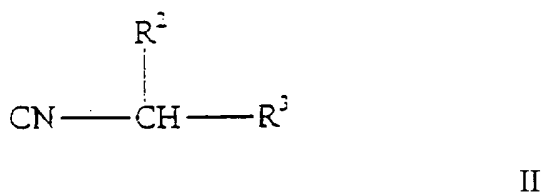
DESCRIÇÃO

“Processo para a produção de derivados de di-hidroxipirimidina”

O presente invento refere-se a um novo processo para a produção de derivados de di-hidroxipirimidina de fórmula geral



em que R^1 e R^2 são iguais ou diferentes, significando um átomo de hidrogénio, um grupo arilo ou alquilo C_1-C_4 , com base num composto de fórmula geral



em que R^2 tem o significado mencionado e R^3 significa $-CN$ ou $COOR^4$, onde R^4 é um grupo alquilo C_1-C_4 .

A di-hidroxipirimidina é um produto intermediário importante para a produção de insecticidas como, por exemplo, para a produção de ésteres de ácidos 4,6-pirimidino-di-il-bis-(tiono)(tiol)-fosfóricos(fosfónicos) (DE 25 23 324).

Até à data conhecem-se vários processos para a produção de di-hidroxipirimidina ou dos seus derivados.

Sabe-se, por exemplo, produzir di-hidroxipirimidina com base em diamida de ácido malónico (DE-PS 12 00 308). Neste caso, a diamida de ácido malónico é ciclizada para a di-hidroxipirimidina por meio de formamida na presença de etanolato de sódio. Este

processo tem o inconveniente de o produto de partida, a diamida de ácido malónico, ser relativamente caro.

D. J. Brown (*J. Chem. Soc.*, 1956, pp. 2312-2314) descreve também um processo para a produção de di-hidroxipirimidina que parte da diamida de ácido malónico. Neste caso, a diamida de ácido malónico é ciclizada para a di-hidroxipirimidina na presença de etóxido de sódio e formiato de etilo. Este processo tem, por um lado, o inconveniente de se obter a di-hidroxipirimidina apenas com um rendimento modesto. Por outro lado, o produto de partida, a diamida de ácido malónico é, como já foi dito anteriormente, relativamente caro.

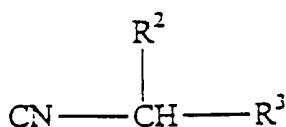
Em JP-4260 abrange-se um processo para a produção de di-hidroxipirimidina através de reacção de um malonato com formamida, na presença de um alcóxido de metal alcalino. Um inconveniente deste processo é o facto de ser necessário aplicar a formamida num excesso elevado.

Em US-PS 17 66 748 descreve-se um processo para a produção de 2-aril-4,6-di-hidroxipirimidinas que parte de malonato dietílico. Neste caso, o malonato de dietilo é ciclizado para o respectivo produto, na presença de uma amidina de um ácido arilcarboxílico. Este processo tem o inconveniente de as respectivas amidinas serem muito caras.

O problema a resolver pelo presente invento era o de disponibilizar um processo económica e ecologicamente mais favorável para a produção de derivados de di-hidroxipirimidina, no qual se pudesse isolar a di-hidroxipirimidina com um bom rendimento e boa pureza.

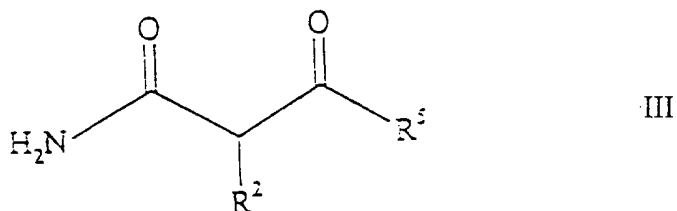
Este problema foi resolvido com o processo de acordo com o invento segundo a reivindicação 1.

Na primeira etapa processual transforma-se, como substrato, um composto de fórmula geral



II

em que R^2 e R^3 têm o significado mencionado, por meio de microrganismos do género *Rhodococcus*, num derivado de ácido malónico de fórmula geral



em que R^2 tem o significado mencionado e R^3 significa um grupo alcoxi C_1-C_4 ou NH_2 .

Os compostos da fórmula geral II como, por exemplo, cianoacetato de metilo ou de etilo são compostos disponíveis no mercado.

É conveniente realizar a primeira etapa com microrganismos da espécie *Rhodococcus rhodochrous*, *Rhodococcus sp.* 5-6 ou *Rhodococcus equi*, preferivelmente com microrganismos da espécie *Rhodococcus sp.* 5-6 (FERM BP-687), *Rhodococcus rhodochrous* J1 (FERM BP-1478) ou com microrganismos da espécie *Rhodococcus equi* TG328 (FERM BP-3791 ou DSM 6710, respectivamente). A transformação é realizada, especialmente, por meio de microrganismos da espécie *Rhodococcus rhodochrous* (FERM BP-1478). Os microrganismos das espécies *Rhodococcus sp.* 5-6, *Rhodococcus rhodochrous* J1 e *Rhodococcus equi* TG328 são microrganismos descritos na literatura especializada. O *Rhodococcus rhodochrous* J1 (FERM BP-1478) está descrito pormenorizadamente em EP-B 307 928, o *Rhodococcus sp.* 5-6 (FERM BP-687) em EP-A 0 188 316 e o *Rhodococcus equi* TG328 (FERM BP-3791) em US-PS 5 258 305.

Para o processo são também apropriados variantes e mutantes funcionalmente equivalentes destes microrganismos. Por "variantes e mutantes funcionalmente equivalentes" entendem-se microrganismos que possuem essencialmente as mesmas características e funções que os microrganismos originais. Variantes e mutantes deste género podem ser criados casualmente, por exemplo através de irradiação com raios ultravioletas.

Antes da biotransformação propriamente dita, os microrganismos são usualmente cultivados de acordo com EP-B 307 928, e as enzimas activas são induzidas. De preferência, a biotransformação é realizada com células de microrganismos imobilizadas de modo utilizado usualmente pelos peritos.

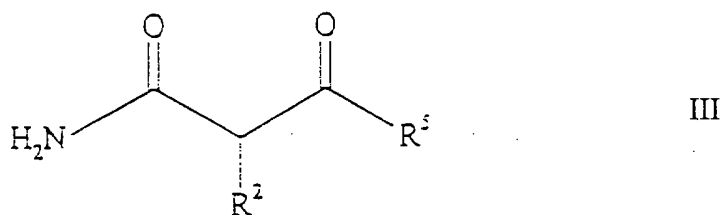
A biotransformação é realizada, convenientemente, num intervalo de pH 3 a 7, de preferência num intervalo de pH 4 a 6.

A biotransformação pode ser realizada a uma temperatura de 0 a 30°C, de preferência de 3 a 20°C.

Como substratos utilizam-se compostos de fórmula geral II, em que R^2 significa um átomo de hidrogénio, um grupo arilo ou alquilo C_1-C_4 , e R^3 -CN ou $COOR^4$, onde R^4 é um grupo alquilo C_1-C_4 . O grupo alquilo C_1-C_4 utilizado pode ser metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, i-butilo ou t-butilo. Como arilo pode utilizar-se, por exemplo, fenilo substituído ou não substituído, ou naftilo. De preferência, R^2 significa um átomo de hidrogénio e R^3 metilo, etilo, i-propilo ou -CN.

Após um tempo de reacção habitual de 1 a 100 horas, as amidas formadas podem ser isoladas de maneira simples, por exemplo através da separação de água.

Na segunda etapa processual, o derivado de ácido malónico de fórmula geral

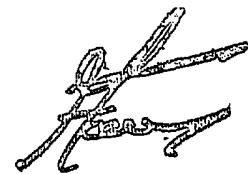


é ciclizado com uma amida de ácido carboxílico de fórmula geral



na presença de uma base, para o produto final de acordo com a fórmula I.

O radical R^5 significa um grupo alcoxi C_1-C_4 como, por exemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, i-butoxi, t-butoxi ou $-NH_2$. De preferência, R^5 significa metoxi ou etoxi. O radical R^2 tem a definição já descrita.



O radical R^1 significa alquilo C_1 - C_4 como, por exemplo, metilo, etilo, propilo, i-propilo, butilo, t-butilo, i-butilo ou um átomo de hidrogénio. De preferência, R^1 significa um átomo de hidrogénio.

É conveniente aplicar a amida de ácido carboxílico numa relação de 2 a 8 moles por mole de derivado de ácido malónico, de preferência numa relação de 2 a 3 moles.

Como base utiliza-se, convenientemente, um alcoolato de metal alcalino como, por exemplo, metanolato, etanolato, propanolato, butanolato, i-butanolato, t-butanolato, amilato ou i-amilato de sódio ou potássio. De preferência é utilizado metanolato de sódio.

A concentração da base pode variar num intervalo de 2 a 6 moles por mole de derivado de ácido malónico, de preferência num intervalo de 3 a 4 moles.

Como solventes para a segunda etapa podem ser utilizados solventes polares, como metanol, etanol, propanol ou butanol, utilizando-se de preferência metanol.

Convém realizar a segunda etapa a uma temperatura de 30°C até à temperatura de refluxo do respectivo solvente, de preferência à temperatura de refluxo do respectivo solvente.

Após um tempo de reacção adicional de 1 a 6 horas, o derivado de di-hidroxipirimidina da fórmula I pode ser isolado através de métodos de processamento usuais.

Exemplos

Exemplo 1

Produção de um monoéster de monoamida de ácido malónico (carbamoilacetato) com base em cianoacetato de metilo, cianoacetato de etilo e cianoacetato de isopropilo

Num recipiente de vidro equipado de um agitador magnético, foram incubados 200 ml de água, 0,62 g de biomassa J1 (FERM BP-1478) (calculada como peso sobre seco) e 50 g do respectivo cianoacetato durante 16 horas à temperatura ambiente. O valor de pH era cerca de 5. Através de análise por GC já não foi possível detectar, nesta altura, nenhum material de base. A biomassa foi removida por filtração, e a água foi eliminada do produto sob pressão reduzida. Vestígios de água foram removidos, a seguir, de forma azeotrópica



através da adição de tolueno ao resíduo. O rendimento do produto isolado era >90%, e a pureza dos carbamoilacetatos era, segundo GC, >95%. O carbamoilacetato de isopropilo precipitou, sob estas condições, durante a biotransformação a partir de uma solução aquosa. Neste caso, a suspensão foi, em primeiro lugar, aquecida a 50°C para dissolver o éster isopropílico, antes de remover a biomassa por filtração.

Exemplo 2

Influência do valor de pH na transformação de cianoacetato de metilo no carbamoilacetato de metilo

Para os ensaios utilizou-se um fermentador *Applikon* de 1 litro. A preparação de biotransformação continha 200 g de cianoacetato de metilo, 800 ml de água e 1,2 g de biomassa J1 (FERM BP-687) (calculada como peso sobre seco). O recipiente foi agitado a 200 rpm e a temperatura era de 12°C–17°C. Passadas 16 horas, a reacção foi terminada. Através de análise por GC já não foi possível detectar, nesta altura, nenhum material de partida. O valor de pH na preparação A não foi mantido constante e no fim da reacção caiu de um valor inicial de 5,7 para 4,7.

Na preparação B manteve-se o pH durante todo o tempo de reacção num valor constante de 8,0. Para este efeito utilizou-se solução de NaOH a 30%. O processamento foi realizado como descrito anteriormente.

Através de titulação pôde ser detectada, não apenas na preparação A como também na preparação B, uma quantidade significativa de carbamoilacetato de metilo. Ao contrário da preparação B, no entanto, o produto na preparação A era substancialmente mais puro.

Exemplo 3

Transformação de dinitrilo de ácido malónico em diamida de ácido malónico por meio de biomassa J1 (FERM BP-1478)

Num recipiente de vidro equipado de um agitador magnético, foram incubados 90 ml de água, 0,3 g de biomassa J1 (calculada como peso sobre seco) e 10 g de dinitrilo de ácido malónico durante 6 horas à temperatura ambiente. Através de análise por GC já não foi possível detectar, nesta altura, nenhum material de partida. A diamida de ácido malónico precipitou, sob estas condições, durante a biotransformação a partir de uma solução aquosa. A suspensão foi aquecida a 50°C para dissolver o produto, antes de remover a biomassa por filtração.

A água foi eliminada do produto sob pressão reduzida. O rendimento do produto isolado era >90% e a pureza da diamida de ácido malónico formada era >95% (GC).

Exemplo 4

Produção de di-hidroxipirimidina ($R^1 = R^2 = H$)

A uma solução de metilato de sódio (157,56 g; 875 mmol) foi adicionada formamida (26,43 g; 575 mmol) no espaço de 5 minutos à temperatura ambiente, subindo a temperatura da solução, por essa razão, até 28°C. A solução foi aquecida a refluxo (64°C) e mantida durante 15 minutos a esta temperatura. A esta solução a 64°C foi adicionado gota a gota, no espaço de 60 minutos, monoéster de monoamida de ácido malónico dissolvido em 30 ml de metanol. Formou-se, assim, pouco a pouco uma suspensão incolor. A suspensão facilmente agitável foi deixada em ebulição a refluxo durante 3 horas e, a seguir, arrefecida à temperatura ambiente. Foram adicionados 125 ml de água, de modo a que a temperatura fosse de aproximadamente 25°C. No fim da adição foi obtida uma solução ligeiramente amarela. O pH foi ajustado a 4.0 por meio da adição de 82,0 g de solução concentrada de HCl (a temperatura encontrava-se entre os 25 e 30°C). A suspensão foi agitada durante 15 minutos à temperatura ambiente, o sólido precipitado foi filtrado e 2 vezes lavado bem com 45 ml de água. O sólido amarelo claro foi seco na estufa de vácuo durante 24 horas a 60°C. Foram obtidos 22,67 g (teor de 97% segundo HPLC), correspondendo a um rendimento de 78,5%.

^1H RMN (DMSO_{d6}) δ : 5,22 (s, 1H);
8,05 (s, 1H);
11,5–12,2 (s largo, 2H).

^{13}C RMN (DMSO_{d6}) δ : 89,99;
149,90;
166,17.

Lisboa, 10. NOV. 2000

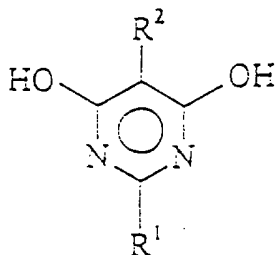
Por LONZA AG
- O AGENTE OFICIAL -
- ADJUNTO



ENG.º ANTÓNIO JOÃO
DA CUNHA FERREIRA
Ag. Of. Pr. Ind.
Rua das Flores, 74 - 4.º
1200 LISBOA

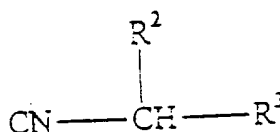
REIVINDICAÇÕES

1 – Processo para a produção de derivados de di-hidroxipirimidina de fórmula geral



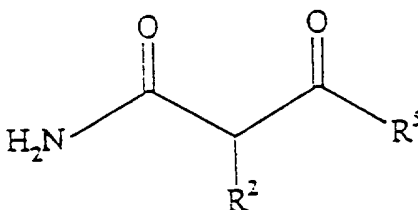
I

em que R^1 e R^2 são iguais ou diferentes significando um átomo de hidrogénio, um grupo alquilo C_1 - C_4 ou um grupo arilo, caracterizado por se transformar como substrato, na primeira etapa, um composto de fórmula geral



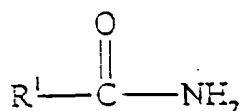
II

em que R^2 tem o significado mencionado e R^3 significa $-CN$ ou $COOR^4$, onde R^4 é um grupo alquilo C_1 - C_4 , por meio de microrganismos do género *Rhodococcus*, num derivado de ácido malónico da fórmula geral



III

em que R^2 tem o significado mencionado e R^5 significa um grupo alcoxi C_1 - C_4 ou $-NH_2$, e por se ciclar este composto, na segunda etapa, por meio de uma amida de ácido carboxílico da fórmula geral



IV

em que R¹ tem o significado mencionado, na presença de uma base, para o produto final de acordo com a fórmula I.

2 – Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por se realizar a transformação na primeira etapa por meio de microrganismos da espécie *Rhodococcus rhodochrous* ou suas variantes e mutantes funcionalmente equivalentes.

3 – Processo de acordo com a reivindicação 2, caracterizado por se realizar a transformação na primeira etapa por meio de microrganismos imobilizados da espécie *Rhodococcus rhodochrous* ou das suas variantes e mutantes funcionalmente equivalentes.

4 – Processo de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado por se realizar a transformação na primeira etapa a um pH de 3 a 7 e uma temperatura de 0 a 30°C.

5 – Processo de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado por se utilizar como composto da fórmula geral II, na primeira etapa, cianoacetato de metilo, cianoacetato de etilo, cianoacetato de isopropilo ou dinitrilo de ácido malónico.

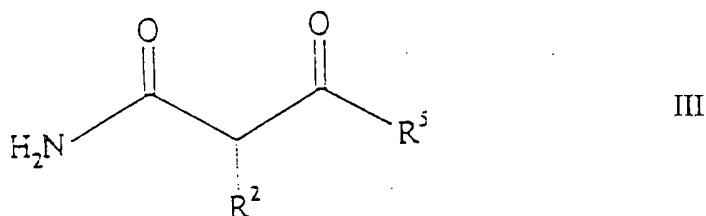
6 – Processo de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado por se utilizar como derivado de ácido malónico, na segunda etapa, éster monometílico de monoamida de ácido malónico ou éster monoetílico de monoamida de ácido malónico.

7 – Processo de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 6, caracterizado por se utilizar como amida de ácido carboxílico, na segunda etapa, formamida.

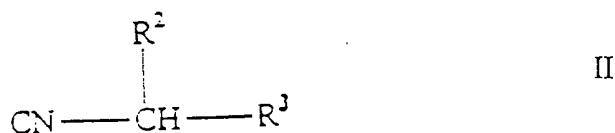
8 – Processo de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 7, caracterizado por se utilizar como base, na segunda etapa, um alcoolato de metal alcalino.

9 – Processo de acordo com pelo menos uma das reivindicações 1 a 8, caracterizado por se realizar a segunda etapa a uma temperatura desde 30°C até à temperatura de refluxo do respectivo solvente.

10 – Processo para a produção de derivados de ácido malónico de fórmula geral



em que R^2 e R^5 têm o significado dado na reivindicação 1, caracterizado por se transformar um composto da fórmula geral



em que R^2 e R^3 têm o significado indicado na reivindicação 1, por meio de microrganismos do género *Rhodococcus*, no derivado de ácido malónico de fórmula geral III.

11 – Processo de acordo com a reivindicação 10, caracterizado por se realizar a transformação a uma temperatura de 0 a 30°C e a um pH de 3 a 7.

Lisboa, 10. DEZ. 2000

Por LONZA AG
- O AGENTE OFICIAL -

ENG.º ANTÓNIO JOÃO
DA CUNHA FERREIRA
Ag. Of. Pr. Ind.
Rua dos Flores, 74 - 4.º
1200 LISBOA