



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

212 988

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 21 07 80
(21) PV 5157-80

(51) Int. Cl.³ C 07 D 475/08

(40) Zveřejněno 31 08 81
(45) Vydáno 01 01 84

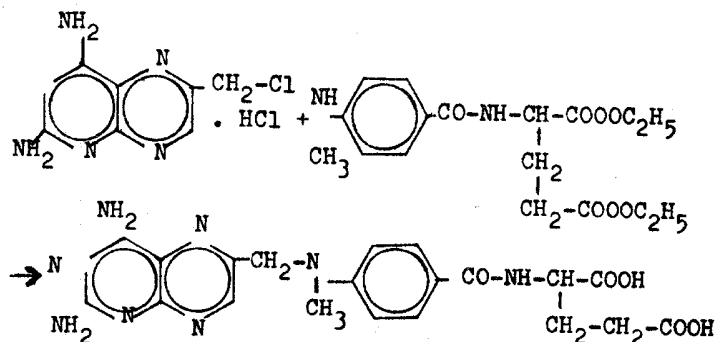
(75) BĚLUŠA JINDŘICH ing., DOLNÍ LOUČKY
Autor vynálezu
HRUŠKOVÁ VĚRA RNDr.
PÍCHA FRANTIŠEK RNDr.

MISTR ADOLF ing.CSc.
HOLÍK MIROSLAV RNDr.CSc., BRNO

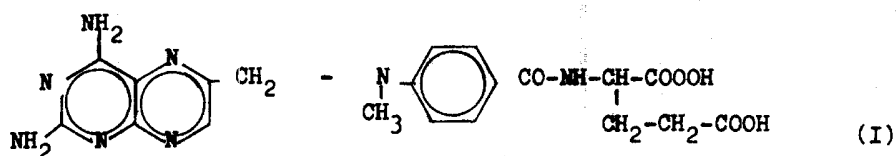
(54) Způsob výroby 4-amino-N¹⁰-methylpteroylglutamové kyseliny

Vynález se týká způsobu výroby kyseliny 4-amino-N¹⁰-methylpteroylglutamové nazývané také methotrexat, která se používá v humánní medicíně při léčení rakoviny. Methotrexat se doposud připravoval několika různými způsoby, které však byly poměrně nevýhodné. Způsob podle vynálezu spočívá v tom, že se kondenzuje 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochlorid s N- p-(N-methylamino)-benzoyl-glutamanem ethylnatým ve vodném prostředí za dané teploty, výše pH a po určitou dobu. 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochlorid se do reakční směsi přidává v organickém rozpouštědle, jako například v kyselině mravenčí. Výhodou tohoto způsobu přípravy methotrexatu je přímé využití diethylesteru kyseliny N- p-(N-methylamino)-benzoyl -glutamové. Čistota připraveného methotrexatu je vyšší než 95 %.

Reakci lze znázornit takto:



Vynález se týká způsobu výroby kyseliny 4-amino-N¹⁰-methylpteroylglutamové formule I

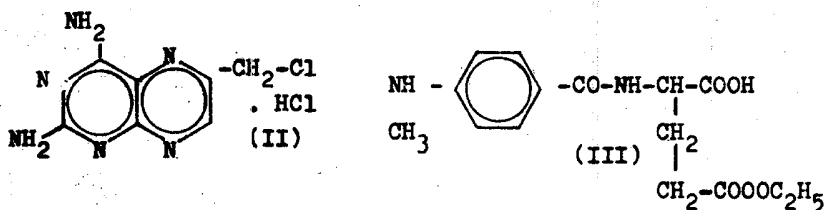


Tato sloučenina nazývaná též methotrexat se používá v humánní medicíně při terapii malignit.

Doposud známými způsoby se methotrexat připravuje kondenzací 2,4-diamino-6-brommethylpteridin hydrobromidu s N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamanem ethylnatým (Piper J.R., Montgomery J.A.: J.Org.Chem. 47, 208 /1977/). Nevýhodou tohoto způsobu je obtížná dostupnost 2,4-diamino-6-brommethylpteridin hydrobromidu. Tato látka se připravuje z 2,4-diamino-6-hydroxymethylpteridinu přes jeho hydrobromid vznikající reakcí s koncentrovanou kyselinou bromovodíkovou v ethanolu, dále reakcí s bromem, trifenylyfosfinem a dimethylacetamidem. Výtěžnost 2,4-diamino-6-brommethylpteridin hydrobromidu z těchto dvou reakčních kroků je pouze 20 %, počítáno na výchozí 2,4-diamino-6-hydroxymethylpteridin. Po ukončení reakce je nutné z reakční směsi odstranit dimethylacetamid destilací při teplotě 45 °C, což vyžaduje relativně vysoké vakuum (menší než 100 Pa). Kondenzace 2,4-diamino-6-brommethylpteridin hydrobromidu s N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamanem ethylnatým se provádí v dimethylacetamidu, který je obtížně dostupná surovina. Tato metoda je preparativně zajímavá, avšak málo vhodná pro větší technologie.

Další známý způsob přípravy methotrexátu spočívá v reakci 2,4-diamino-6-chlormethylpteridinu s N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamovou kyselinou (Brit.pat. 1 414 752). Nevýhodou tohoto postupu je použití N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamové kyseliny, protože tato sloučenina se připravuje zmydlením příslušného diethylesteru. Čistota methotrexátu připraveného tímto postupem je jen 60 %. Je nutné další čištění methotrexátu některou z chromatografických metod, což pro technologii znamená komplikaci zejména z hlediska časové i surovinové náročnosti.

Shora uvedené nevýhody odstraňuje způsob přípravy 4-amino-N¹⁰-methylpteroylglutamové kyseliny formule I, jehož podstata spočívá v tom, že se kondenzuje 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochlorid (formule II) s N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamanem ethylnatým (formule III)



za přítomnosti vody při teplotě 10 až 80 °C po dobu 5 až 100 hodin, při pH 2 až 14. 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochlorid se přidává k reakční směsi v organickém rozpouštědle, například v kyselině mravenčí. Výhodou tohoto nového způsobu přípravy methotrexátu je, že využívá přímo diethylesteru kyseliny N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamové v kombinaci s 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochloridem, relativně snadno dostupným reakcí

212 988

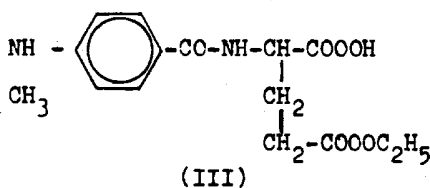
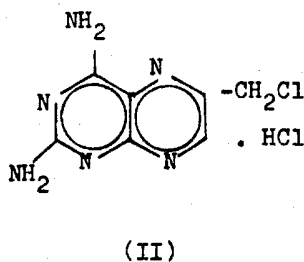
2,4-diamino-5-hydroxymethylpteridinu s thionylchloridem ve výtěžku 90 %. Čistota připraveného methotrexatu je vyšší než 95 % (vysokotlaká kapalinová chromatografie). Takto připravený methorexat nevyžaduje další čištění a je vhodný pro použití v humánní medicíně po úpravě do lékové formy.

Příklad

Ke 125 ml 0,2 M NaOH bylo přidáno 3,5 g N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamanu ethylnatého. Po 2 hodinách míchání při 20 °C byl přidán roztok 30 g octanu sodného ve 150 ml vody. pH reakční směsi bylo upraveno 1 N HCl na 4,2. K takto upravenému roztoku byl v průběhu 1 hodiny přidán roztok 2 g 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochloridu v 15 ml kyseliny mravenčí 85%ní za míchání. Potom byla reakční směs vyhřátá na 45 až 50 °C a při této teplotě míchána 20 hodin. Vyloučená oranžová látka byla odfiltrována, rozpuštěna ve vodě při pH kolem 10,5 až 11 (pH upraveno uhličitánem sodným). Roztok byl krátce zahřát na 60 °C. Vyloučená objemná sraženina byla odfiltrována. Filtrát byl ochlazen na 2 až 4 °C a pH upraveno 1 n HCl na 7. Roztok byl čištěn karborafinem. Filtrát byl okyselen 1 N HCl na pH 2 až 4. Vyloučená oranžověžlutá sraženina methotrexatu byla odsáta, promyta vodou a ethanolem. Sušena ve vakuu za nepřístupu světla při teplotě do 50 °C. Výtěžek 1,5 g čistoty min. 95 % (vysokotlaká kapalinová chromatografie).

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby 4-amino N¹⁰-methylpteroylglutamové kyseliny formule I vyznačený tím, že reaguje 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochlorid (formule II) s N-[p-(N-methylamino)-benzoyl]-glutamanem ethylnatým (formule III)



za přítomnosti vody při teplotě 10 až 60 °C po dobu 5 až 100 hodin při pH 2 až 14.

2. Způsob podle bodu 1 vyznačený tím, že se 2,4-diamino-6-chlormethylpteridin hydrochlorid přidává do reakční směsi v organickém rozpouštědle, například v kyselině mravenčí.