

PŘÍHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **18.01.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **28.01.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/10003586**

(33) Země priority: **DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16.10.2002**
(Věstník č. 10/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/EP01/00523**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/55175**

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 2583

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 K 5/09

C 07 K 5/065

A 61 K 38/06

(71) Přihlašovatel:

**AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH,
Frankfurt, DE;**

(72) Původce:

**Breipohl Gerhard, Frankfurt, DE;
Holla Wolfgang, Kelkheim, DE;
Jendralla Heiner, Frankfurt, DE;
Beck Gerhard, Frankfurt, DE;**

(74) Zástupce:

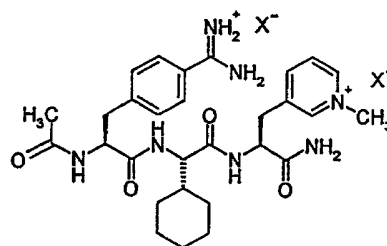
Kubát Jan Ing., Přístavní 24, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Způsob přípravy acetyl-amidiniofenylalanyl-
cyklohexyl-glycylpyridinioalaninamidů**

(57) Anotace:

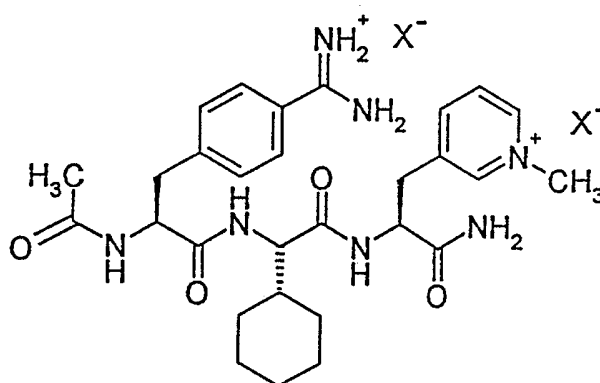
Řešení se týká způsobu přípravy acetyl-amidiniofenylalanyl-cyklohexylglycyl-pyridinioalaninamidů obecného vzorce I, ve kterém aniont X je fyziologicky použitelným aniontem a jejich analogů, které jsou účinnými inhibitory krevního koagulačního faktoru Xa a které se mohou použít například pro prevenci trombóz. Způsob podle řešení zahrnuje kondenzaci 2-[2-acetylamino-3-(4-amidiniofenyl)propionylamino]-2-cyklohexyloctové kyseliny, která se získá asymetrickou hydrogenací 2-[2-acetylamino-3(4-kyanofenyl)akryloylamino]-2-cyklohexyloctové kyseliny a převedením kyanoskupiny na amidin nebo její sůl, s 3-(2-amino-2-karbamoylethyl)-1-methyl-pyridiniovou solí nebo s její solí. Řešení se dále týká výchozích materiálů pro tento postup a pro přípravu acetyl-(S)-4-amidiniofenylalanyl-(S)-cyklohexylglycyl-(S)-(1-methyl-3-pyridinio)alaninamidu ve formě ditosylátu.



180754/KB

Způsob přípravy acetyl-amidiniofenylalanyl-cyklohexylglycyl-pyridinioalaninamidů

Vynález se týká způsobu přípravy acetyl-amidiniofenylalanyl-cyklohexylglycyl-pyridinioalaninamidů obecného vzorce I



ve kterém anionty X jsou fyziologicky použitelné anionty a jejich analogů, které jsou účinnými inhibitory krevního koagulačního faktoru Xa a které se mohou použít pro prevenci trombózy. Způsob zahrnuje kondenzaci 2-[2-acetylamino-3-(4-amidinofenyl)propionylamino]-2-cyklohexyloctové kyseliny, která se připraví z 2-[2-acetylamino-3-(4-kyanofenyl)-akryloylamino]-2-cyklohexyloctové kyseliny asymetrickou hydrogenací a konverzí kyanoskupiny na amidinoskupinu nebo její sůl, s 3-(2-amino-2-karbamoylethyl)-1-methylpyridiniovou solí nebo s její solí. Vynález se dále týká výchozích materiálů a meziproductů používaných při tomto postupu, způsobu jejich přípravy a acetyl-(S)-4-amidiniofenylalanyl-(S)-cyklohexylglycyl-(S)-(1-methyl-3-pyridinio)alaninamidu ve formě di-p-toluensulfonátové soli.

Dosavadní stav techniky

V určitých klinických situacích, jako je například závažná žilní trombóza, vysoké riziko infarktu myokardu, stabilizovaná nebo nestabilizovaná angina pectoris, poruchy systému krevní koaglace a tvorba trombóz, mohou vést k smrtelným událostem. Avšak při prevenci trombóz není žádoucí inhibovat krevní koagulaci nadbytečně nebo dokonce úplně, protože to by mohlo vést k život ohrožujícímu krvácení. Koagulační inhibitory, které se v současné době používají, jako je heparin, aspirin nebo hirudin nemají optimální profil vlastností, protože mohou způsobovat komplikace při krvácení a v některých uvedených klinických situacích nejsou schopné bránit žilní okluzi. Pokusy se zvířaty ukázaly, že specifické inhibitory krevního koagulačního enzymu faktoru Xa preventivně spolehlivě brání tvorbě krevních sraženin, aniž by došlo ke krvácení, jak bylo pozorováno při použití přímých trombinových inhibitorů. Sloučeniny obecného vzorce I a jejich analogy jsou specifickými a vysoce účinnými inhibitory faktoru Xa, které jsou účinné pro intravenosní, podkožní nebo orální aplikace.

Sloučeniny obecného vzorce I a jejich analogy jsou popsány v WO-A-95/29189 a v odpovídajícím U.S. Pat. No. 5,849,510. Podle WO-A-95/29189, se tyto sloučeniny připravují syntézou na pevné fázi použitím techniky chránicích skupin, při které se 3-pyridylalanin kondezkuje s pryskyřicí za použití Knorrova spojení a pak se kondezkuje s cyklohexylglycinem, pyridinový atom dusíku se kvaternizuje, dipeptid se kondenzuje s acetyl-4-amidinofenylalaninem, připraveným z 4-kyano-fenylalaninu, a produkt se po odštěpení z pryskyřice čistí chromatografií. Tento postup na pevné fázi je nevhodný pro přípravu kilogramových množství, které jsou potřeba pro

vývojové práce, jako jsou toxikologické a klinické studie, nebo pro syntézu v průmyslovém měřítku.

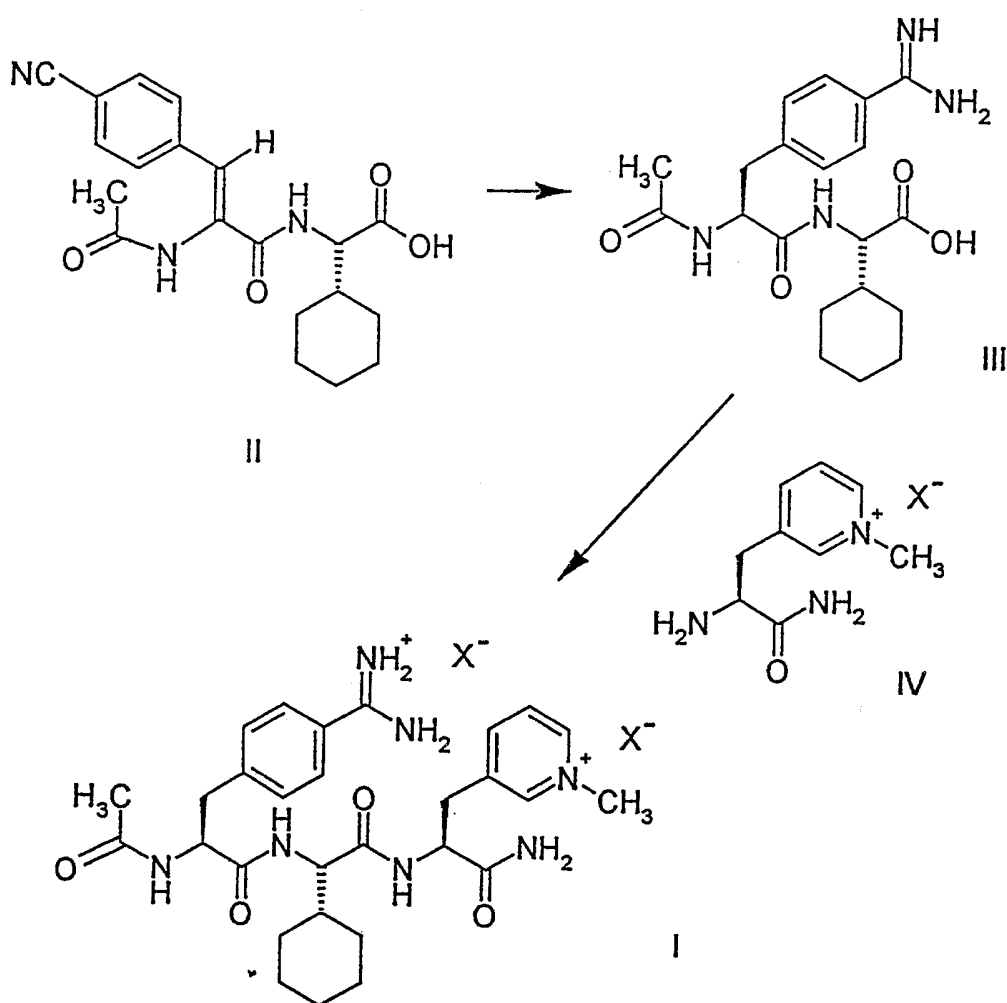
Farmaceuticky aktivní sloučenina je použitelná jako vývojový produkt a dále pro aplikaci pacientům pouze v tom případě, že se sloučenina může připravovat v požadovaném měřítku a s odpovídající čistotou, přičemž čistota, v případě, že sloučenina má asymetrická centra, zahrnuje také zejména stereochemickou čistotu. Sloučeniny obecného vzorce I obsahují peptidický dikationt s pozitivním nábojem v amidiniové skupině a N-methylpyridiniové skupině. Ze sloučenin obecného vzorce I s různými anionty X, jako jsou acetáty, chloridy, fumaráty, benzoáty, tartaráty, maleáty, trifluoracetáty, tosyláty, sulfáty nebo pamoáty, bylo nalezeno, že pouze trifluoracetátová sůl (sloučenina vzorce I, kde $X^- = CF_3CO_2^-$) je krystalická. Avšak termální stabilita trifluoracetátové soli je nedostatečná, poločas je nevyhovující a tato sůl je z fyziologického hlediska méně výhodná pro dlouhodobé použití. Rengenové práškové diagramy všech ostatních solí sloučeniny I ukázaly, že tyto jsou všechny amorfni. Amorfni stav všech ostatních solí je značným problémem při přípravě sloučeniny vzorce I v poměrně velkém měřítku, neboť není možná rekrystalizace a frakční srážení solí je jedinou možnou metodou použitelnou při přípravě ve velkém měřítku. Avšak čistící účinnost srážení je samozřejmě podstatně nižší než krystalizace a proto je nutné připravovat surový produkt vzorce I s vhodným aniontem X reakcí, která probíhá co možno nejhladčeji, tak aby konečný produkt poskytl frakčním srážením klinicky použitelný produkt. Avšak, srážecí postup musí být také přijatelný z hlediska faktorů, jako jsou výtěžek, počet stupňů a dostupnost a cena výchozích materiálů

Postup pro přípravu sloučenin vzorce I, které se nepřipravují postupem na pevné fázi je popsán v WO-A-97/22712.

V tomto postupu se tři jednotky aminokyselin obsažené ve sloučeninách vzorce I spojí ve stejném pořadí jako v postupu podle WO-A-96/29189. (S)-3-pyridylalanin, chráněný na aminoskupině terc-butoxykarbonylovou skupinou (Boc), se nejprve převede na amid, který se pak po odstranění chránicí skupiny kondenzuje s (S)-N-Boc-cyklohexylglycinem, chránicí skupina se odstraní, dipeptid se kondenzuje s acetyl-(S)-4-kyanofenylalaninem a kyanoskupina ve vzniklém tripeptidu převede reakcí se sirovodíkem, methyljodidem a amoniakem na amidin, a atom dusíku v pyridinu se kvaternizuje. Produkt se izoluje ve formě soli s trifluoroctovou kyselinou odpařením reakčního roztoku získaného v posledním rozpuštění odparku, přidáním kyseliny trifluoroctové, filtrací a mrazovou sublimací. Avšak bylo nalezeno, že čistota produktu získaného tímto postupem, včetně stereochemické čistoty nesplňuje požadavky a nutné je komplikované chromatografické čištění, které zahrnuje značné ztráty a je nepoužitelné při výrobě ve velkém měřítku. Aby se bylo možno vyhnout námitkám z fyziologického hlediska s ohledem na trifluoracetátový aniont, je dále nutné převést produkt na různé sole použitím iontoměničové chromatografie. Navíc má postup značné technické nevýhody, například použitím rozpouštědel jako je diethylether nebo hexan a použitím tří nákladných výchozích materiálů (malá množství tří enantiomericky čistých nepřírodních α -amino kyselin (S)-3-pyridylalaninu, (S)-cyklohexylglycinu a (S)-4-amidinofenylalaninu (nebo (S)-4-kyanofenylalaninu; přičemž amidinoskupina se může připravit z kyanoskupiny) obsažených jako stavební jednotky ve sloučeninách vzorce I a které jsou obchodně dostupné, ale jsou velmi nákladné). Proto existuje stále potřeba pro hladce proveditelný postup přípravy sloučenin obecného vzorce I, které by měly vhodný anion X.

Podstata vynálezu

Vynález se týká způsobu přípravy sloučenin vzorce I, který se vyznačuje tím, že se katalyticky hydrogenuje a převede kyanoskupina ve sloučenině vzorce II na amidinoskupinu ve sloučenině vzorce III nebo její soli s kyselinou HX načež se sloučenina vzorce III nebo její sůl nechá reagovat se sloučeninou vzorce IV nebo s její solí s kyselinou HX a získá se sloučenina vzorce I, ve které anionty X jsou anionty fyziologicky použitelných aniontů.

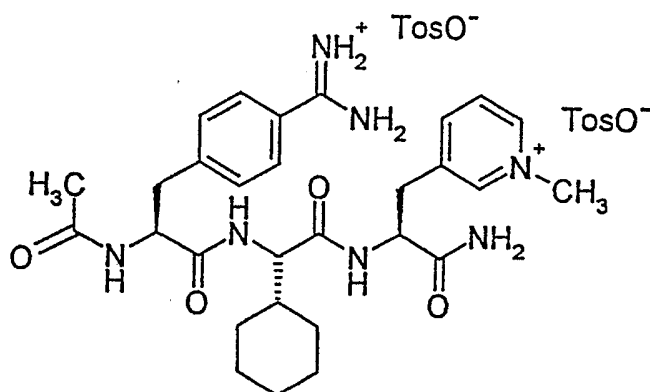


Zatímco ve známých postupech je molekula vzorce I konstruována kondenzací C-terminálního dipeptidu pyridylalaninu a cyklohexylglycinu s N-terminální aminokyselinou amidinofenylalaninu (nebo kyanofenylalaninu), pak v postupu podle tohoto vynálezu se molekula syntetizuje kondenzací N-terminálního dipeptidu amidinofenylalaninu a cyklohexylglycinu s C-terminální aminokyselinou pyridylalaninu. Navíc v postupu podle tohoto vynálezu v dipeptidu, který se používá pro tuto kondenzaci je strukturní jednotka CH-CO-NH-CH-CO , která má dvě centra chiralit, které jsou citlivé k epimerizaci, nevzniká kondenzační reakcí dvou chirálních α -aminokyselin, jak je tomu ve známých postupech, ale asymetrickou hydrogenací. V postupu podle tohoto vynálezu je peptidická kondenzace čistá a kvantitativní a používají se levná reakční činidla. Epimerizace je velmi nízká. Sloučeniny vzorce I se získají ve vysokém výtěžku, vysoké chemické a stereochemické čistota se získá frakčním srážením. Chromatografické čištění nebo jiné nákladné a komplikované technologie, jako je mrazová sublimace nejsou pro dosažení požadované čistoty nutné.

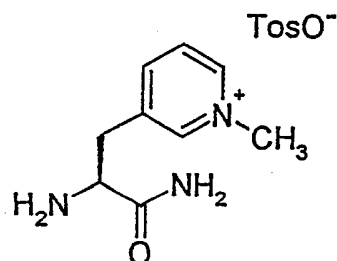
Tento vynález se také týká postupů, které jsou analogické výše popsanému postupu a ve kterých použitím výchozích materiálů s různou konfigurací se připraví stereoisomery sloučenin vzorce I, například sloučeniny, ve kterých centrum chiralit v amidinofenylalaninové jednotce má (R)-konfiguraci a/nebo centrum chiralit v cyklohexylglycinové jednotce má (R)-konfiguraci a/nebo centrum chiralit v pyridylalaninové jednotce má (R)-konfiguraci, nebo sloučeniny ve kterých jedno nebo více center chiralit je přítomno ve formě (RS)-směsí. Vynález se dále týká postupů, které jsou analogické výše popsaným postupům a ve kterých se použitím příslušných výchozích materiálů připraví analoga sloučenin vzorce I (a jejich stereoisomery, například sloučeniny ve kterých místo

methylové skupiny na kvarternárním pyridínovém atomu dusíku je alkylová skupina s 1 až 4 atomy uhlíku, přičemž příklady alkylových skupin s 1 až 4 atomy uhlíku jsou methylová skupina, ethylová skupina, n-propylová skupina, isopropylová skupina, n-butylová skupina, isobutylová skupina a terc-butylová skupina.

Fysiologicky použitelné anionty X ve sloučeninách I a IV a v kyselině HX mohou být, například, chloridy, bromidy, jodidy, methansulfonáty, toluen-4-sulfonáty, acetáty, benzoáty a jiné. V případě polyvalentních aniontů, jako je například sulfát je aniontem X ekvivalent. X je s výhodou takový aniont, proti kterému nejsou námitky z fyziologického hlediska i když se sloučenina vzorce I používá v relativně vysokých dávkách a po relativně dlouhou dobu a/nebo které poskytují sloučeninám vzorce I výhodné vlastnosti z hlediska farmaceutického zpracovávání a farmakologického účinku, například, rozpustnosti ve vodě a/nebo které poskytují sloučeninám vzorců I a I výhodné vlastnosti z hlediska technického provedení postupu podle vynálezu, jako je například jednoduchost postupu, vhodná rozpustnost v použitých rozpouštědlech a fakt, že se sloučeniny snadno sráží a snadno filtrují a podobně. Ve výhodném konkrétním provedení podle tohoto vynálezu je X toluen-4-sulfonát (= 4-methylbenzensulfonát = $\text{CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{-SO}_3^-$ = tosylát = TosO^-) nebo jodid; zejména ve výhodném konkrétním případě je X toluen-4-sulfonát. Tak v zejména výhodném konkrétním provedení postupu podle vynálezu se vynález týká přípravy sloučeniny vzorce I ve formě ditosylátové soli, to je sloučeniny vzorce Ia,



Ia

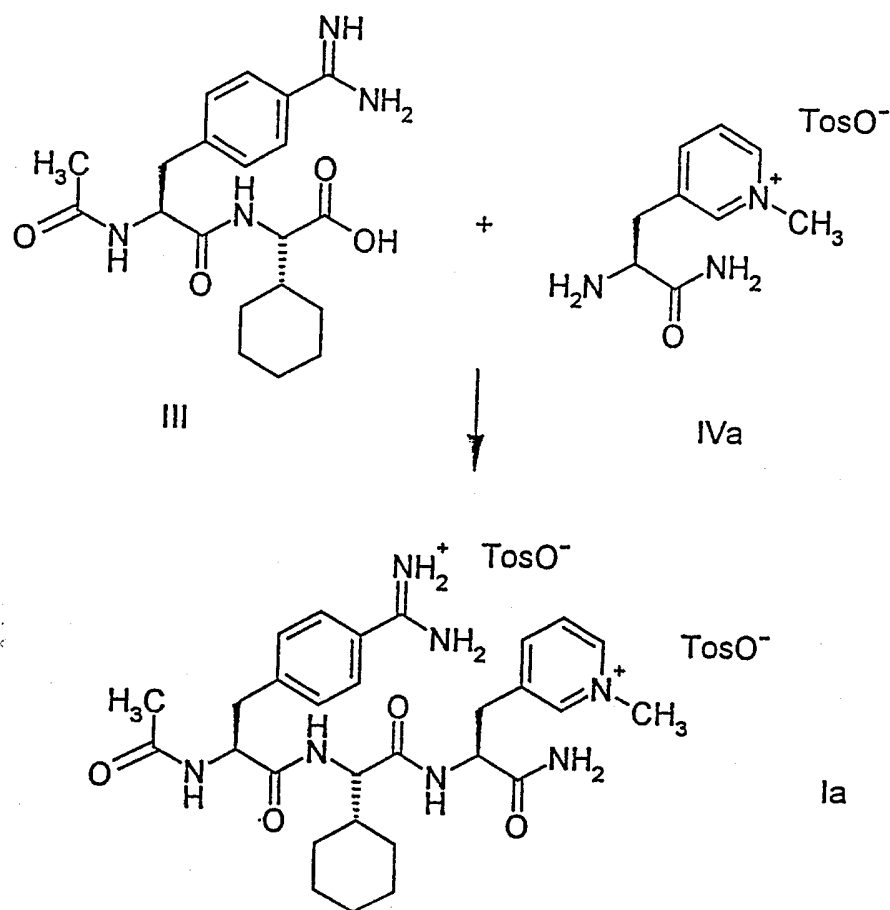


IVa

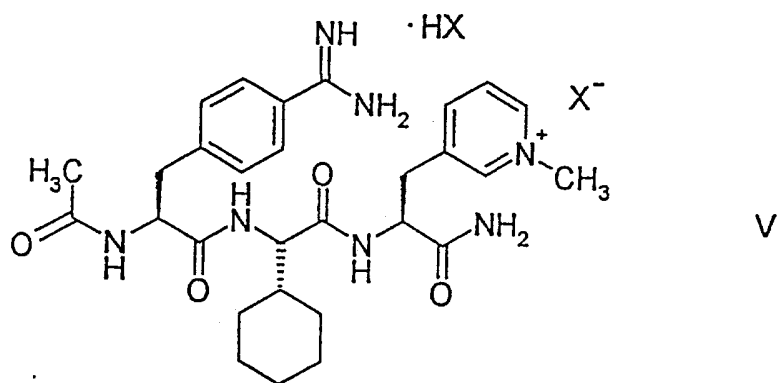
který zahrnuje převedení sloučeniny vzorce II katalytickou hydrogenací a převedení kyanoskupiny na amidinoskupinu ve sloučenině vzorce III nebo její sůl s toluen-4-sulfonovou kyselinou a reakci sloučeniny vzorce III nebo její soli s toluen-4-sulfonovou kyselinou, se sloučeninou vzorce IVa nebo její soli s toluen-4-sulfonovou kyselinou za vzniku sloučenin vzorce Ia. Z fyziologického hlediska nejsou námitky proti tosylátovému aniontu ve sloučenině vzorce Ia a sloučenina vzorce Ia je vynikající zejména vzhledem k dobrým vlastnostem při provádění postupu podle vynálezu. Sloučenina vzorce Ia se snadno sráží a snadno filtruje a získává se ve vysokém výtěžku a čistotě. Tento vynález se také týká sloučeniny vzorce Ia jako takové a jejích solvátů, například adduktů s vodou nebo alkoholy a použití sloučeniny vzorce Ia jako inhibitoru faktoru Xa pro léčení, včetně terapie a prevence tromboembolických poruch, jako jsou trombózy, infarkt myokardu nebo angina pectoris, a použití sloučeniny vzorce Ia pro přípravu léčiv pro tyto medicínské aplikace a farmaceutických prostředků obsahujících účinné množství sloučeniny vzorce Ia a farmaceutický nosič, například jeden nebo více farmaceuticky použitelných přísad nebo aditiv. Mnoho

detailních údajů o použití sloučeniny vzorce Ia a jejich farmaceutických prostředků, které ji obsahují je uvedeno v WO-A-95/29189 a U.S. Pat. No. 5,849,510, které jsou jednoznačně zde uvedeny jako odkazy.

Kromě postupů popsanych výše pro přípravu sloučenin vzorce I a sloučeniny vzorce Ia ze sloučenin vzorců II a IV nebo jejich solí se tento vynález také týká přípravy sloučeniny vzorce Ia, která zahrnuje reakci sloučeniny vzorce III nebo její soli s toluen-4-sulfonovou kyselinou se sloučeninou vzorce IVa nebo její soli s toluen-4-sulfonovou kyselinou za vzniku sloučeniny vzorce Ia. Tento postup, který poskytuje sloučeninu vzorce Ia ve specifické formě ditosylátu v překvapivě zvláště dobrém výtěžku a čistotě, a který je charakterizován tím, že probíhá zejména hladce a může se provádět jednoduchým způsobem, přičemž veškerá objasnění uvedená výše a níže pro reakci sloučenin vzorců III a IV nebo jejich solí, je pro peptidický kondenzační stupeň v kontextu s postupem popsáním výše, je nárokován odpovídajícím způsobem.



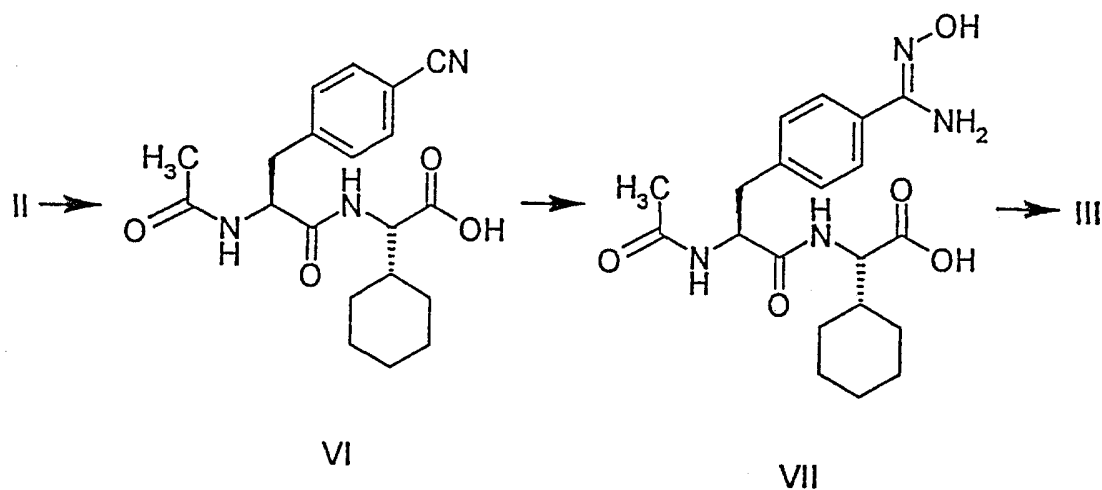
Sloučeniny vzorce I mohou být také reprezentovány vzorcem V, který vyjadřuje, že mohou být formálně vyjádřeny jako addiční sole s kyselinou HX a monokationtové amidino-substituované pyridiniové sole obsažené ve vzorci V (obsahující volnou amidinoskupinu (= karbamimidoyl skupinu = amino-imino-methylskupinu $-C(=NH)-NH_2$ místo protonované, pozitivně nabitě amidiniové skupiny $-C(=NH_2^+)-NH_2$ ve vzorci I).



Sloučeniny mohou být také odpovídajícím způsobem pojmenovány různými způsoby, například jako dikationtové pyridiniové sole, které obsahují pozitivně amidiniovou skupinu jako substituent a dva negativně nabitě anionty X jako opačně nabitě ionty nebo jako addiční sole kyseliny HX a monokationtová pyridiniová sůl, která obsahuje volnou amidino skupinu jako substituent a negativně nabitý aniont X jako opačně nabitý iont. V závislosti na příslušných okolnostech se mohou také používat i jiné zůsoby pojmenování, například pojmenování odvozené od peptidické nomenklatury pozitivně nabitá amidiniová skupina (= amidiniová skupina) nebo volná amidiniová skupina a pozitivně nabitá pyridiniová skupina (= pyridiniová skupina) jsou považovány za substituenty. Sloučenina vzorce Ia se může například uvádět jako 3-((S)-2-

[(S)-2-((S)-2-acetylamino-3-(4-amidiniofenyl)propionylamino)-2-cyklohexylacetylaminol-2-karbamoylethyl]-1-methylpyridinium ditosylát nebo jako toluen-4-sulfonová sůl 3-[(S)-2-[(S)-2-((S)-2-acetylamino-3-(4-amidiniofenyl)propionylamino)-2-cyklohexylacetylaminol-2-karbamoylethyl]-1-methylpyridinium tosylátu nebo jako toluen-4-sulfonová sůl N-acetyl-4-(aminoiminomethyl)-L-fenylalanyl-L-2-cyklohexylglycyl-3-(1-methylpyridinium-3-yl)-L-alaninamid tosylátu.

Při provádění postupu podle vynálezu se sloučenina vzorce II může převést na sloučeninu vzorce III nejprve stereoselektivní hydrogenací sloučeniny vzorce II za vzniku sloučeniny vzorce VI a následující konverzí kyanoskupiny na amidin nebo nejprve převedením kyanoskupiny na amidin a následující stereoselektivní hydrogenací.



S výhodou se nejprve provádí hydrogenace za vzniku sloučeniny vzorce VI, načež se provede převedení kyanoskupiny na amidin.

Stereokontrolovaná hydrogenace vazby C=C v dehydro-dipeptidu vzorce II se může provádět použitím selektivních heterogenních katalyzátorů nebo chirálních komplexů tranzit-

ních kovů. S výhodou se používají chirální kovové komplexy jednomocného rhodia nebo dvojmocného ruthenia, zejména s výhodou jednomocného rhodia. Katalyzátor přechodných kovů může být kationtový nebo neutrální a může se použít v izolované formě nebo se může vytvářet in situ v hydrogenačním mediu z chirální ligandy a předkatalyzátoru, například soli rhodia, jako je $[\text{Rh}(\text{COD})\text{Cl}]_2$ nebo $[\text{Rh}(\text{COD})_2]^+\text{Y}^-$ (COD je 1,5-cyklooctadien, Y je zde, například, tetrafluorborát). Hydrogenační katalyzátor může být přítomen v hydrogenačním mediu v homogenně rozpuštěné formě nebo může být heterogenně navázán na pevný nosič, který se po skončení hydrogenace snadno odfiltruje a může se znovu použít pro následující hydrogenaci další násady. Jako chirální ligandy pro přechodové kovové komplexy je vhodných mnoho různých sloučenin. Přehled těchto chirálních ligand je možno nalézt například v I. Ojima, *Catalytic Asymmetric Synthesis*, str. 445-447, VCH, New York 1993. Ve výhodném provedení tohoto vynálezu se pro asymetrickou hydrogenaci sloučeniny vzorce I na sloučeninu vzorce V použije komplex jednomocného rhodia s chirálním fosfinem jako ligandou. Zejména se dává přednost $\text{Rh}(\text{I})-(+)\text{-BPPM}$ katalyzátoru to je jednovaznému rhodiu s chirální ligandou $(+)\text{-(2R,4R-1-terc-butyloxykarbonyl-4-difenylfosfino-2-(difenylfosfinomethyl)pyrrolidinem)}$ (v molárním poměru rhodia : ligandy 1 : 1). Katalyzátor se s výhodou připravuje in situ ze soli rhodia a ligandy.

Vhodnými rozpouštědly pro stereoselektivní hydrogenaci sloučeniny vzorce II na sloučeninu vzorce VI jsou například ethery, zejména ethery mísitelné s vodou nebo nižší alkoholy, jako je methanol, ethanol nebo isopropanol. Hydrogenace se zejména s výhodou provádí v methanolu. Hydrogenace se s výhodou provádí při teplotách od asi 20 do asi 60° C, zejména

při teplotě od 30 do 50° C, například při 40° C. Hydrogenační tlak se stanoví podle použité aparatury a s výhodou se používá tlak od asi 0,1 do asi 2,0 MPa, s výhodou od asi 0,5 do 1,5 Mpa. Pro zvýšení účinnosti hydrogenace se reakce provádí za podstatného vyloučení kyslíku a za velmi intenzivního míchání. Hydrogenační produkt se izoluje jednoduchým způsobem přidáním vody a odfiltrováním, nebo centrifugací vzniklé sraženiny. Asymetrická hydrogenace probíhá s vysokou stereoselektivitou a výtěžku. Získá se sloučenina vzorce VI s diastereomerním přebytkem 98,4% d.e. (S,S)-isomeru v surovém produktu a 99,5% d.e. v izolovaném produktu při izolovaném výtěžku 97%. Navíc vynikající výtěžky se mohou získat při vysokých poměrech substrát/katalysátor od asi 2000 : 1 do asi 5000 : 1.

Tento vynález se také týká sloučeniny vzorce VI jako takové, to je (S)-2-[(S)-2-acetylamino-3-(4-kyanofenyl)-propionylamino]-2-cyklohexyloctové kyseliny a jejích solí, například solí s alkalickým kovem nebo kovem alkalické zeminy, jako je sodná sůl nebo draselná sůl, postupu její přípravy a použití jako meziprojektu, zejména jako meziprojektu pro přípravu farmaceuticky aktivních látek.

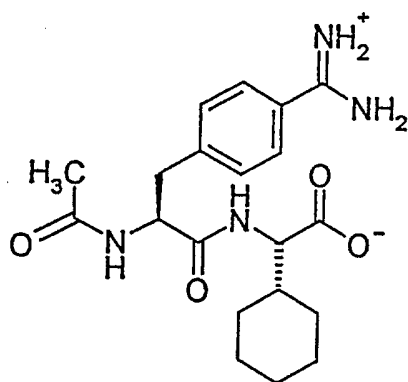
Kyanoskupina ve sloučenině vzorce VI se může převést na amidin použitím různých metod, které jsou známe odborníkům v oboru, například metodou popsanou v WO-A-97/22712, která však má řadu nevýhod při provádění v průmyslovém měřítku, například při použití sirovodíku. Konverze se s výhodou provádí nejprve addicí hydroxylaminu ke kyanoskupině ve sloučenině vzorce VI za vzniku N-hydroxyamidinového meziprojektu vzorce VII. Sloučenina vzorce VII se pak převede jednoduchým způsobem hydrogenolýzí, např. reakcí s vodíkem v přítomnosti hydrogenačního katalyzátoru na amidin vzorce

III. Princip reakčního sledu je popsán například v H. Jendralla aj., Tetrahedron 51 (1995) 12047.

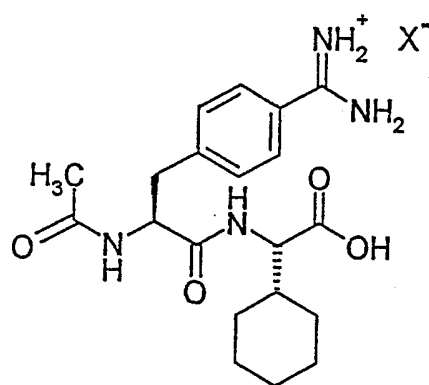
Požadovaný hydroxyamin se s výhodou připravuje in situ z hydroxylamoniové sole, například z hydroxylamonium chloridu nebo hydroxylamonium sulfátu, a báze, například bazických sodných nebo draselných sloučenin, nebo terciárního aminu. Jako báze se pro reakci sloučeniny vzorce VI s hydroxylamoniovou solí s výhodou používá hydrogenuhlíčitan sodný. Hydroxylamin nebo hydroxylamoniová sůl se s výhodou používá v přebytku, například v množství od asi 1 do 2 molů na mol sloučeniny vzorce VI. Vhodnými rozpouštědly pro reakci s hydroxylaminem nebo hydroxylamoniovou solí jsou, například, nižší alkoholy. Zejména výhodným rozpouštědlem je methanol. Sloučenina vzorce VII se s výhodou připravuje při teplotách od asi 20 do 65° C, zejména při teplotách od asi 40 do 60° C. V případě, že se použije hydroxylamoniová sůl, pak přidaná báze také převádí karboxylovou funkční skupinu ve sloučenině vzorce VI nebo ve sloučenině vzorce VII na odpovídající sůl. Jestliže se požaduje aby se N-hydroxyamidin VII izoloval, pak se tato sloučenina může s výhodou izolovat ve formě soli karboxylové funkční skupiny, například jestliže se jako báze použije sodná sůl, ve formě sodné soli karboxylové kyseliny, která se může vysrážet zahuštěním reakční směsi a/nebo přimíšením relativně nepolárního rozpouštědla a odfiltrováním nebo centrifugací

Hydrogenolýza sloučeniny vzorce VII nebo její soli na sloučeninu vzorce III se může provádět za podmínek, které se běžně používají pro katalytické hydrogenace, například v přítomnosti běžných katalyzátorů vzácných kovů, jako je paladium na uhlí. Reakční podmínky závisí na použité apara-

tuře. Tlak vodíku může být například v rozmezí od asi 0,1 do asi 3 Mpa, zejména od 0,2 do 2,5 Mpa a reakční teplota se může pohybovat od asi 20 do asi 70° C, zejména od asi 40 do asi 60° C. Hydrogenolýza se s výhodou provádí v kyselém prostředí. Výhodnými rozpouštědly pro hydrogenolýzu jsou zejména, jestliže se N-hydroxyamidin použije ve formě soli, polární rozpouštědla, například nižší alkoholy nebo kyselina octová. Zejména výhodným rozpouštědlem je kyselina octová. Vzniklý amidin, sloučenina vzorce III se může izolovat jako takový (to je ve volné formě) nebo ve formě addiční soli s kyselinou (amidinová sloučenina vzorce III jako taková nemůže být přítomna ve volné amidinové skupině a skupině karboxylové kyseliny, která je reprezentována vzorcem III, ale vyskytuje se v tautomerní formě vzorce Iia, to je jako betain nebo jako obojetný iont, ve kterém skupina karboxylové kyseliny je disociována na karboxylátový anion a amidinová jednotka je protonována na amidiniový kationt).



IIIa



VIII

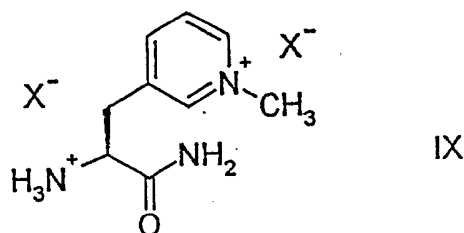
V přítomnosti kyseliny, která může být přítomna i během hydrogenolýzy, například jestliže se jako rozpouštědlo použije kyselina octová nebo která se může přidat během zpracování. Se sloučenina vzorce III získá jako addiční sůl s kyselinou. Tak, jestliže se se použije kyselina vzorce HX, získá se sůl

vzorci VIII ve které aniont X je s výhodou fyziologicky použitelný aniont, například jodid nebo tosylát. Sloučeniny vzorce VIII jsou výše zmíněné sole kyseliny HX a sloučeniny vzorce III. Jestliže sloučenina vzorce III se izoluje ve formě addiční sole s kyselinou, pak se kyselina HX s výhodou vybírá tak, aby sloučenina vzorce VIII obsahovala stejný aniont jako sloučenina vzorce I, která se má připravit. Tak, jestliže se má připravit ditosylátová sůl, dává se přednost přípravě amidinium tosylátu vzorce VIII, kde $X = \text{TosO}^-$, například tak, že se během zpracování přidá toluen-4-sulfonová kyselina. Jak již bylo uvedeno pro peptidickou kondenzaci se sloučeninou vzorce IV je možno použít buď sloučeninu vzorce III jako takovou, to je ve formě betainu (nebo obojetného iontu) vzorce IIIa, nebo amidiniovou sůl vzorce VIII (= sůl HX a sloučeniny vzorce III)a v obou případech se získá stejná čistota a výtěžky. Sloučenina vzorce III se s výhodou izoluje jako betain (nebo podvojný iont) vzorce IIIa a jako taková se použije pro peptidickou kondenzaci. Jestliže se hydrogenolýza provádí v kyselině octové pak nejprve vzniká sůl sloučeniny vzorce III s kyselinou octovou (= sloučenina vzorce VIII, kde $X = \text{acetát}$), která se může převést na betain rekrystalizací z vody.

Tento vynález se také týká sloučenin vzorce III a jejich solí a sloučenin vzorce IIIa a VIII jako takových, to je (S)-2-[(S)-2-acetylamino-3-(4-amidinofenyl)propionylamino]-2-cyklohexyloctové kyseliny jako betainu (podvojný iont) a ve formě jejich solí, výše popsanému postupu pro jejich přípravu a jejich použití jako meziproductů, zejména jako meziproductů pro přípravu farmaceuticky aktivních sloučenin.

Peptidická kondenzace amidinu vzorce III (ve formě soli nebo s výhodou ve formě betainu vzorce IIIa) s pyridinioalaninamidem vzorce IV nebo jeho solemi za vzniku

sloučeniny vzorce I se může provádět běžnými kondenzačními metodami známými odborníkům v oboru. Pyridinioalaninamid se s výhodou používá ve formě soli s kyselinou HX, to je ve formě dikationtové soli vzorce IX, ve kterém anionty X jsou s výhodou fyziologicky použitelné anionty.



Aniont X ve sloučenině vzorce IV nebo ve sloučenině vzorce IX, a jestliže sloučenina vzorce III je použita ve formě soli vzorce VIII, také aniont ve sloučenině vzorce VIII je s výhodou aniontem sloučeniny vzorce I, která má být připravena, to je v případě přípravy sloučeniny vzorce Ia, tosylátový aniont. Jestliže ani sloučenina vzorce III ani sloučenina vzorce IV nejsou použity pro peptidickou kondenzaci ve formě soli s kyselinou HX, pak pro přípravu sloučeniny vzorce I je zapotřebí druhý ekvivalent aniontu X kromě ekvivalentu aniontu X zaváděného sloučeninou vzorce IV, který se může přidávat ve formě ekvivalentu kyseliny HX nebo soli kyseliny HX během zpracování reakční směsi peptidické kondenzace.

Příklady činidel pro peptidickou kondenzaci vhodných pro aktivaci funkční skupiny karboxylové kyseliny nebo funkční skupiny karboxylátu ve sloučenině vzorce III (nebo IIIa nebo VIII), které je možno uvést, jsou karbodiimidy, jako je, například, dicyklohexylkarbodiimid (DCC) nebo diisopropyl-

karbodiimid (DIC), uroniové sole, jako O-[(kyanoethoxykarbonyl-methylen)amino]-N,N,N',N'-tetramethyluronium tetrafluorborát (TOTU) nebo O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluronium hexafluorofosfát (HATU). Karbodiimidy se s výhodou používají v přítomnosti hydroxybenzotriazinových nebo hydroxybenzotriazolových reakčních činidel, jako jsou 3-hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin (= 3-hydroxy-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-on = HOObt) nebo 1-hydroxy-1H-benzotriazol (HObt). S výhodou se používají aktivační činidla a reakční podmínky, při kterých epimerizace chirálních atomů uhlíku, zejména v α -poloze ke karbonylové poloze ve sloučenině vzorce III je minimální, takže vznikají pouze malá množství diastereomerních nečistot. Výhodnými aktivačními činidly jsou z tohoto hlediska HATU, DCC/HOObt a DCC/HObt. Zejména při použití HATU nebo DCC/HOObt, kopulační produkt obsahuje pouze 0,7 - 1,5% diastereomeru v surovém produktu. Zejména výhodný, z hlediska nízké ceny, je DCC/HOObt. Z hlediska bezpečnosti se HOObt s výhodou používá vázaný na nosič, například na Dicalit(R).

Kondenzační reakce se s výhodou provádí v polárním rozpouštědle (nebo ve směsi rozpouštědel). Vhodnými rozpouštědly jsou protická rozpouštědla, jako jsou nižší alkoholy, například methanol, ethanol nebo isopropanol, a z těchto alkoholů se přednost dává isopropanolu, protože riziko konverze C-terminální amidoskupiny na ester je nižší než u methanolu nebo ethanolu. Zejména výhodné je provádět kondenzaci v aprotických polárních rozpouštědlech, protože v nich probíhá kondenzace zejména rychle a čistě, vhodné jsou například amidy, jako je N,N-dimethylformamid (DMF) nebo N-methyl-2-pyrrolidon (NMP), nebo dimethylsulfoxid (DMSO). Je však možné také použít rozpouštědla jako je, například, ethylacetát, tetrahydrofuran (THF) nebo methylenchlorid, zejména

také směsi s jinými rozpouštědly. Zejména se s výhodou kondenzace provádí v DMF nebo NMP, ve kterých kondenzace poskytuje vynikající výsledky a výtěžky sloučeniny vzorce I jsou 85-95% (po dvou sráženíh produktu). Zejména výhodné je provádět kondenzaci v DMF, který se snadněji odstraní z produktu. Kondenzace se s výhodou provádí při teplotách od asi 0 do asi 30° C., zejména od asi 0 do asi 25° C, například nejprve se reakční směs míchá při teplotě asi 10° C. a pak se nechá ohřát na teplotu místnosti. Jestliže ve výhodném provedení kondenzačního stupně nechá reagovat sloučenina vzorce III ve formě obojetného iontu vzorce IIIa s dikationtovou solí vzorce IX, pak výhodné pH (od asi 3,3 do 4,2, jestliže X ve sloučenině vzorce IX je tosylát) je obecně přítomné během celého průběhu kondenzace, aniž by bylo nutné přidávat další množství báze. Případně pH se může upravit vhodně přidáním báze, jako je terciární amin. Jestliže jak sloučenina vzorce III, tak sloučenina vzorce IV se použijí pro kondenzaci ve formě solí s kyselinou HX, pak peptidická kondenzace vyžaduje přídavek alespoň jednoho ekvivalentu báze, například terciárního aminu, jako je triethylamin nebo s výhodou N-ethyldiisopropylamin

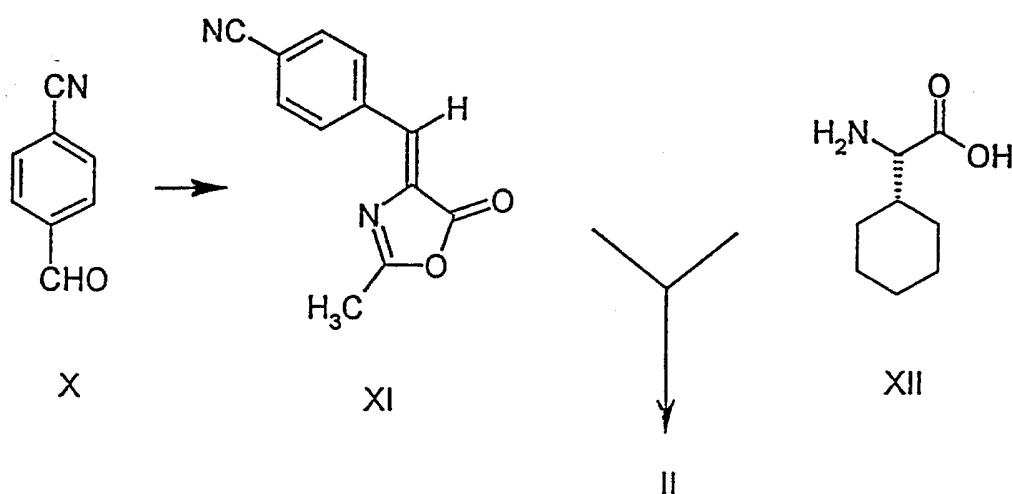
Ve výhodném provedení kondenzačního stupně, kdy aktivačním činidlem je karbodiimid spolu s N-hydroxybenzotriazinem nebo N-hydroxybenzotriazolem, pak reakční činidlo jako je, například, HOObt, může být přítomno v substechiometrických množstvích, protože N-hydroxylové reakční činidlo se regeneruje během reakce sloučeniny vzorce IV s aktivovaným esterem přechodně vzniklým ze sloučeniny vzorce III a N-hydroxylového reakčního činidla. Jestliže, například, kondenzace se provádí použitím DCC/HOObt, pak HOObt se s výhodou používá v množství od asi 0,15 do asi 1 mol na

mol sloučeniny vzorce III, zejména s výhodou od asi 0,2 do asi 0,3 mol, například asi 0,25 mol na mol sloučeniny vzorce III. Karbodiimid se s výhodou používá v mírném přebytku. Jestliže se kondenzace provádí za použití DCC/HOObt, například, se používá množství od asi 1,1 do asi 1,4 mol na mol sloučeniny vzorce III, zejména s výhodou od asi 1,2 do asi 1,3 mol, například asi 1,25 mol, na mol sloučeniny vzorce III. Pořadí, ve kterých se reakční složky přidávají je proměnlivé. Nejlépe se nejprve přidávají sloučeniny III a IV nebo jejich sole, pak se přidá jakákoli báze a N-hydroxylové reakční činidlo a dává se karbodiimid, například ve formě roztoku v rozpouštědle, jako je DMF, nebo NMP po dobu několika hodin, například od asi 5 do 10 hodin. Při tomto postupu se kondenzace provádí při reakční teplotě asi 10° C, načež se míchá při teplotě místnosti, obecně se dokončí rychle a získá se téměř kvantitativní výtěžek produktu vysoké čistoty.

Při zpracování se reakční směs s výhodou nejprve přefiltruje a produkt se pak vysráží přidáním vhodného organického rozpouštědla. Jestliže se kondenzace provádí v DMF nebo NMP, pak se srážení s výhodou provádí přebytkovým množstvím nižšího ketonu, jako je aceton nebo methylethylketon, zejména s výhodou se roztok v DMF nebo NMP přikapává nebo čerpadlem přidává do přebytkového množství acetonu nebo methylethylketonu. Vysrážený produkt se izoluje filtrací nebo centrifugací, promyje se a v případě, že je potřeba zvýšit čistotu provede se analogickým způsobem druhé a třetí srážení (například rozpuštěním produktu v DMF a vysrážením a přidáváním roztoku čerpadlem do acetonu nebo methylethylketonu). Při tomto postupu převážná část vedlejších produktů zůstává v roztoku a po dvou sráženích, například sloučenina vzorce Ia (ditosylát) se získá ve výtěžku asi 91% a

v čistotě asi 97% (+ asi 2,4% diastereomeru).

Výchozí materiály vzorců II a IV nebo jejich sole, které se mohou použít v postupu podle tohoto vynálezu, jak je popsáno výše, se mohou připravit dále uvedenými postupy. Ve výhodném způsobu provedení se výchozí materiál vzorce II a/nebo výchozí materiál vzorce IV nebo jejich sole připraví níže popsaným postupem nebo se částečně připraví postupy popsanými níže.

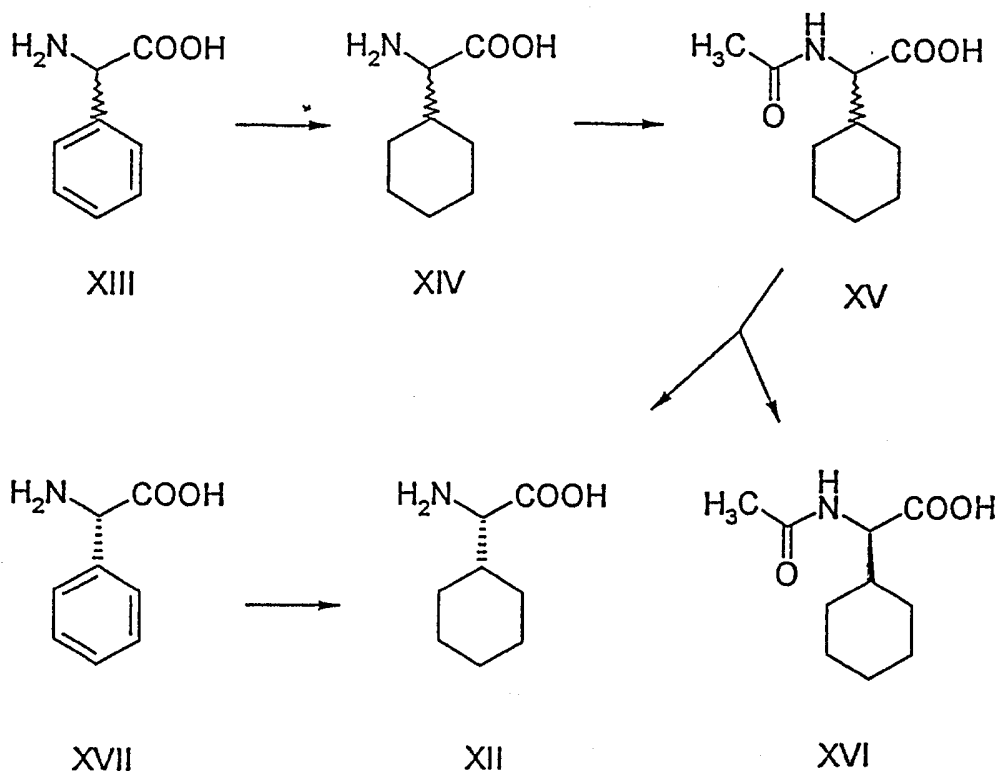


Sloučenina vzorce II se může připravit reakcí azlaktanu vzorce XI s (S)-cyklohexylglycinem (vzorce XII). Azlakton vzorce XI, který je v podstatě přítomen ve formě Z isomeru, vzniká za standardních podmínek pro syntézu Erlenmeyerova azlaktanu z 4-formylbenzonitrilu (vzorce X) a N-acetylglycinu, například zahříváním s octanem sodným a acetanhydridem v rozpouštědle, s výhodou zahříváním v acetonu k varu pod zpětným chladičem. Reakce sloučenin vzorců XI a XII na dehydrodipeptid vzorce II se s výhodou provádí v alkalickém roztoku, například přidáním jednoho ekvivalentu (vztaženo na cyklohexylglycin) báze, jako je hydroxid sodný nebo hydroxid draselný, ve směsi vody a s vodou mísitelného organického

rozpouštědla, například ketonu, jako je aceton nebo etheru, zejména s výhodou ve směsi acetonu a vody při teplotách od asi 30° do asi 50° C., například při teplotě asi 40° C. Produkt se izoluje okyselením reakční směsi, například kyselinou chlorovodíkovou na pH kolem asi 2,3 a zředí se vodou a sraženina se odfiltruje nebo oddělí centrifugací. Tímto způsobem se získá sloučenina vzorce II převážně jako Z-isomer a procento E-isomeru je < 2. Tento vynález se také týká sloučenin vzorců II a XI a jejich solí sloučenin vzorce II jako takového, zejména v Z-formách, způsobu jejich přípravy a použití jako meziproduktů pro přípravu farmaceuticky aktivních sloučenin. Sole sloučeniny vzorce II, které je možno uvést jsou, například, sole s alkalickými kovy nebo kovy alkalických zemin, jako je sodná sůl nebo draselná sůl.

Opticky čistý (S)-cyklohexylglycin (vzorec XII) se s výhodou připravuje jednou z následujících třech cest. Podle jedné této cesty se jako výchozí materiál použije racemický fenylglycin (vzorec XIII), který se převede hydrogenací aromatického kruhu za standardních podmínek na racemický cyklohexylglycin (vzorec XIV), například hydrogenací v přítomnosti katalyzátoru vzácného kovu, jako je rhodium na uhlí, v kyselině chlorovodíkové při teplotě asi 80 až asi 120° C, například 100° C a tlaku 1 až 3 Mpa. Racemický cyklohexylglycin se pak acetyluje za standardních podmínek na aminoskupině, například acetanhydridem v přítomnosti báze, jako je hydroxid sodný, ve vodě při teplotě od asi 0 do asi 30° C a pH alespoň 11. Racemický N-acetyl-cyklohexylglycin (vzorec XV) se pak podrobí enzymatické resoluci racemátu použitím acylázy (L-specifická aminoacyláza, E.C.3.5.1.14) a získá se opticky čistý (S)-cyklohexylglycin (vzorec XII) a N-acetylcyklohexylglycin obsahující vysoký přebytek @-antipodu (vzorec XVI) (viz , například, K. Drauz aj., Enzyme Catalysis

(vzorec XVI) (viz , například, K. Drauz aj., Enzyme Catalysis in Organic Synthesis, VCH, Weinheim, 1995; M.A. Verkhovskaya aj., Russ. Chem. Rev. 60 (1991) 1163; H.K.Chenault aj., J. Am. Chem. Soc. 111 (1989) 6354). Selektivní enzymatická deacetylace (S)-N-acetyl-cyklohexylglycinu v (RS) směsi se může provádět, například, acylázou „Amano“ 30 000 v přítomnosti chloridu kobaltnatého ve vodě a při pH asi 7,8 a při teplotě 38 až 40° C. Cyklohexylglycin, který se vysráží je prakticky enantiomerně čistý (S)-isomer. (R)-N-acetyl-cyklohexylglycin, který zůstává na filtrátu se může po racemizaci, například zahříváním s kyselinou octovou a acetanhydridem na teplotu asi 115° C, znovu použít pro enzymatickou deacylaci, tak že na konec se prakticky veškerý racemický N-acetylcyklohexylglycin převede na opticky čistý (S)-cyklohexylglycin.



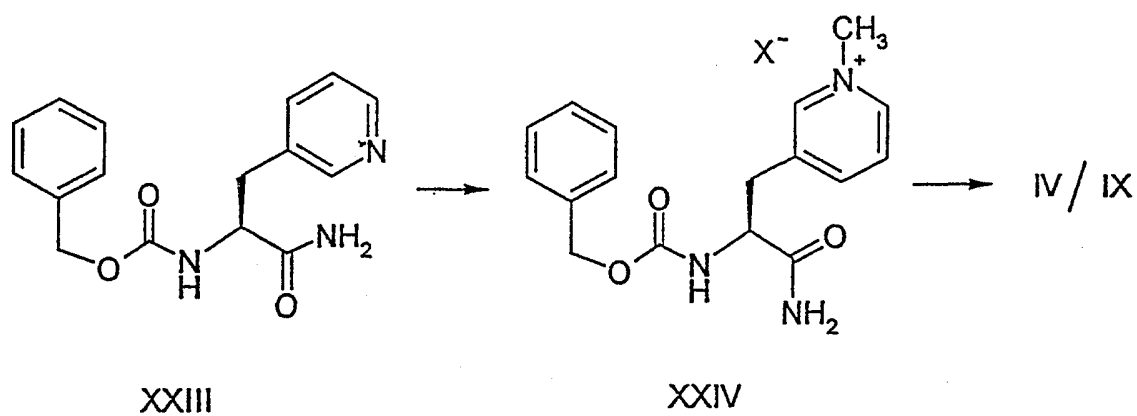
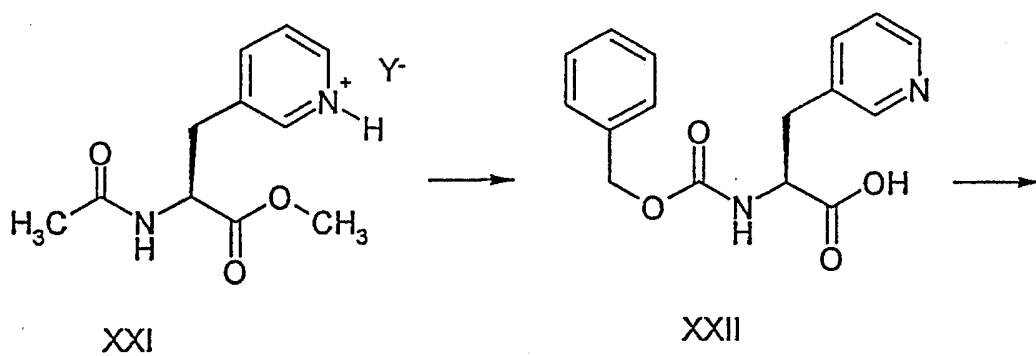
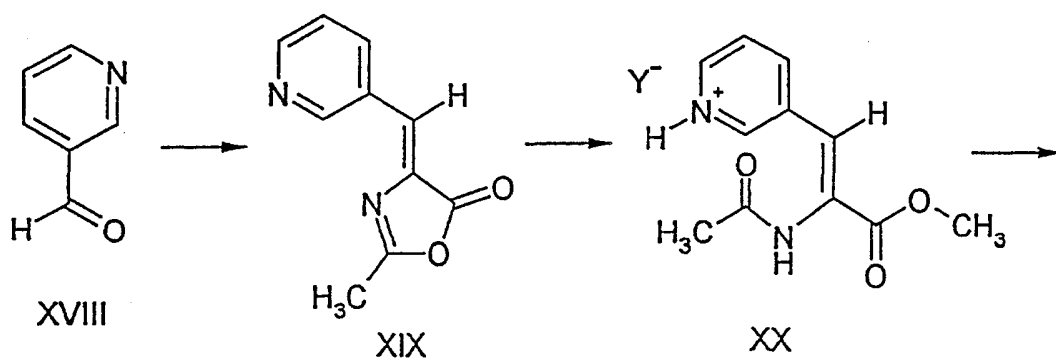
Druhou možností přípravy (S)-cyklohexylglycinu je příprava racemického N-acetylcyklohexylglycinu (vzorec XV) v jednom stupni paladiem katalyzovanou amidokarbonylací z cyklohaxenkarbaldehydu kysličníku uhelnatého a acetamidu a následující popsanou resolucí racemátu acylázou (viz M. Beller aj., Chem. Eur. J. (1998) 935).

Podle třetího možného způsobu přípravy (S)-cyklohexylglycinu (vzorec XII) se fenylová skupina v enantiomerně čistém (S)-fenylglycinu (vzorec XVII) hydrogenuje za podmínek za kterých nechochází k racemizaci na cyklohexylovou skupinu. Znovu se používají vhodné katalyzátory vzácných kovů, jako je například rhodium na uhlí. Hydrogenace se s výhodou provádí v kyselém prostředí, například v karboxylové kyselině, jako je ledová kyselina octová, zejména s výhodou v silné kyselině, jako je například 2N kyselina chlorovodíková nebo kyselina sírová. V těchto silných kyselinách hydrogenace probíhá rychle a bez jakékoli známky racemizace při teplotách od asi 60 do asi 80° C a za tlaku, například, asi 2 MPa. Vzniklý produkt je stejné kvality jako produkt, který se získá z racemického fenylglycinu postupem popsaným výše. Výchozí materiál (S)-fenylglycin je dražší než výchozí materiál (RS)-fenylglycin, ale vzhledem k nižším provozním nákladům, je postup který používá (S)-fenylglycin jako výchozí materiál výhodnější.

Enantiomerně čistý výchozí materiál vzorce IV nebo jeho sůl vzorce IX se s výhodou připravují z pyridin-3-karbaldehydu (vzorec XVIII), který se převede za podobných podmínek, jaké jsou výše uvedeny pro konverzi sloučeniny vzorce X na sloučeninu vzorce XI, na azlakton vzorce XIX, například zahříváním N-acetylglycinu a acetanhydridu v acetonu. Azlakton vzorce XIX se může solvolyzovat vodou na N-acetyldehydro-

pyridylalanin, to je na karboxylovou kyselinu, nebo použitím nižšího alkoholu, například alkanolu s 1 až 3 atomy uhlíku, jako je methanol nebo ethanol, na ester karboxylové kyseliny, s výhodou za použití methanolu na methylester (srovnej vzorec XX). Následná asymetrická hydrogenace se zejména s výhodou provádí v alkoholu za kyselých podmínek, kdy téměř úplně se karboxylová funkční skupina převede na ester a protože solvolýza azlaktonu vzorce XIX alkoholem probíhá hladčeji než vodou, sloučenina vzorce XIX se s výhodou solvolyzuje použitím nižšího alkoholu, zejména použitím methanolu. Alkoholýza se s výhodou provádí v přítomnosti slabé báze, například terciárního aminu, jako je triethylamin při teplotách od asi 50 do 65° C. Methylester se s výhodou izoluje ve formě addiční soli se silnou kyselinou, to je ve formě sloučeniny vzorce XX, kde aniont Y je aniontem silné kyseliny, například tetrafluorborátový aniont nebo tosylátový aniont. Zejména se s výhodou produkt methanolýzy azlaktonu vzorce XIX sráží jako tetrafluorborátová sůl přidáváním tetrafluorborité kyseliny, například vodného roztoku tetrafluorborité kyseliny až do pH asi 1,5 až asi 2, například asi 1,9 a vysrážení produktu se ještě dokončí přidáním nepolárního rozpouštědla, jako je methyl-terc-butylether, načež se odfiltruje nebo oddělí centrifugací. Sloučenina vzorce XX, kde $Y = BF_4$ se získá ve vysokém výtěžku (90%) a ve velmi vysoké čistotě (>99,5%)

24.07.02



Následujícím stupněm je asymetrická katalytická hydrogenace derivátu dehydropyridylalaninu vzorce XX na opticky aktivní derivát aminokyseliny vzorce XXI. Jak bylo uvedeno, pro dosažení vysokého výtěžku a krátké reakční doby se tato hydrogenace s výhodou provádí za kyselých podmínek, například v kyselině octové, zejména s výhodou v silné kyselině, například v toluen-4-sulfonové kyselině nebo v tetrafluorboritě kyselině, které se používají v alespoň stechiometrickém množství, například v 1- až 2 násobném molárním množství, tak aby konverze pyridinové skupiny na pyridiniovou sůl byla úplná. Pro hydrogenaci je výhodnější používat pyridiniovou sůl vzorce XX a přiměřenou další kyselinu. Zejména je výhodné provádět hydrogenaci pyridiniové soli vzorce XX, zejména sole, kde $Y = BF_4$, v nižším alkoholu, nejlépe methanolu v přítomnosti asi 15 mol % silné kyseliny. Výhodnými kyselinami v jejichž přítomnosti se hydrogenace solí vzorce XX provádí jsou tetrafluorboritá kyselina a toluen-4-sulfonová kyselina, zejména tetrafluorboritá kyselina, která se může používat ve formě vodného roztoku.

Pokud se týká katalyzátoru pro asymetrickou hydrogenaci sloučenin vzorce XX na sloučeniny vzorce XXI jsou tyto uvedené jako příklady pro hydrogenaci sloučeniny vzorce II na sloučeninu vzorce VI a tyto se mohou použít obdobně. Tak stereokontrolovaná hydrogenace $C=C$ dvojné vazby ve sloučenině vzorce XX se může stejně provádět použitím selektivních heterogenačních katalyzátorů nebo použitím chirálních komplexů přechodových kovů. S výhodou se provádí použitím chirálních kovových komplexů rhodia(I) nebo ruthenia(II), zejména rhodia(I). Katalyzátory přechodových kovů se mohou použít v izolované formě nebo mohou vznikat in situ v hydrogenačním mediu z chirální ligandy a předkatalyzátoru, například soli

rhodia, jako je $[\text{Rh}(\text{COD})\text{Cl}]_2$. Katalyzátor se s výhodou připravuje in situ. Jako chirální ligandy pro komplex přechodového kovu je také možno nalézt mnoho vhodných sloučenin. Ve výhodném konkrétním provedení tohoto vynálezu je vhodným katalyzátorem použitelným pro asymetrickou hydrogenaci sloučenin vzorce XX na sloučeniny vzorce XXI komplex rhodia(I) s chirálním fosfinem jako ligandou. Zejména s výhodou Rh(I)-(+) -fenyl-CAPP katalyzátor, to je katalyzátor, který obsahuje chirální ligandu (+)-(2R,4R)-1-fenylaminokarbonyl-4-difenylfosfino-2-(difenylfosfinomethyl)pyrrolidin (v molárním poměru rhodium : liganda = 1 : 1). Avšak vhodnými použitelnými ligandami v komplexních katalyzátorech jsou také například výše zmíněné (+)-BPPM nebo aminofosfinefosfinit (+)-PPP (= (+)-proprafos, viz C. Döbler aj., Tetrahedron: Asymmetry 7 (1996) 117). Další ligandy, které jsou vhodné pro komplexy katalyticky aktivních přechodových kovů, jsou uvedeny, například, v I. Ojima, Catalytic Asymmetric Synthesis, str. 445-447, VCH, New York 1993.

Hydrogenace sloučeniny vzorce XX se s výhodou provádí při teplotách od asi 20 do asi 60° C, zejména s výhodou při teplotách od asi 30 do asi 50° C, například při teplotě asi 40° C. Také v tomto případě tlak vodíku závisí na použité aparatuře, s výhodou se používá tlak od asi 0,02 do 2 Mpa, zejména s výhodou od asi 0,02 do 1 MPa, zejména nejlépe od asi 0,05 do 0,1 MPa, například se používá tlak asi 0,08 MPa. Zejména jestliže jako katalyzátor se používá Rh(I)-fenyl-CAPP, pak se hydrogenace pro zvýšení enantioselektivity, s výhodou provádí za relativně nízkého tlaku vodíku. Jak bylo vysvětleno výše pro hydrogenaci sloučeniny vzorce II, také zde se reakce provádí za vyloučení kyslíku a za velmi intenzivního míchání, aby se zvýšila účinnost hydrogenace. Hydrogenační produkt

vzorci XXI se, zejména v případě tetrafluorborátové soli, s výhodou izoluje krystalizací, například z alkoholu, jako je isopropanol. Izolovaný produkt se získá ve výtěžku od asi 86 do asi 95%, enantiomerní čistota je, v závislosti na zvolených podmínkách od asi 70% do asi 95% e.e. (S)-isomeru. Pro hydrogenaci sloučenin vzorce XX na sloučeniny vzorce XXI, je možné použít velmi vysoké poměry substrát/katalyzátor od asi 5 000 : 1 do asi 10 000 : 1, například asi 8 000 : 1.

V následujícím stupni se methylesterová skupina ve sloučenině vzorce XXI hydrolyzuje na karboxylovou skupinu, acetylová skupina se odstraní z aminoskupiny a aminoskupina se chrání vhodným způsobem tak, aby nezpůsobila žádné vedlejší reakce během tvorby karboxamidové funkční skupiny. Odstranění acetylové skupiny a hydrolýza methylesteru na volnou karboxylovou skupinu se může provádět současně reakcí s kyselinou, například vodnou kyselinou chlorovodíkovou, jako je 1N kyselina chlorovodíková nebo 4N kyselina chlorovodíková při teplotách, například, od asi 60 do asi 85° C nebo od asi 85 do asi 90° C. Pro usnadnění izolace produktu z vodné reakční směsi se volná aminoskupina pak s výhodou ihned převede na acylamino skupinu, která se později snadno odstraní, například převedením na benzyloxykarbonylamino skupinu. Zavedení benzyloxykarbonylové chránicí skupiny (= Z skupiny) se s výhodou provádí použitím N-benzyloxykarbonyloxysukcinimidu (= Z-OSu) ve směsi rozpouštědel voda/THF ve slabě alkalické oblasti, zejména s výhodou při pH od asi 8,0 do asi 8,5. Po skončení reakce se organické rozpouštědlo oddestiluje pH se upraví na slabě kyselou reakci, s výhodou na pH asi 5 a vysrážená sloučenina vzorce XXII se odfiltruje nebo oddělí centrifugací. V případě potřeby se čistota sloučeniny vzorce XXII může před přípravou amidu vzorce XXIII zvýšit rekrystalizací, například z vody.

Jestliže enantiomerní čistota sloučenin vzorce XXI nebo sloučeniny vzorce XXII získané z nich postupy popsány výše je nedostatečná, je výhodné neodštěpovat acetyl skupinu z aminoskupiny ve sloučenině vzorce XXI použitím kyseliny chlorovodíkové, ale odštěpovat tuto skupinu enzymaticky a tak enantioselektivněji. Enzymatická deacetylace se s výhodou provádí analogicky jako enzymatická deacetylace (RS)-N-acetylcyklohexylglycinu popsaná výše, použitím acylázy "Amano" 30 000. Zejména je výhodný postup, při kterém se sůl vzorce XXI izolovaná po hydrogenaci nejprve rozpustí ve vodě a po přidání báze, například hydroxidu sodného míchá v alkalickém prostředí, například při pH od asi 10 do asi 11 se hydrolyzuje methylester. Po přidání chloridu kobaltnatého jako kokatalyzátoru, se přidá acyláza při pH asi 7,8 do asi 7,9 a při teplotě od asi 38 do asi 40° C, například v množství od asi 5 do asi 6 g na kg sloučeniny vzorce XXI a reakční směs se míchá až je (S)-isomer deacetylován. Pro převedení deacetylovaného (S)-isomeru na chráněnou benzyloxykarbonylaminosloučeninu se pak, jak bylo popsáno výše, přidá k reakční směsi s vodou mísitelné rozpouštědlo, jako je THF, a reakce s Z-OSu se provádí při pH od asi 8,0 do asi 8,5, organické rozpouštědlo se okyslí na pH asi 5 a vysrážený enantiomerně čistý produkt vzorce XXII se pak izoluje

Převedení Z-chráněné aminokyseliny vzorce XXII na amid Z-chráněné aminokyseliny se provádí použitím metod, které jsou obvyklé pro tyto reakce a které jsou známy odborníkům v oboru. Podle výhodné metody se kyselina vzorce XXII aktivuje převedením na smíšený anhydrid použitím alkylchlorformiátu, zejména s výhodou isobutylchlorformiátu. Reakce se s výhodou provádí v přítomnosti terciárního aminu, například, N-ethyl-

diisopropylaminu, v etherickém rozpouštědle, jako je THF, při teplotách od asi -10 do asi 0°C ., s výhodou od asi -10 do asi -5°C . Pak se do roztoku smíšeného anhydridu přidá amoniak při teplotě -10 do asi 0°C , s výhodou od asi -10 do asi -5°C . Po běžném zpracování a krystalizaci z rozpouštědla, jako je, například, ethylacetát, se získá sloučenina vzorce XXIII ve výtěžku asi 87%, s chemickou čistotou a enantiomerní čistotou v obou případech prakticky 100%.

Methylace atomu dusíku v pyridinu ve sloučenině vzorce XXIII za vzniku pyridiniové soli vzorce XXIV se může hladce provádět použitím řady methylačních činidel, například methyljodidu, methylbromidu, methylchloridu nebo methyl toluen-4-sulfonátu, v řadě rozpouštědel, například v alkoholech, jako je isopropanol, amidech, jako je DMF, N,N,N',N'-tetramethylmočovina, ketonech, jako je aceton, a jiných, jako je THF, s výhodou při teplotách od asi 40 do asi 60°C . Při reakci sloučeniny vzorce XXIII s methylchloridem v DMF při 45°C , se například získá sloučenina vzorce XXIV, kde $X = \text{Cl}$ v kvantitativním výtěžku a čistotě asi 98,4%. Jestliže se methylace provádí v průmyslovém měřítku, je výhodné používat méně těkavá methylační činidla. Aby se zabránilo nutnosti další výměny aniontu, například iontoměničovou chromatografií, je dalším aspektem při výběru methylačního činidla, efekt aniontu X, obsaženého ve vzorcích IV, IX a I a který je původem z methylačního činidla, a který má vliv na vlastnosti těchto sloučenin, například na rozpustnost sloučeniny vzorce IV nebo její soli, která je důležitá pro kondenzační reakci sloučenin vzorce III a IV nebo na rozpustnost a srážecí vlastnosti a fyziologickou snášenlivost sloučeniny vzorce I. Z celkového hlediska bylo nalezeno, že jodidy a toluen-4-sulfonáty jsou podle svých vlastností zejména výhodné a preferovanými methylačními činidly jsou tedy methyljodid a

methylnoluen-4-sulfonát (= methylnosylát). Noluen-4-sulfonáty jsou zejména výhodné v případě sloučeniny vzorce IV nebo její soli s toluen-4-sulfonovou kyselinou protože se snadno izolují, jsou vysoce rozpustné a mají vysokou peptidickou kondenzační rychlost a v případě sloučeniny vzorce I mají překvapivě dobré srážecí vlastnosti, a vliv na čistotu a výtěžek. Zejména výhodným methylačním činidlem pro převedení sloučeniny vzorce XXIII na sloučeninu vzorce XXIV je tak methylnoluen-4-sulfonát.

Methylace sloučeniny vzorce XXIII methylnoluen-4-sulfonátem se s výhodou provádí v nižším alkoholu jako rozpouštědlo, například v isopropanolu, při teplotách od asi 40 do asi 60° C, například při asi 50° C. Methyltoluen-4-sulfonát se s výhodou používá v malém přebytku, například v množství od asi 1 až asi 1,2 molárního přebytku, vztaženo na sloučeninu vzorce XXIII. Methylace sloučeniny vzorce XXIII a následující odstranění benzyloxykarbonylové chránicí skupiny ve sloučenině vzorce XXIV hydrogenolýzou se mohou provádět odděleně. S výhodou se methylace a hydrogenolýza provádějí jako reakce v jedné nádobě bez izolace meziprojektu vzorce XXIV. Pro dokončení se sloučenina vzorce XXIV rozpustí, například přidáním vody, jestliže se vysrážela z reakčního media po methylaci a pak se hydrogenuje za běžných podmínek, například v přítomnosti katalyzátoru vzácného kovu, jako je paladium na uhlí při teplotách od asi 20 do asi 40° C, s výhodou od asi 20 do asi 30° C, a za tlaku vodíku od asi 0,1 MPa do asi 2,0 MPa, s výhodou od asi 0,1 MPa do asi 0,5 MPa, zejména za tlaku asi 0,1 MPa, to je ne za přetlaku vodíku. Monokationtová sůl, obsahující 3-((S)-2-amino-2-karbamoyl-ethyl)-1-methylpyridiniový kationt (obsahující volnou aminoskupinu NH₂ v poloze 2) a aniont X, například nosylát,

jodid nebo chlorid, jako opačně nabitý iont, například sloučenina vzorce IV, se může izolovat jako takový. S výhodou se vzniklý pyridinioalaninamid izoluje ve formě soli s kyselinou HX, to je ve formě dikationtové soli vzorce IX a proto se do reakční směsi pro hydrogenolýzu přimísí jeden ekvivalent kyseliny HX, to je asi jeden ekvivalent toluen-4-sulfonové kyseliny v případě, že solí je tosylát. Hydrogenační katalyzátor se odfiltruje a produkt se pak může izolovat zahuštěním a krystalizací zbytku, například z alkoholu, jako je isopropanol.

Vynález se také týká sloučenin vzorce IV ve kterých X je aniont nebo ekvivalent aniontu, zejména fyziologicky použitelný aniont, chlorid, bromid, jodid nebo toluen-4-sulfonát, a jejich soli s kyselinou HX (= dikationtové sole vzorce IX), jako takových, výše popsaného postupu přípravy a postupů, ve kterých se provede jeden nebo více výše popsaných stupňů a jejich použití jako meziproductů, zejména jako meziproductů pro farmaceuticky aktivní sloučeniny a sloučenin vzorců XX, XXI, XXII a XXIV jako takových.

Níže popsané příklady slouží pro objasnění postupu podle tohoto vynálezu. Avšak vynález také zahrnuje modifikace konkrétních níže uvedených příkladů, například postupů při kterých se jednotlivé stupně kombinují do postupů prováděných v jedné nádobě nebo naopak, postupů, které se provádějí v několika stupních nebo kdy se stupně provádějí v obrácených pořadích nebo kde se používají podobné reagentie nebo rozpouštědla a kde poměry nebo metody zpracování jsou modifikovány

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

4-(2-Methyl-5-oxooxazol-4-ylidenmethyl)benzonitril

Aceton (80,0 l) se přidá do směsi 4-formylbenzonitrilu (15,0 kg, 114,5 mol), N-acetylglycinu (19,2 kg, 162,4 mol) a bezvodého octanu sodného (9,4 kg, 114,5 mol), načež se za míchání zavádí acetanhydrid (35,0 l, 370,5 mol). Reakční směs se míchá 1 hodinu za varu pod zpětným chladičem. Vzniklá nažloutlá suspenze se ochladí na 50° C a za míchání a chlazení se co nejrychleji přidá ledová voda (200 l). Reakční směs se pak míchá další 1 hodinu při 20° C. Izolace produktu se provádí centrifugací, suspenze a promyje se deionizovanou vodou (75 l), isopropanolem (40 l) a methyl-terc-butyletherem (75 l). Produkt se vysuší za sníženého tlaku při 40° C. výtěžek 18,17 kg (85,7 mol, 75,2% theorie). T.t.: 192-193° C rozkl.;

MS (DCI): $m/z=213$ $[M+H^+]$;

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 2,42$ (s, 3H), 7,30 (s, 1H), 7,96 (d, 2H), 8,33 (d, 2H).

Příklad 2

(R,S)-cyklohexylglycin

V atmosféře dusíku se (R,S)-fenylglycin (10,0 kg, 66,2 mol) přidá za míchání k vodě (78,5 l) a kyselině chlorovodíkové (30%, 21,5 l). Pak se za míchání a v atmosféře dusíku přidá rhodium na uhlí (209,6 g, G 101 S/W 5%, zvlhčené vodou, Degussa AG). Zavede se vodík při tlaku 1,8 MPa a směs se zahřívá na vnitřní teplotu 100° C a míchá 72 hodin. Směs se pak ochladí na vnitřní teplotu 50° C. Vzorek se chromato-

grafuje na TLC (butanol/ledová kyselina octová-voda 2/1/1, R_f [fenylglycin] = 0,60, R_f [cyklohexylglycin] = 0,68). Po úplné konverzi se katalyzátor odfiltruje při 50° C a pH filtrátu se při teplotě 20° C upraví na pH 4 použitím vodného roztoku hydroxidu sodného (koncentrovaný, asi 15 l). Směs se míchá 30 minut a vysrážený produkt se odfiltruje, dvakrát promyje vodou (po 35 l) a vysuší při 50° C za sníženého tlaku. Výtěžek: 9,7 kg (93% teorie). T.t.: >300° C rozkl.;

MS (DCI): m/z (%) = 158 ($[M+H^+]$, 100);

H-NMR (200 MHz, trifluorooctová kyselina (TFA)): δ = 1,1-1,6 (m, 5H), 1,7-2,1 (m, 5H), 2,1-2,3 (m, 1H), 4,3 (d, J = 4 Hz, 1H), 11,6 (s, 1H);

IČ (KBr): ν = 2927,7, 1583,9, 1508,8 cm.

Příklad 3

(R,S)-N-Acetyl-cyklohexylglycin

(R,S)-cyklohexylglycin (9,41 kg, 61,7 mol) se za míchání při teplotě místnosti přidá k vodnému roztoku hydroxidu sodného (koncentrovaný, 30,2 l) ve vodě (134 l). Směs se ochladí na vnitřní teplotu 5 - 10° C., a během 2 hodin (exothermní reakce) se přidává acetanhydrid (15,7 l, 17 kg, 66 mol). Během přidávání se kontroluje pH aby bylo alespoň 11 a případně se upravuje přidáváním vodného roztoku hydroxidu sodného. Reakční směs se míchá 1 hodinu při vnitřní teplotě 5 - 10° C. Vnitřní teplota se pak zvýší na 23° C a v míchání se pokračuje další 2 hodiny. Každou hodinu se kontroluje zda je pH stále 11. Po skončení reakce (TLC, ethyl-acetát/methanol/ledová kyselina octová/voda 70/30/5/5, R_f [acetylcyklohexylglycin] = 0,83, R_f [cyklohexylglycin] = 0,55), se směs ochladí na vnitřní teplotu 5 - 10° C. Hodnota pH se upraví na pH = 3 pomalým přidáváním kyseliny chlorovodíkové

(30%, asi 36 l), při vnitřní teplotě 5 - 10° C. V míchání se pokračuje dalších 15 minut a směs se pak přefiltruje. Vzniklá pevná látka se dvakrát promyje vodou (vždy 45 l) a vysuší při 60° C za sníženého tlaku. Výtěžek 11,52 kg (96,7% teorie). T.t. 195-197° rozkl. C.;

MS (DCI): m/z (%) = 200,2 ($[M+H]^+$, 100);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 0,9-1,3 (m, 5H), 1,5-1,8 (m, 6H), 1,86 (s, 3H), 4,1 (dd, J_1 = 8 Hz, J_2 = 6 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 8 Hz, 1H), 12,47 (s, 1H);

IČ (KBr): ν = 3339,7, 2929,3, 1699, 9,1615,7, 1563,2 cm^{-1} .

Příklad 4

(S)-Cyklohexylglycin enzymatickou deacetylací (R,S)-N-acetylcyklohexylglycinu

Při teplotě místnosti se za míchání přidá (R,S)-N-acetylcyklohexylglycin (7,95 kg, 39,9 mol) k vodnému roztoku hydroxidu sodného (3,65 l, 33%) ve vodě (143 l). Za míchání se se pH upraví na pH = 7,8 použitím kyseliny chlorovodíkové (2N, asi 0,8 l). Pak se za míchání přidá hexahydrát chloridu kobaltnatého (13,8 g, 0,058 mol). Reakční směs se pak zahřeje na vnitřní teplotu 38 - 40° C. Při konstantní vnitřní teplotě se pak přidá acyláza "Amano" 30 000 (40 g, v 400 ml vody a směs se pomalu míchá 41 hodin, přičemž během této doby se pomalu vylučuje (S)-cyklohexylglycin. Použitím kyseliny chlorovodíkové (30%), se pH opatrně upraví na pH 5,5-6,0. Směs se ochladí na vnitřní teplotu 2 - 5° C a míchá se 1 hodinu. (S)-cyklohexylglycin se odfiltruje, promyje vodou (asi 16 l) a vysuší za sníženého tlaku při teplotě 60° C. Výtěžek: 2,79 kg (44,5%). T.t. >300° C; $[\alpha]_D$ 32,1° ($c=1$, 1N HCl); ee = 99,78% (GC analýza na Chirasil L-Val po derivatizaci s propanol/HCl a

24.07.02

anhydridem perfluorpropionové kyseliny);

MS (DCI): m/z (%) = 158 ($[M+H]^+$, 100);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, TFA): δ = 1,1-1,6 (m, 5H), 1,7-2,1 (m, 5H), 2,1-2,3 (m, 1H), 4,3 (d, J = 4 Hz, 1H), 11,6 (s, 1H);

IČ (KBr): ν = 2927,7, 1583,9, 1508,8 cm^{-1} .

Pro izolaci nezreagovaného (R)-N-acetylcyklohexylglycinu, se matečné louhy při vnitřní teplotě 2 - 5° C upraví použitím kyseliny chlorovodíkové (30%, asi 4,3l) na pH = 1 a reakční směs se míchá při teplotě 2 - 5° C 1 hodinu. Vysrážený (R)-N-acetylcyklohexylglycin se odfiltruje, promyje vodou (asi 16 l) a vysuší za sníženého tlaku při 60° C. Výtěžek: 3,76 kg (47,3%). T.t. >210-212° C; $[\alpha]_D$ -23,5° ($c=1$, methanol); ee = 98,39% (GC analýza na Chirasil L-Val po derivatizaci s propanol/HCl nebo methanol/HCl). $^1\text{H-NMR}$, MS a IČ data jsou v soulase s údaji pro racemický výchozí materiál 4.

Příklad 5

(R,S)-N-Acetylcyklohexylglycin racemizací (R)-N-acetyl-cyklohexylglycinu

V atmosféře dusíku se (R)-N-acetylcyklohexylglycin (10,9 kg, 54,7 mol) smísí za míchání s ledovou kyselinou octovou (24,5 l) a acetanhydridem (1,7 l). Vnitřní teplota se zvýší na 115° C, a reakční směs se míchá při této teplotě 3,5 hodiny. Vnitřní teplota se pak sníží na 20° C a přidá se voda (73 l). Hodnota pH reakční směsi je pH = 2. Směs se pak míchá při 0 - 3° C 1 hodinu a vzniklá pevná látka se odfiltruje a dvakrát promyje vodou, vždy po 24 l) a látka se vysuší při 60° C za sníženého tlaku. Výtěžek: 7,95 kg (73% teorie) (R,S)-N-acetylcyklohexylglycinu. T.t. 195-196° C; $[\alpha]_D$ 0° ($c=1$,

24.07.03

methanol). ^1H -NMR, MS a IČ data jsou v souladu s daty produktu získaného v příkladu 3. Matečné louhy obsahovaly další podíl asi 2 kg (R,S)-N-acetylcyklohexylglycinu.

Příklad 6

(S)-Cyklohexylglycin racemizací-volnou hydrogenací (S)-fenylglycinu

V hydrogenační aparatuře vyrobené z emailu nebo Hastelloy se (S)-fenylglycin (90 g, 0,53 mol; obsah R-isomeru <1%) přidá při 50° C., v atmosféře dusíku a za míchání k roztoku koncentrované kyseliny sírové (97%, 60 g) v deionizované vodě (0,70 l). Jakmile se veškerý fenylglycin rozpustí (v případě potřeby se přidá další kyselina sírová (5 ml)). přidá se rhodium na uhlí (6,3 g, 5%, zvlhčené vodou (50% vody) od Engelhard type 5% RH Carb Polcere Escat 30 M, Engelhard Code 8000). Hydrogenační aparatura se uzavře v atmosféře dusíku. Směs se zahřeje na vnitřní teplotu 80° C a vystaví se tlaku 2,0 MPa vodíku. Celková doba hydrogenace je 5 až 6 hodin a spotřeba vodíku je 37 l. Jakmile skončí spotřeba vodíku, reakční směs se nechá dále hydrogenovat při tlaku 2,0 MPa dalších 30 - 60 minut. Směs se pak ochladí na vnitřní teplotu 50° C a katalyzátor se při této teplotě odfiltruje použitím tlakového filtru. Katalyzátor se promyje deionizovanou vodou (0,30 l), a filtrát se při teplotě 20° C upraví na pH = 4 přidáním koncentrovaného vodného roztoku hydroxidu sodného (33% asi 90 ml). V míchání se pak pokračuje 30 minut a vysrážený produkt se odfiltruje odsátím a promyje deionizovanou vodou (celkem asi 0,85 l) až jsou promývací vody prosté sulfátových iontů. Vlhký produkt (asi 150 g) se vysuší při 50° C za sníženého tlaku. Výtěžek: 80-84 g (86-90% teorie) (S)-cyklohexylglycinu. Optická čistota je: 99.3% ee.

24.07.03

Příklad 7

(S)-2-[2-Acetylamino-3-(4-kyanofenyl)aryloylamino]-2-cyklohexyloctová kyselina

(S)-Cyklohexylglycin (3,14 kg, 20 mol) v acetonu (70 l) se zahřívá za míchání na 35° C. Za míchání se pak během 1 hodiny přidá 1 N vodný roztok hydroxidu sodného (20 l). Reakční směs se zahřeje na 40° C, a při vnitřní teplotě 40° C se pak za intenzivního míchání po částech přidává během 20 minut pevný 4-(2-methyl-5-oxooxazol-4-ylidenmethyl)benzonitril (4,66 kg, 22 mol). Po skončení přidávání se reakční směs míchá při interní teplotě 40° C 1 hodinu. Reakční roztok se přefiltruje přes nuč pokrytou Seitzovým filtrem K 1000 a aktivním uhlím (1 kg) a zbytek na filtru se promyje 10 l acetonu. Filtrát se ochladí na 14° C a za míchání se pak během 10 minut přidává 2 N kyselina chlorovodíková (asi 10 l) až se dosáhne pH = 2,3. V míchání se pak pokračuje 15 minut a pH se znovu upravuje přidáváním 2 N kyseliny chlorovodíkové. Během 20 minut se roztok přimísí za míchání k deionizované vodě (160 l), přičemž se sloučenina uvedená v nadpisu vysráží. Za míchání se směs ochladí na 0° C a v míchání se při této teplotě pokračuje 1 hodinu. Pro izolaci se produkt pumpuje do centrifugy, třikrát promyje vodou (vždy 10 l), vysuší vyklopením z centrifugy a pak suší při 40° C za sníženého tlaku. Výtěžek: 4,21 kg (11,4 mol, 57% teorie). T.t.: 196-198° C; MS(ESI): m/z = 370,2 [M+H⁺];

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ = 0,98-1,35 (m, 5H), 1,48-1,90 (m, 6H), 1,99 (s, 3H), 4,20 (dd, 1H), 6,98 (s, 1H), 7,72 (d, 2H), 7,88 (d, 2H), 8,02 (d, 1H), 9,58 (s, 1H), 12,65 (br s, 1H).

Příklad 8

(S)-2-[(S)-2-Acetylamino-3-(4-kyanofenyl)propionylamino]-2-cyklohexyloctová kyselina

Do autoklávu se nejprve umístí (S)-2-[2-acetylamino-3-(4-kyanofenyl)akryloylamino]-2-cyklohexyloctová kyselina (7,94 kg, 21,5 mol) v methanolu (100,0 l) a autokláv se opatrně naplní dusíkem. Roztok katalyzátoru se připraví následujícím způsobem: methanol (3,0 l) se umístí do ultrazvukové lázně na 15 minut a během této doby se zavádí argon. Za vyloučení kyslíku se pak postupně přidávají (+)-BPPM (10,92 g, 19,65 mmol) a $[\text{Rh}(\text{COD})\text{Cl}]_2$ (4,88 g, 9,75 mmol) a směs se nechá v ultrazvukové lázni dalších 30 minut. Žlutooranžový roztok katalyzátoru se pak za vyloučení přístupu kyslíku pumpuje do autoklávu

Pak se třikrát po sobě do autoklávu zavede 0,3 MPa vodíku a vždy se znovu ihned vyvětrá. Reakční směs se zahřeje na vnitřní teplotu 40° C, aplikuje se 1 MPa vodíku a směs se hydrogenuje za míchání při teplotě 40° C po dobu 20 hodin. Autokláv se pak propláchne dusíkem a hydrogenační roztok se ihned přefiltruje přes Seitzův filtr. Filtrát se zahřeje na 50° C, během 30 minut se se přidá deionizovaná voda (110 l) a v míchání se pokračuje při 50° C 1 hodinu. Reakční směs se pak ochladí na 15° C a v míchání se pokračuje při této teplotě 1 hodinu. Vysrážený produkt se izoluje filtrací přes tlakový filtr, promyje se deionzovanou vodou (20 l) a vysuší za sníženého tlaku při teplotě 40° C. Výtěžek: 7,73 kg (20,81 mol, 96,7% teorie). T.t.: 209-211° C;

MS (ESI): $m/z = 372,2$ $[\text{M}+\text{H}^+]$;

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6): $\delta = 0,95-1,38$ (m, 5H), 1,47-1,80 (m, 6H), 1,72 (s, 3H), 3,10 (2x dd, 2H), 4,15 (dd, 1H), 4,70 (m, 1H), 7,47 (d, 2H), 7,65 (d, 2H), 8,08 (d, 1H), 8,12 (d, 1H), 12,60 (br s, 1H).

Příklad 9

Betain (S)-2-[(S)-2-acetylamino-3-(4-amidinofenyl)propionylamino]-2-cyklohexyloctové kyseliny

Za míchání se přidá methanol (20 l) k (S)-2-[(S)-2-acetylamino-3-(4-kyanofenyl)propionylamino]-2-cyklohexyloctové kyselině (3,77 kg, 10,1 mol) a hydroxylamin hydrochloridu (1,06 kg, 15,2 mol). Reakční směs se míchá 10 minut a pak se přidá hydrogenuhlíčitan sodný (2,52 kg, 30 mol). Během jedné hodiny se reakční směs pomalu zahřívá (za vývinu kysličníku uhličitého) až na vnitřní teplotu 55° C a pak se při této teplotě míchá 6 hodin a přes noc při teplotě místnosti. Vysrážený chlorid sodný se odfiltruje přes Seitzův filtr a promyje methanolem (4 l). Methanolický roztok se zahustí na asi 10 l použitím rotační odparky při teplotě lázně 40° C, načež se za intenzivního míchání přikape isopropanol (60 l). Tím se vysráží sodná sůl N-hydroxyamidinu. Pro úplné vysrážení se směs zahustí za sníženého tlaku při teplotě 40° C a za intenzivního míchání na objem asi 50 l. V míchání se pak pokračuje při 15° C po dobu 1 hodiny a produkt se odfiltruje přes tlakovou nuč. Sraženina se promyje isopropanolem (10 l) a vysuší na filtrační nuči přes noc v proudu dusíku.

Získaná sodná sůl N-hydroxyamidinu se pak přímo použije pro následující hydrogenaci. K tomuto účelu se autokláv nejprve naplní ledovou kyselinou octovou (26 l) a za míchání se po částech přidává sodná sůl N-hydroxyamidinu (asi 6,2 kg, vlhkého surového produktu z výše popsané reakce). Roztok se smísí se suspenzí paladia na uhlí (10%, 50% voda; 0,40 kg) v ledoé0 kyselině octové (1 l). Autokláv se nejprve propláchne dusíkem a pak vodíkem a směs se pak hydrogenuje 72 hodin při 50° C a tlaku vodíku 1,8 MPa. Reakční směs se nechá vychladnout

na teplotu místnosti, přefiltruje se v atmosféře dusíku přes čerící vrstvu Seitzova filtru překrytou aktivním uhlím a zbytek na filtru se promyje ledovou kyselinou octovou (2 l). Filtrát se zahustí na rotačním odpařováku při teplotě lázně 50° C až další ledová kyselina octová neoddestilovává a počínají se vylučovat krystalky. Směs se pak nechá vychladnout na asi 25° C a zatímco se směs stále otáčí v rotačním odpařováku, přidává se do baňky rotačního odpařováku ethylacetát (20 l), přičemž se vylučuje amidin ve formě soli s kyselinou octovou. salt. Po dalším míchání 30 minut se sraženina odfiltruje na papírovém filtru a vysuší odsáváním.

Surový amidinium acetát, získaný jak bylo popsáno výše se přidá za intenzivního míchání do deionizované vody (20 l), která byla předem zahřáta na 40° C a reakční směs se pak zahřívá na 80° C až vznikne čirý roztok. Za intenzivního míchání se směs ochladí na 15° C a během 30 minut se počne vylučovat sraženina sloučeniny uvedené v nadpisu (jako betain). V míchání se pak pokračuje při 15° C 1 hodinu a vysrážený produkt se odfiltruje na tlakové nuči. Filtrační koláč se promyje ledovou vodou (6 l), vysuší v proudu dusíku, přenesse se do nádoby a míchá při teplotě místnosti v atmosféře dusíku s 40 l acetonu po dobu 1 hodiny. Vysrážený produkt se odfiltruje přes tlakovou nuč, promyje acetonem (asi 10 l) a vysuší za sníženého tlaku při teplotě 40° C. Výtěžek: 2,58 kg (6,64 mol, 65,7% teorie) sloučeniny uvedené v nadpisu.

MS (ESI): $m/z = 389,3 [M+H^+]$;

$^1\text{H-NMR}$ (methanol- d_4): $\delta = 0,98-1,38$ (m, 5H), $1,58-1,78$ (m, 6H), $1,96$ (s, 3H), $3,10$ (2x dd, 2H), $4,02$ (d, 1H), $4,61$ (dd, 1H), $7,42$ (d, 2H), $7,68$ (d, 2H).

Příklad 10

2-Methyl-4-[pyridin-3-yl-(Z)-methylen]-4H-oxazol-5-on

V atmosféře dusíku SE aceton (40,0 l), a pak pyridin-3-karbaldehyd (20,0 kg, 186,9 mol), přidají k N-acetylglycinu (32,7 kg, 280,0 mol) a octanu sodnému (15,3 kg, 186,9 mol). Pak se za míchání přidá acetanhydrid (40,0 l, 429,0 mol). Během 30 minut se reakční směs zahřeje na teplotu varu a pak se míchá za varu pod zpětným chladičem 1,5 hodiny. Získá se tak načervenalá suspenze. Tato suspenze se ochladí na 50° C a přidá se methyl-terc-butylether (80,0 l). Za míchání a chlazení se co možno nejrychleji (< 5 minut) přidá ledová voda (<2° C, 200,0 l). Běžově zbarvená suspenze se v atmosféře dusíku zavede do centrifugy. Sraženina v centrifuze se promyje deionizovanou vodou (80,0 l) a vysuší za sníženého tlaku při teplotě 40° C. Výtěžek: 24,8 kg (131,9 mol, 70,6% teorie). T.t.: 173° C;

MS (DCI): m/z (%) = 189 ($[M+H^+]$, 100);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 2,40 (s, 3H), 7,28 (s, 1H), 7,53 (dd, 1H), 8,61 (d, 2H), 9,18 (brs, 1H);

IČ (KBr): ν = 1799,9, 1777,4, 898,0 cm^{-1} .

Příklad 11

3-(2-Acetylamino-2-methoxykarbonylvinyl)pyridinium tetrafluorborát

V atmosféře dusíku se suspenze 2-methyl-4-[pyridin-3-yl-(Z)-methylen]-4H-oxazol-5-onu (12,0 kg, 63,83 mol) v methanolu (120,0 l) zahřívá na 60° C. Připumpuje se triethylamin (0,5 l) a aparatura se propláchne methanolem (0,5 l) (hodnota pH odebraného vzorku, měřená skleněnou elektrodou byla pH 8,15). Během 30 minut se reakční roztok ochladí na 30° C. Pak se během

30 minut přidává roztok tetrafluorborité kyseliny (48% ve vodě, 11,8 kg, 64,5 mol). Během 1 hodiny se směs ochladí na vnitřní teplotu 10° C a (v případě potřeby po naočkování) se suspenze míchá 3 hodiny při teplotě 10° C. Přidá se methyl-terc-butylether (40,0 l) a směs se míchá při 10° C 1 hodinu. Suspenze se zavede do centrifugy předem propláchnuté dusíkem, centrifuguje se a produkt se pak promyje methyl-terc-butyletherem (20,0 l) a vysuší při 40° C za sníženého tlaku. Výtěžek: 18,7 kg (60,71 mol, 95,1% teorie). T.t.: 179,4° C; MS (ESI): m/z (%) = 221 ([M+H⁺] volná báze, 100); ¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): δ = 2,01 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 7,21 (s, 1H), 7,89 (dd, 1H), 8,48 (d, 1H), 8,76 (d, 1H), 8,98 (s, 1H), 9,92 (s, 1H); IČ (KBr): ν = 1726 9, 1670 1, 1091 5 cm⁻¹.

Příklad 12

(S)-3-(2-Acetylamino-2-methoxykarbonylethyl)pyridinium tetrafluorborát

V autoklávu se rozpustí 3-(2-acetylamino-2-methoxykarbonylvinyl)pyridinium tetrafluorborátate (10,3 kg, 33,44 mol) v methanolu (120,0 l). Přidá se roztok tetrafluorborité kyseliny (50% ve vodě 1,018 kg, 5,8 mol), autokláv se uzavře a pečlivě se propláchne dusíkem. Katalyzátor se připraví zpracováním methanolu (3,0 l) v ultrazvukové lázni 15 minut za proplachování argonem. Za vyloučení vzduchu se methanol odplynní a smíchá s (+)-fenyl-CAPP (12,5 g, 20,83 mmol) a [Rh(COD)Cl]₂ (5,0 g, 10,10 mmol), a žlutooranžový roztok katalyzátoru se sonikuje 30 minut v atmosféře argonu. Za vyloučení kyslíku se roztok katalyzátoru přenese do autoklávu. Během 1 hodiny se obsah v autoklávu zahřeje na 40° C. Do autoklávu se třikrát napustí asi 0,3 MPa vodíku, který se vždy znovu vyvětrá. Pak se napustí vodík za tlaku 0,15 MPa a směs

se hydrogenuje při 50° C, za intenzivního míchání. Po 7 hodinách se hydrogenace zastaví. Podle HPLC analýzy odebraného vzorku bylo nalezeno, že v tu dobu je přítomno 99,1 % sloučeniny uvedené v nadpisu a GC analýza (30 m křemená kapilární kolona Chirasil Val, isotermně 160° C, nástřik 220° C, detekce (FID) 260° C., nosný plyn 0,08 MPa vodíku, t_{ret} [(R)-enantiomer] 12,64 min, t_{ret} [(S)-enantiomer] 13,64 min) ukazuje, že enantiomerní čistota je 86% ee (S) isomeru. Autokláv se propláchne dusíkem a použitím dusíku se obsah autoklávu přefiltruje přes Seitzův filtr do nádoby, kde se filtrát skladuje pod dusíkem při + 5° C.

Použitím výše posaného postupu se provedou čtyři další asymetrické hydrogenace (velikost násady 8,0 kg (25,97 mmol) - 10,3 kg (33,44 mol); tlak vodíku 0,2 - 1 MPa, teplota 40° C; doba hydrogenace 4 - 6 hodin; obsah produktu 98,0 - 99,8% (HPLC); enantiomerní čistota surového produktu v hydrogenačním roztoku je 62,0 - 84,5% ee S-isomeru (GC).

Filtráty z pěti násad se spojí a při teplotě pláště 40° C se zahustí za sníženého tlaku na konečný objem 150 l. Přidá se isopropanol (200 l) a směs se při teplotě pláště 40° C a za sníženého tlaku zahustí na konečný objem 250 l. Ještě dvakrát se přidá isopropanol, (vždy po 100 l) a směs se při teplotě pláště a za sníženého tlaku zahustí na 250 l. Tento postup vede ke krystalizaci sloučeniny uvedené v nadpisu. Bílá suspenze se míchá při 10° C v atmosféře dusíku 1 hodinu. Produkt se oddělí v centrifuze, předem propláchné dusíkem, načež se promyje isopropanolem (100 l) a methyl-terc-butyletherem (150 l). Získá se tak 45,0 kg (144,7 mol, 90,6% teorie sloučeniny uvedené v nadpisu s 71% ee (S)-isomeru (GC). T.t.: 126,2° C (podle DSC);

MS (ESI): m/z (%) = 223 ($[M+H]^+$ volná báze, 100);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 1,78 (s, 3H), 3,08 (dd, J = 9,5 a 7 Hz, 1H), 3,29 (dd, J = 9,5 a 4 Hz, 1H), 4,68 (m, 1H), 8,00 (dd, J = 5,0 a 4,5 Hz, 1H), 8,42 (t nebo 2 d, J asi 6 Hz, 2H), 8,80 (d, J asi 5 Hz, 1H), 8,82 (s, 1H);

IČ (KBr): ν = 1740,9, 1654,3 cm^{-1} .

Příklad 13

(S)-2-Benzoyloxykarbonylamino-3-(pyridin-3-yl)propionová kyselina

Roztok(S)-3-(2-acetylamino-2-methoxykarbonylethyl)-pyridinium tetrafluorborátu (71% ee; 6,70 kg, 21,6 mol) ve vodě (88 l) se přefiltruje přes tlakovou nuč převrstvenou aktivním uhlím (0,5 kg). Použitím koncentrovaného vodného roztoku hydroxidu sodného (33%, asi 3,0 l), se pH filtrátu upraví na pH 10 - 11, a roztok se pak míchá při 20-25° C. po 2 hodiny, a během této doby se udržuje konstantní pH pomocí koncentrovaného vodného roztoku hydroxidu sodného. TLC (mobilní fáze ethylacetát/methanol/voda/kyselina octová 70/30/5/5) ukazuje, že methylester je kompletně hydrolyzován a byla získána karboxylová kyselina. Použitím koncentrované kyseliny chlorovodíkové (asi 150 ml), se upraví pH na hodnotu 8,0. Přidá se hexahydrát chloridu kobaltnatého (11,7 g, 0,049 mol) a reakční směs se zahřívá na vnitřní teplotu 40° C a míchá se při konstantní teplotě 39° C po dobu 1 hodiny. Za velmi pomalého míchání se při 39° C přidává acyláza "Amano" 30. 000 (38,0 g) v deionizované vodě (400 ml) a směs se míchá při konstantním pH 7,9 a 39° C po dobu 40 hodin. TLC (mobilní fáze jaká byla použita výše) potvrdila, že asi 85% karboxylové kyseliny (odpovídající obsahu (S)-isomeru v použitém 3-(2-acetylamino-2-methoxykarbonylethyl)pyridinium tetrafluorborátu

bylo deacetylováno. Nádoba se propláchne dusíkem, načež se přidá tetrahydrofuran (22,0 l) a reakční směs se pak během 1 hodiny ochladí na vnitřní teplotu 10° C. Během 45 minut se přidává roztok N-(benzyloxykarbonyloxy)sukcinimidu (4,63 kg, 18,6 mol) v tetrahydrofuranu (23,0 l) a kontinuálním přidáváním koncentrovaného (33%) vodného roztoku hydroxidu sodného se během této doby udržuje pH na 8,0 - 8,5. Reakční směs se pak míchá 1,5 hodiny při 20° C. TLC (mobilné fáze jaká byla popsána výše) ukazuje, že proběhla úplná acylace volné aminokyseliny. K reakční směsi se přidá ethylacetát (60 l) a směs se intenzivně míchá 15 minut. Po úplném oddělení fází se ethylacetátová fáze oddělí a vyleje. Vodná fáze se použitím koncentrované kyseliny chlorovodíkové upraví na pH 5,0 (asi 3,7 l), naočkuje se krystalky enantiomerně čisté sloučeniny uvedené v nadpisu a suspenze se míchá při 5° C přes noc. V atmosféře dusíku se krystaly odfiltrují na tlakové nuči, promyjí deionizovanou vodou (20 l) a vysuší při 48° C za sníženého tlaku. Výtěžek: 2,86 kg (9,52 mol, 51,9% teorie) sloučeniny uvedené v nadpisu s 100% ee (CSP Chiralpak AD 250 x 4.6 mm Daicel; mobilní fáze: isopropanol/ethanol/n-hexan 12/4/84 + 0,1% diethylaminu; t_{ret} 14,16 min), $[\alpha]_D^{20} = -9,950$ (c=1,0, methanol). T.t.: 173-174° C. (použitím DSC);

MS (ESI): m/z (%) = 301 ($[M+H^+]$, 100);

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 2,85 (dd, J = 9,5 a 7,5 Hz, 1H), 3,10 (dd, J = 9,5 a 3,5 Hz, 1H), 4,23 (m, 1H), 4,98 (s, 2H), 7,15-7,40 (m, 6H), 7,62-7,78 (m, 2H), 8,38-8,50 (m, 2H), 12,80 (brs, 1H);

IČ (KBr): ν = 3369,7, 1707,4, 1504,7, 1046,9, 699,2 cm^{-1} .

Příklad 14

Benzyl (S)-[1-karbamoyl-2-(pyridin-3-yl)-ethyl]karbamát

Suspenze (S)-2-benzyloxykarbonylamino-3-(pyridin-3-yl)-propionové kyseliny (2,60 kg, 8,65 mol) v tetrahydrofuranu (60 l) se ochladí na -9°C . Při této teplotě se během 5 minut přidá N-ethyl-diisopropylamin (1,33 kg, 10,29 mol), načež se při stejné teplotě přidá během 20 minut isobutylchlorformiát (1,36 kg, 9,96 mol) a pak se během 20 minut zvýší teplota na vnitřní teplotu -6°C . Po 10 minutách intenzivního míchání se zavede plynný amoniak (2,1 kg, asi 123 mol) a udržuje se konstantní teplota -5 až -6°C . Během 3 hodin vznikne jemná suspenze. Reakce je nejprve silně exothermní (vyžaduje nejprve pomalé zavádění), později méně exothermní. Během 30 minut se reakční směs ohřeje na 16°C a vznikne hustá, ale ještě mísitelná krystalická kaše. Při teplotě pláště 30°C se za sníženého tlaku odpaří rozpouštědlo. Bílý mastný odparek se suspenduje v ethylacetátu (125 l). Přidá se roztok hydrogenuhličitanu sodného (3,0 kg) ve vodě (50 l) a směs se intenzivně míchá 30 minut po které se veškerá pevná látka rozpustí. Organická fáze se oddělí a vysuší síranem sodným (1,0 kg), sušidlo se odfiltruje a filtrát se zahustí za sníženého tlaku při teplotě lázně 30°C na objem asi 6 l. Vzniklá sraženina se odsaje, promyje ethylacetátem (1,5 l) a vysuší při 30°C za sníženého tlaku.

Výtěžek: 2,26 kg (7,55 mol, 87,3% teorie). Chemická čistota 99,9% (HPLC: 125 x 4,0 mm RP18 Purospher, 40°C , detekce 210 nm); enantiomerní čistota byla 100% ee (HPLC: 250 x 4,6 mm CSP Chiralpak AD Daicel, 40°C ; detekce 248 nm; mobilní fáze : n-hexan/isopropanol/ethanol 84/12/4 + 0,1% diethylaminu; t_{ret} [(S)-isomer] 14,93 min). T.t. $152,8^{\circ}\text{C}$. (použitím DSC);

MS (ESI): m/z (%): 300 ($[\text{M}+\text{H}^+]$, 100);

^1H -NMR (200 MHz, DMSO- d_6): δ = 2,77 (dd, J = 9,5 a 7,0 Hz, 1H), 3,02 (dd, J = 9,5 a 3,5 Hz, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,96 (s, 3H), 7,00-7,40 (m, 7H), 7,40-7,60 (m, 2H), 7,60-7,76 (m, 1H), 8,36-8,53 (m, 2H);

IČ (KBr): ν = 3306,8, 1674,9, 1537,7, 1424,0, 1271,6, 1251,3 cm^{-1} .

Příklad 15

3-((S)-2-Amonio-2-karbamoylethyl)-1-methylpyridinium ditosylát

V autoklávu se k benzyl (S)-[1-karbamoyl-2-(pyridin-3-yl)ethyl]karbamátu (1,00 kg, 3,33 mol) přidá isopropanol (1,7 l) a methyl toluen-4-sulfonát (0,67 kg, 3,6 mol), Reakční směs se míchá v uzavřené autoklávu v atmosféře dusíku při teplotě 50° C po dobu 5 hodin. Reakční směs se pak nechá stát přes noc při teplotě místnosti a během této doby sedimentuje methylovaná N-benzyloxykarbonyl sloučenina jako vizkozni sliz. Reakční roztok se zředí deionizovanou vodou (0,33 l), a pak se přidá paladium na uhlí (10%, 50% vody; 50 g). Hydrogenace se provádí za atmosferického tlaku s průtokem vodíku (asi 10 l/min), a za kontinuálního měřeného přidávání roztoku monohydrátu toluen-4-sulfonové kyseliny (0,63 kg, 3,33 mol) v deionizované vodě (1,0 l) při teplotě 20 - 25° C, během asi 3 hodin. Po skončení hydrogenace se autokláv propláchne dusíkem a hydrogenační roztok se přefiltruje přes Seitzův filtr a promyje deionizovanou vodou (0,5 l). Filtrát se přenesse do rotačního odpařováku a zahustí ve vakuu vodní pumpy při teplotě 40° C na asi 2,5 l. Za intenzivního míchání se směs provlhčí isopropanolem (10 l) a za míchání a při teplotě lázně 40° C za sníženého tlaku zahustí na asi 5 l, načež sloučenina uvedená v nadpisu počne krystalovat. Za míchání se krystalická suspenze ochladí na 15° C a po 30 minutách se produkt odfiltruje přes filtrační papír, promyje 1 l isopropanolu, dokonale odsaje a vysuší. Výtěžek: 1,57 kg (3,0 mol, 90% teorie). T.t.: 219-220° C;

MS (ESI): m/z (%)=180,1 ($[M+H^+]$, 100);

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6): δ = 2,30 (s, 3H), 3,10 - 3,40 (m, 2H), 4,08 (dd, 1H), 4,35 (s, 3H), 7,12 (d, 4H), 7,48 (d, 4H), 7,70 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 8,05-8,22 (m, 4H), 8,42 (m, 1H), 8,95 (m, 1H).

Příklad 16

3-((S)-2-((S)-2-((S)-2-Acetylamino-3-(4-amidinofenyl)propionylamino)-2-cyklohexylacetylamino)-2-karbamoylethyl)-1-methylpyridinium ditosylát

V atmosféře dusíku se 3-hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazin (1,306 kg, 30,0% na Dicalitu[®], 2,40 mol) přidá k suspenzi 3-((S)-2-amonio-2-karbamoylethyl)-1-methylpyridinium ditosylátu (5,43 kg, 10,36 mol) a betainu (S)-2-((S)-2-acetylamino-3-(4-amidinofenyl)propionylamino)-2-cyklohexyl-octové kyseliny (4,00 kg, 93,15% čistoty, obsahující 6,85% vody, 9,591 mol) v N,N-dimethylformamidu (45,0 l), a suspenze se ochladí na 10° C. Při této teplotě se stejnoměrně během 7 hodin přidává prostřednictvím pumpy roztok dicyklohexylkarbo-diimidu (2,56 kg, 99% čistoty, 12,28 mol) v N,N-dimethylformamidu (3,4 l), pumpa a přívodní hadice se pak propláchnou N,N-dimethylformamidem (0,5 l). Reakční směs se míchá při 10° C 1 hodinu a pak po ohřátí na teplotu místnosti (23,5° C), dalších 14 hodin. Suspenze se filtruje přes Seitzův filtr a promyje směsí N,N-dimethylformamidu (2,2 l) a toluenu (0,2 l). Během 30 minut se filtrát pumpuje do nádoby ve které byl přetím umístěn, přidá se aceton (1200 l) a směs se intenzivně míchá 10 minut v atmosféře dusíku při teplotě 18° C. Směs se pak míchá 10 minut při teplotě místnosti a suspenze se proudem dusíku lisuje na tlakové nuči pokryté filtrační tkaninou z polypropylenu a Seitzovým filtrem. Zbytek se promyje acetone (3 x 100 l), pevný podíl na tlakové nuči se vysuší přes noc použitím dusíku a srážení produktu z acetonu

se pak opakuje. Nakonec se pevný podíl rozpustí za míchání v N,N-dimethylformamidu (25 l) a roztok se smísí s toluenem (2,5 l) a během 15 minut se napumpuje do nádoby která byla předtím naplněna acetonem, (1200 l), a směs se intenzivně míchá v atmosféře dusíku při 18° C. Suspenze se míchá při teplotě místnosti 10 minut a pak se proudem dusíku lisuje na tlakové nuči. Zbytek na filtru se promyje acetonem (3 x 100 l). Pevný podíl se suší v proudu dusíku a pak se vysuší nejprve při 20° C za sníženého tlaku a pak při 43° C ve vysokém vakuu.

Výtěžek: 7,83 kg (8,76 mol, 91,3% teorie). Enantiomerní čistota byla >99% ee (HPLC: CSP Chiral AGP 100 x 4,0 mm 5 µm; 40° C, 0,7 ml/min vodný roztok octanu sodného (100 mM); t_{ret} 6,20 min, t_{ret} [enantiomer] 4,26 min, t^{ret} [diastereomer] 4,97 min); $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -6.50 (c = 1,0, voda). Chemická čistota byla 97%, a obsah diastereomeru byl 2,4% (HPLC: Superspher 60 RPselect B 250 x 4,0 mm; 25° C; detekce 210 nm; 1,0 ml/min; mobilní fáze A: 950 ml of vody + 50 ml acetonitrilu + 7 ml ortofosforečné kyseliny, upraveno na pH 3 použitím asi 8 ml of triethylaminu, mobilní fáze B: 600 ml vody + 400 ml acetonitrilu + 7 ml ortofosforečné kyseliny, upraveno na 3 použitím asi 8 ml triethylaminu; eluční program: 15 minut 100% mobilní fáze A, pak během 10 minut lineárně na 50% mobilní fáze A + 50% mobilní fáze B, a pak dalších 15 minut isokraticky tato směs 50 : 50 mobilních fází: t_{ret} [kationt uvedený v nadpisu] 13,44 min, t_{ret} [tosylátový aniont] 26,88 min).

MS (FAB, NBA): m/z (%)=722 ($[M^+]$ monotosylátu, 15%), 550 ($[M^+]$ tosylátu-prostý monokationt (N-methylpyridiniumamidinu), 100%); $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6): δ = 0,80-1,25 (m, 6H), 1,40-1,70 (m, 5H), 1,72 (s, 3H), 2,29 (s, 6H), 2,71 (d, 1H), 2,98-3,07 (m, 3H), 3,18 (dd, 1H), 4,05 (t, 1H), 4,36 (s, 3H), 4,55-4,65 (m, 2H), 7,11 (d, 4H), 7,27 (s, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,47 (d, 4H),

7,51 (d, 2H), 7,73 (d, 2H), 7,92 (d, 1H), 8,06 (dd, 1H), 8,14 (d, 1H), 8,21 (d, 1H), 8,40 (d, 1H), 8,88 (m, 4H), 9,25 (s, 2H);

^{13}C -NMR (75,43 MHz, DMSO- d_6 , $\{^1\text{H}\}$ -široké pásy dekaplovány): δ = 20,67 (2C), 22,31 (1C), 25,51 (2C), 25,65 (1C), 28,32 (1C), 28,89 (1C), 34,21 (1C), 36,95 (1C), 47,79 (1C), 52,19 (1C), 53,30 (1C), 57,67 (1 C), 125,36 (4C), 125,80 (1C), 126,82 (1C), 127,70 (1C), 128,03 (4C), 129,59 (1C), 137,74 (2C), 138,13 (1C), 143,36 (1C), 144,68 (1C), 145,25 (2C), 145,37 (1C), 145,63 (1C), 165,16 (1C), 169,26 (1C), 170,58 (1C), 171,35 (2C);

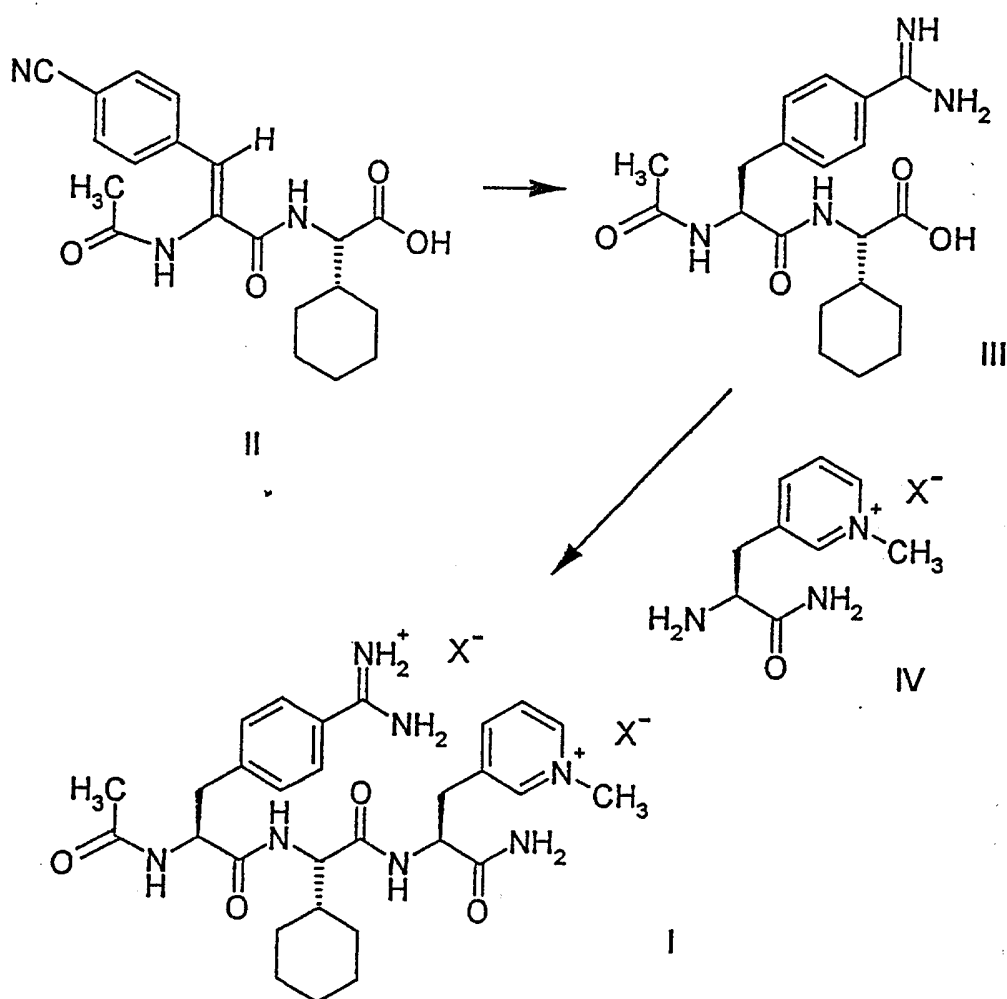
IČ (KBr): ν = 3286, 1663, 1184, 1124, 1035, 1011, 683, 569 cm^{-1}

24.07.02

PV 2002-2583

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob přípravy sloučení obecného vzorce I v y z n a -
č u j í c í s e t í m, že se sloučenina vzorce II
katalyticky hydrogenuje a převede se kyanoskupina na
amidinoskupinu na sloučeninu vzorce III nebo její sůl
s kyselinou HX, načež se reakcí se sloučeninou vzorce IV nebo
její solí získá sloučenina vzorce I, ve které anionty X jsou
fyziologicky použitelnými anionty.



2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se hydrogenace provádí použitím chirálního rhodného komplexu jako katalyzátoru.

3. Způsob podle nároků 1 a/nebo 2, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se hydrogenace provádí použitím rhodného komplexu (+)-(2R,4R)-1-terc-butyloxykarbonyl-4-difenylfosfino-2-(difenylfosfinomethyl)pyrrolidinu jako katalyzátoru.

4. Způsob podle jednoho nebo více z nároků 1 až 3 v y z n a č u j í c í s e t í m, že se převedení kyanoskupiny na amidino skupinu provádí reakcí s hydroxylaminem nebo hydroxylamoniovou solí a hydrogenolýzí vzniklého N-hydroxyamidinu.

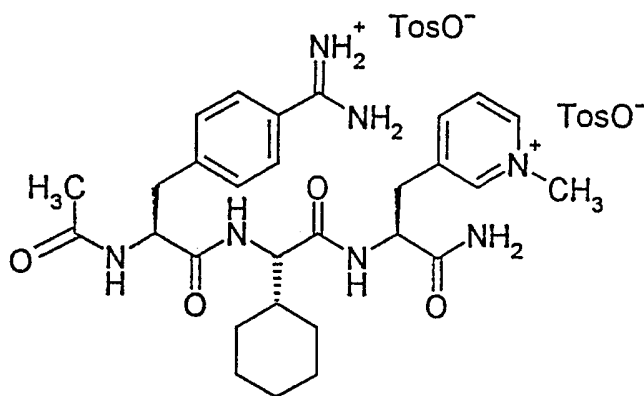
5. Způsob podle jednoho nebo více z nároků 1 až 4, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se reakce sloučenin vzorců III a IV nebo jejich solí provádí v přítomnosti karbodiimidu.

6. Způsob podle jednoho nebo více z nároků 1 až 5, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se reakce sloučenin vzorců III a IV nebo jejich solí provádí v přítomnosti dicyklohexylkarbodiimidu a 3-hydroxy-4-oxo-3,4-dihydro-1,2,3-benzotriazinu.

7. . Způsob podle jednoho nebo více z nároků 1 až 6, v y z n a č u j í c í s e t í m, že při reakci sloučenin vzorců III a IV použije sloučenina vzorce IV ve formě soli s kyselinou HX a sloučenina vzorce III použije jako taková, to je jako betain.

8. Způsob podle jednoho nebo více z nároků 1 až 7, v y z n a č u j í c í s e t í m, že aniontem X^- je toluen-4-sulfonát.

9. Sloučenina vzorce Ia

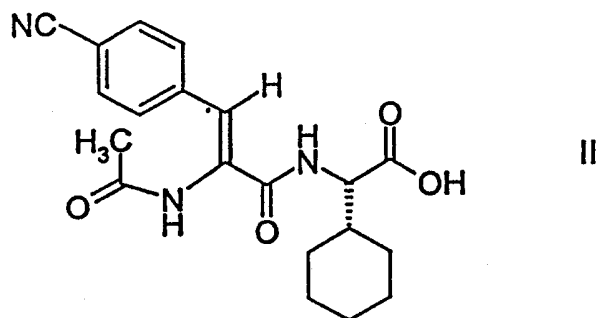


ve kterém aniont TosO^- je toluen-4-sulfonát.

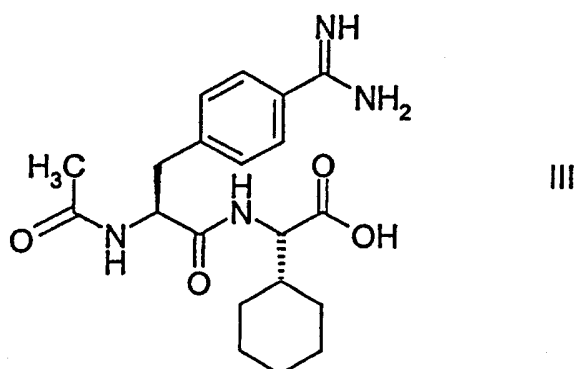
10. Způsob přípravy sloučeniny vzorce Ia ve kterém aniont TosO^- je toluen-4-sulfonát v y z n a č u j í c í s e t í m, že se nechá reagovat sloučenina vzorce III, nebo její sůl s toluen-4-sulfonovou kyselinou, se sloučeninou vzorce IVa nebo její soli s toluen-4-sulfonovou kyselinou za vzniku sloučeniny vzorce Ia.



12. Sloučenina vzorce II a její sole



13. Sloučenina vzorce III a její sole



14. Sloučenina vzorce IV a její sole s kyselinou HX, kde aniont X je fyziologicky použitelný anion.

