



URAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

199501
(11) (B2)

(51) Int. Cl.³
C 07 C 99/00

(22) Přihlášeno 04 11 75
(21) (PV 7421-75)
(32) (31) (33) Právo přednosti od 08 11 74
(522185) Spojené státy americké
(40) Zveřejněno 17 09 79
(45) Vydáno 15 06 83

(72)

Autor vynálezu

DOLLING ULF-HELGE, GRABOWSKI EDWARD JOSEPH JOHN,
WESTFIELD, SCHOENEWALDT ERWIN FREDERICK, WATCHUNG
a SLETZINGER MEYER, NORTH PLAINFIELD (Sp. st. a.)

(73)

Majitel patentu

MERCK & Co., Inc., RAHWAY (Sp. st. a.)

(54) Způsob přípravy 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu

1

Vynález se obecně týká způsobu přípravy racemického 2-deutero-3-fluoralaninu a jeho solí, které jsou cennými meziprodukty pro přípravu 2-deutero-3-fluor-D-alaninu, jeho solí a esterů, které jsou účinnými antibakteriálními látkami inhibujícími růst bakterií jak gram-positivního, tak gram-negativního typu. Přesněji se vynález týká způsobu převádění 3-fluorpyrohroznové kyseliny, jejího hydrátu nebo solí na racemický 2-deutero-3-fluoralanin reduktivní aminací, při které se sůl 3-fluorpyrohroznové kyseliny nebo její hydrát podrobí reduktivní aminaci borodeuteridem alkalického kovu, přičemž přímo vzniká sůl racemického 2-deutero-3-fluoralaninu.

Předmětem vynálezu je způsob přípravy 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu, který se vyznačuje tím, že se sůl 3-fluorpyrohroznové kyseliny s alkalickým kovem nebo kovem alkalické zeminy nebo odpovídající hydrát nechá reagovat s vodným hydroxidem amoniakem, vzniklá sůl hydrátu 2-imino-3-fluorpropionové kyseliny se nechá popřípadě v přítomnosti katalysátoru, reagovat s borodeuteridem alkalického kovu a vzniklá směs se zpracuje kyselinou a vzniklý produkt se oddělí.

Reduktivní aminační reakce se výhodně provádí nejprve ekvilibrací solí hydrátu flu-

2

orpyrohroznové kyseliny (např. lithné soli 2,2-dihydroxy-3-fluorpropionové kyseliny) ve vodném amoniakálním roztoku za tvorby odpovídající soli hydrátu 2-imino-3-fluorpropionové kyseliny (např. lithné nebo sodné soli 2-hydroxy-2-amino-3-fluorpropionové kyseliny); rovnovážný poměr hydratovaného iminu vzniklého tímto způsobem k hydratovanému výchozímu materiálu, (to jest 2,2-dihydroxy-3-fluorpropionátu), je funkcí koncentrace amoniaku a v koncentrovaném vodném amoniaku (13 N) je poměr přibližně 95:5. I když to není obvykle výhodné, mohou se použít nižší koncentrace vodného amoniaku, například při použití 6,5 N vodného roztoku amoniaku je rovnovážný poměr asi 90:10. Při redukci tato směs nutně vede k nižšímu výtěžku 2-deutero-3-fluoralaninu a k vyššímu množství 2-deutero-3-fluorlaktátu, vznikajícímu jako vedlejší produkt. Ekvilibrace při 37 °C je reakce pseudoprvého řádu s poločasem 15 minut, při ekvilibraci 90 minut při 37 °C proběhne šest poločasů a účinný poměr hydratovaného iminu k hydratovanému pyruvátu je 95:5. I když se hydratovaná sůl 2-imino-3-fluorpropionové kyseliny neisoluje z roztoku vodného amoniaku, je její přítomnost snadno prokazatelná měřením NMR) nukleární magnetická rezonance).

Hydratovaný imin (2-hydroxy-2-amino-3-fluorpropionát) je sám v rovnováze za ztráty vody s minoritním množstvím „2-iminu“ (2-imino-3-fluorpropionát) a hydratovaný pyruvát (2,2-dihydroxy-3-fluorpropionát) je stejně v rovnováze za ztráty vody s minoritním množstvím „2-ketonu“ nebo „krabonylu“ (to jest fluorpyruvátu nebo 2-keto-3-fluorpropionátu). Při redukci borodeuteridem alkalického kovu se redukuje „2-imin“ nebo „karbonyl“ (nehidratované formy). Při redukci „iminu“ a „karbonylu“ se hydratovaný imin a karbonyl rychle převádějí na imin a karbonyl. Nález, že „2-imin“ se může úspěšně redukovat na „2-amin“ při použití borodeuteridu alkalického kovu, a zejména, že se tato redukce může provádět ve vodném roztoku v přítomnosti koncentrovaného vodného amoniaku, je skutečně překvapující.

Navíc požadovaná redukce iminu za vzniku 2-deutero-3-fluoralaninu probíhá daleko pomaleji než redukce karbonylu na 2-deutero-3-fluorlaktát. Koncentrovaný vodný amoniak se tedy běžně používá pro původní ekvilibraci, aby se dosáhlo nejvyššího poměru hydratovaného iminu vůči hydratovanému pyruvátu, to jest (95 : 5), a redukce se provádí co možno nejrychleji relativně k rychlosti opačné ekvibrace hydratovaného iminu k hydratovanému pyruvátu. Opačná ekvibrace hydratovaného iminu na hydratovaný pyruvát nutně probíhá, jestliže se karbonylová skupina působením rychlé redukce přednostně odstraňuje z reakční směsi. Rychlé redukce se může dosáhnout použitím velkého (až do pětinásobného) přebytku borodeuteridu alkalického kovu jakožto redukčního činidla.

S výhodou se však používá pouze malý (to je 50%) přebytek drahého borodeuteridového redukčního činidla a za těchto podmínek rychlost redukce iminu se sníží a opačná ekvibrace může probíhat do značného stupně a tvorba nežádoucího vedlejšího produktu 2-deutero-3-fluorlaktátu se může značně zvýšit. Výhodný rys vynálezu spočívá v tom, že nežádoucí opačná ekvibrace může být minimální i při použití pouze 50% přebytku borodeuteridového redukčního činidla. Toho se může dosáhnout přidáváním borodeuteridového redukčního činidla k ekvilibrovanému roztoku a pak se z roztoku rychle odpaří přebytek amoniaku. Při vzniklém sníženém pH (odpovídajícím podstatnému odstranění amoniaku) probíhá redukce extrémně rychle. Jeden rys vynálezu spočívá v tom, že odpařování amoniaku probíhá dostatečně rychle, aby se tak značně zrychlila účinnost redukce borodeuteridem a veškerý imin se redukoval na amin ještě dříve, než může proběhnout zpětná ekvibrace hydratovaného iminu na hydratovaný pyruvát (která by jinak proběhla při takto snížené koncentraci amoniaku). Zatímco při použití zařízení pro odpařování v baňce lze výše uvedených parametrů snadno dosáhnout při teplotě místnosti nebo vyšší, bylo nyní nalezeno, že při

použití jednotlivých násad je výhodné „zmrazit“ rovnováhu na 9,5 dílu hydratovaného iminu a 5 dílech hydratovaného pyruvátu v koncentrovaném vodném amoniaku ochlazením směsi na 10 °C, při kterém se poločas ekvibrace (který je 15 minut při 37 °C) zvýší asi na 5 hodin. Pak se borodeuteridové redukční činidlo přidá k studenému roztoku. I když v takto koncentrovaném vodném amoniakálním roztoku je při 10 °C rychlost redukce iminu borodeuteridem relativně nízká, zvýší se rychlost redukce (při použití této nízké teploty a malého přebytku borodeuteridového redukčního činidla) značně odpařením přebytečného amoniaku (tak, že redukce iminu na amin, to jest 2-deutero-3-fluor-DL-alanin, probíhá pouze během deseti minut). Toto odpaření se provádí za sníženého tlaku, přičemž se teplota udržuje asi na 10 °C. Tato reakce se může katalyzovat a výtěžek 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu se může dosti značně zvýšit přidáním solí, jako jsou lithné nebo sodné soli, například chlorid lithný nebo chlorid sodný, k reakční směsi při redukci.

Výhodný postup podle vynálezu, který účinně spojuje výše uvedené rysy, zahrnuje: a) ekvilibraci soli fluorpyruvátu, s výhodou soli s alkalickým kovem nebo kovem alkalické zeminy, jako je fluorpyruvát vápenatý, fluorpyruvát sodný nebo hydrát fluorpyruvátu lithného (zejména se s výhodou používá nový hydrát fluorpyruvátu lithného, který je na rozdíl od ostatních fluorpyruvátů alkalických kovů relativně nerozpustný ve vodě a připravuje se nyní nalezeným postupem v čisté formě a ve vysokém výtěžku), v koncentrovaném vodném amoniaku, s výhodou při teplotě asi 37 °C, a při této teplotě se získá během 90 minut poměr 95 : 5 hydratovaného iminu k hydratovanému pyruvátu; b) přidání borodeuteridu alkalického kovu, jako je borodeuterid sodný, borodeuterid lithný apod., po ochlazení na 10 °C, popřípadě k „zamrzlé“ rovnovážné směsi; c) odpaření přebytku amoniaku takovou dostatečnou rychlostí, aby se urychlila redukce borodeuteridem iminu na amin oproti opačné ekvibraci za vzniku hydratovaného pyruvátu; při výhodné teplotě 10 °C se poločas ekvibrace zvýší na 5 hodin, zatímco úplná redukce iminu na amin probíhá během 10 minut. Redukce se může popřípadě provádět při teplotě místnosti nebo výše, aniž se odpařuje přebytek amoniaku z koncentrovaného vodného roztoku amoniaku, ale tento postup vede k horšímu výtěžku. Soli, jako je chlorid lithný nebo chlorid sodný, které katalysují redukci a zvyšují výtěžek 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu, se mohou popřípadě přidávat do reakční směsi.

Po reakci reduktivní aminace se reakční směs odpařuje ve vakuu, pokud destiluje voda, přičemž se v podstatě odstraní veškerý přítomný amoniak, neboť zbylé amonné ionty vadí při čištění na koloně silikagelu. Amoniak zbavený reakční roztok se pak okyse-

lí vodnou minerální kyselinou, jako je vodná kyselina chlorovodíková, přičemž se štěpí komplex boru s 2-deutero-3-fluoralaninem vzniklý během reduktivní aminace. Okyselená reakční směs se s výhodou zbaví popřípadě přítomných nečistot působením aktivního uhlí a pak se nechá projít sloupcem

předem kyselinou vymytého silně kyselého iontoměníče, jako je Dowex 50W-X4 nebo Dowex 50W-X8 (Dowex 50W-X4 je silně kyselý iontoměníč obsahující sulfonovaný styren-divinylbenzenový kopolymer, obsahující 4 % divinylbenzenu o velikosti 20–50 mesh, Dowex 50W-X8 je obdobný Dowexu 50W-X4, a bádání se tak požadovaný 2-deutero-3-fluoralanin od vedlejšího produktu fluormléčné kyseliny a kationtů kovů. Iontoměníčová kolona, obsahující absorbovaný 2-deutero-3-fluoralanin, se promývá deionizovanou vodou, až eluát není kyselý, a kolona se pak eluuje zředěným vodným hydroxidem amonným, přičemž amonné ionty nahradí 2-deutero-3-fluoralanin na koloně pryskyřice. Eluát se pak odpaří ve vakuu, přičemž se odstraní veškerý přítomný amoniak z eluátu, barevný roztok se odbarví aktivním uhlím, odbarvený roztok se odpaří ve vakuu a zbylý materiál se krystaluje z vodného alkanolu, s výhodou vodného isopropanolu, a získá se 2-deutero-3-fluoralanin v podstatě v čisté formě.

Následující příklady objasňují metodu podle vynálezu, rozumí se však, že příklady jsou uvedeny pouze pro objasnění a vynález žádným způsobem neomezuje.

Příklad 1

K asi 150 ml koncentrovaného vodného hydroxidu amonného se za dobrého míchání přidá při teplotě místnosti 18,35 g hydrátu fluorpyruvátu lithného, který se může připravit výše uvedeným způsobem. Vzniklá suspence se zahřívá asi na 35–37 °C (přičemž se veškerý pevný podíl rozpustí) a roztok se udržuje 1,5 hodiny na této teplotě. Vzniklý roztok, který může být temně zbarvený, se ochladí asi na 10 °C a k tomuto roztoku se přidá 1,785 g borodeuteridu sodného. Vzniklý roztok se ve vakuu za míchání a za intenzivního zavádění dusíku pod povrch zbaví amoniaku. Teplota roztoku se udržuje na 10 až 13 °C po dobu asi jedné hodiny, pak se postupně nechá během jedné hodiny vystoupit asi na 25 °C a udržuje se na 28 až 33 °C po dobu 1,5 hodiny. Reakční roztok se odpařuje ve vakuu při 35 °C dokud destiluje voda a roztok je téměř zbaven amoniaku. Vzniklý roztok se okyselí asi 80 ml 2,5 N vodné kyseliny chlorovodíkové. Okyselený reakční roztok se míchá asi s 2,5 g aktivního uhlí (Darco KB) po dobu asi 15 min., načež se přefiltruje.

Přefiltrovaný roztok se pomalu proleje kolonou obsahující 850 ml silně kyselého ion-

toměníče (Dowex 50W-X4), předem promytého kyselinou. Kolona se promývá deionizovanou vodou tak dlouho, až eluát není kyselý (asi 4 litry vody), a kolona se pak eluuje 0,5 N vodným roztokem hydroxidu amonného. Frakce pozitivní na ninhydrin se spojí a odpaří ve vakuu při teplotě nepřevyšující 30 °C a získá se asi 400 ml roztoku prostého amoniaku. Tento roztok se míchá při teplotě místnosti s 2,5 g aktivního uhlí (Darco KB), uhlí se odfiltruje, přefiltrovaný roztok se znovu míchá s dalším 1,5 g aktivního uhlí a suspence se znovu filtruje. Přefiltrovaný roztok se odpaří ve vakuu k suchu při teplotě, která nepřevyšuje 30 °C. Získá se asi 7,3 g surového materiálu.

Tento materiál se rozpustí v 33 ml vody při teplotě asi 60 °C, přidá se asi 27 ml isopropanolu, přehřátého na 60 °C, a vodný isopropanolový roztok se naočkuje krystaly 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu a vzniklá směs se pomalu ochladí nejprve na teplotu místnosti a pak asi na 0 °C. Krystalická suspence se nechá stát při 0 °C po dobu 1 až 2 hodin, suspence se přefiltruje a krystalický materiál se na filtru promyje dvěma 5 ml dávkami 90% vodného amoniaku, pak 5 ml dávkami isopropanolu a nakonec hexanem. Promytý materiál se vysuší ve vakuu při teplotě 50–60 °C a získá se 5,6 g 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu.

Příklad 2.

Směs 1,79 g (13 mmol) hydrátu fluorpyruvátu lithného a 19,5 ml 6,5N vodného amoniaku se udržuje na 37 °C, míchá se dvě hodiny, ochladí se na 25 °C a k ochlazenému roztoku se přidá 600 mg (13,8 mmol) chloridu lithného a 231 mg (5,5 mmol) borodeuteridu sodného. Vzniklý roztok se zahřívá dvě hodiny na 37 °C.

Reakční směs se odpaří ve vakuu, aby se odstranil přebytečný amoniak, okyselí se 10 ml 2,5N kyselinou chlorovodíkovou a roztok se odbarví působením 0,2 g aktivního uhlí (Darco KB). Odbarvený roztok se nanese na kolonu 100 ml silně kyselého iontoměníče (DOWEX 50W-X8) v kyselém cyklu, kolona se promyje 500 ml destilované vody a produkt se eluuje 0,5N roztokem vodného amoniaku. Frakce pozitivní na ninhydrin se spojí a odpaří ve vakuu k suchu. Zbylý materiál se rozpustí asi v 3,6 ml vody při 60 °C a krystaluje přidáním 2,3 ml isopropanolu. Vzniklá krystalická suspence se nechá stát při teplotě 0–5 °C po dobu jedné hodiny, přefiltruje se a bílý krystalický produkt vysušením ve vakuu poskytne 0,5 g v podstatě čistého 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu.

Hydrát fluorpyruvátu lithného, použitý jako výchozí materiál v příkladech 1 a 2, se může připravit následujícím způsobem: Směs 400 ml ethyletheru a 240 ml 5N vodné kyseliny chlorovodíkové se ochladí na teplotu asi –15 až –20 °C. K této směsi se přidává za dobrého míchání a v atmosféře dusíku asi

138 g sodné soli ethylethoxalyfluoracetátu, zbavené hrudek, a to takovou rychlostí, aby se teplota udržovala asi na -15 až -20°C . Po skončení přidávání se směs ohřeje na teplotu místnosti, zředí se 240 ml vody a vodná etherická směs se zahřívá za atmosférického tlaku a ether se destiluje, až teplota vodného roztoku dosáhne asi 102 – 105°C .

Vzniklý vodný roztok se pak zahřívá k varu po dobu asi 4 hodin. Reakční roztok se ochladí na teplotu místnosti, míchá se asi s 6 g aktivního uhlí (Darco G-60), přefiltruje se přes kyselinou promytou diatomickou hliniku (Supercel) a nerozpustný materiál na filtru se promyje minimálním množstvím vody. Přefiltrovaný roztok se ochladí na asi 0 až 5°C , neutralizuje se za kontroly pH

dáním pevného hydrátu hydroxidu lithného (asi 47 g $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$), až se získá konečné pH 6,0 a 6,5. Vzniklá neutralizovaná suspenze se nechá stát při 0°C po dobu asi 15 hodin. Vysrážený materiál se odfiltruje, promyje minimálním množstvím studené vody, pak dvěma 200 ml dávkami methanolu a pak dvěma 200 ml dávkami acetonu. Vzniklý materiál se vysuší na vzduchu a získá se asi 56 g hydrátu fluorpyruvátu lithného.

Při postupu podle vynálezu je možno provádět různé změny, aniž dochází k odchýlení od rozsahu vynálezu. Pokud tyto změny a modifikace spadají do rozsahu uvedených bodů předmětu vynálezu, považují se za součást vynálezu.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob přípravy 2-deutero-3-fluor-DL-alaninu, vyznačený tím, že se sůl 3-fluorpyrohroznové kyseliny s alkalickým kovem nebo kovem alkalické zeminy nebo odpovídající hydrát nechá reagovat s vodným hydroxidem amonným, vzniklá sůl hydrátu 2-imino-3-fluorpropionové kyseliny se nechá, popřípadě v přítomnosti katalysátoru, reagovat s borodeuteridem alkalického kovu a vzniklá směs se zpracuje kyselinou a vzniklý produkt se oddělí.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se jako výchozí sloučenina použije hydrát lithné soli 3-fluorpyrohroznové kyseliny.

3. Způsob podle bodu 1 nebo 2, vyznačený tím, že se jako borodeuterid alkalického kovu použije borodeuterid sodný.

4. Způsob podle bodů 1 až 3, vyznačený tím, že se jako katalysátor použije chlorid sodný nebo chlorid lithný.

5. Způsob podle bodů 1 až 4, vyznačený tím, že se reakce s vodným hydroxidem amonným provádí při teplotě 37°C .

6. Způsob podle bodů 1 až 5, vyznačený tím, že směs získaná při reakci soli 3-fluorpyrohroznové kyseliny s alkalickým kovem nebo kovem alkalické zeminy nebo odpovídajícího hydrátu a vodného roztoku hydroxidu amonného se ochladí na teplotu 0 až 20°C , ke směsi se přidá borodeuterid alkalického kovu a při teplotě 0 až 20°C se za tlaku 1,3 až 26,6 kPa odstraní ze směsi přebytek amoniaku a vzniklá směs se ponechá 10 minut při téže teplotě, načež se vzniklá směs zpracuje kyselinou a vzniklý produkt se oddělí.

7. Způsob podle bodů 1 až 6, vyznačený tím, že se borodeuterid alkalického kovu použije v 1,5násobném molárním přebytku.