

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2019

Viola Feixová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Ústav organické chemie a technologie

Příprava prekurzorů léčiva Rivaroxaban

Viola Feixová

Bakalářská práce

2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Viola Feixová**
Osobní číslo: **C15114**
Studijní program: **B2830 Farmakochemie a medicínální materiály**
Studijní obor: **Farmakochemie a medicínální materiály**
Název tématu: **Příprava prekurzorů léčiva Rivaroxaban**
Zadávající katedra: **Ústav organické chemie a technologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Proveďte literární rešerši týkající se možností syntézy léčiva Rivaroxaban.
2. Vhodným syntetickým postupem připravte prekurzor léčiva Rivaroxaban, ze kterého lze toto léčivo syntetizovat s využitím asymetrické Henryho reakce.
3. Jednotlivé meziproducty charakterizujte pomocí dostupných analytických metod.
4. Výsledky vyhodnoťte a zpracujte formou závěrečné zprávy.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Všechna dostupná chemická literatura.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.

Ústav organické chemie a technologie

Datum zadání bakalářské práce: **28. února 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2018**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



prof. Ing. Miloš Sedlák, DrSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2018

Prohlášení autora

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 04. 07. 2019

Viola Feixová

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří doc. Ing. Pavlu Drabinovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu vypracování této práce věnoval. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Evě Horákové, Ph.D., Ing. Gabriele Novákové a Bc. Martinovi Vrbickému za pomoc při měřeních v laboratořích. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině za podporu při studiu.

ANOTACE

Bakalářská práce popisuje přípravu *N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(ethoxykarbonyl)aminoethanolu jakožto prekurzoru humánního léčiva – antikoagulancia Rivaroxaban. Z tohoto prekurzoru lze Rivaroxaban syntetizovat v neracemické formě s využitím asymetrické Henryho reakce. Příprava prekurzoru byla provedena sedmi-krokovou syntézou vycházející z levného, komerčně dostupného *N*-fenylaminoethanolu. Reakční podmínky jednotlivých reakčních kroků byly optimalizovány za účelem maximalizace výtěžků. Všechny meziprodukty a cílový prekurzor byly charakterizovány pomocí dostupných analytických metod.

KLÍČOVÁ SLOVA

Antikoagulancia; Rivaroxaban; Inhibitor faktoru Xa; Morfolin-3-onové deriváty; Asymetrická Henryho reakce

ANNOTATION

This bachelor's thesis describes the preparation of *N*-[4-(3-oxomorpholine-4-yl)phenyl]-*N*-(ethoxycarbonyl)aminoethanal as the precursor of human drug – the anticoagulant Rivaroxaban. This precursor can be utilized for preparation of Rivaroxaban in non-racemic form *via* asymmetric Henry reaction. The preparation of the precursor consists of seven-step synthesis, starting from commercially available and relatively cheap *N*-phenylaminoethanol. The reaction conditions of individual reaction steps were optimized in order to maximizing the yields. All intermediates and target precursor were characterized by available analytical methods.

KEYWORDS

Anticoagulant drugs, Rivaroxaban, Inhibitor of Factor Xa, Morpholine-3-one derivatives, Asymmetric Henry reaction.

OBSAH

Seznam zkratk	11
Cíle práce	12
1. Teoretická část.....	13
1.1. Léčiva ovlivňující srážlivost krve	13
1.1.1 Antitrombotika	13
1.2. (S)-Rivaroxaban (1).....	13
1.3. Syntézy léčiva Rivaroxaban (1)	14
1.3.1. Chirální stavení bloky.....	14
1.3.2. Syntéza vycházející z (S)-glycidylftalimidu (2)	15
1.3.3. Syntéza vycházející z (R)-epichlorhydrinu ((R)- 4)	19
1.3.4. Syntéza vycházející z (S)-epichlorhydrinu ((S)- 4)	22
1.3.5. Syntéza vycházející z (R)-glycidyl butyrátu (5)	26
1.3.6. Syntéza vycházející z (S)-3-aminopropan-1,2-diolu (3).....	28
2. Experimentální část	30
2.1. Obecné postupy a použitá přístrojová technika	30
2.2. Příprava N-fenyl-N-(2-hydroxyethyl)chloracetamidu (57)	31
2.3. Příprava N-fenyl-N-(2-hydroxyethyl)iodacetamidu (58)	32
2.4. Příprava N-fenylmorfolin-3-onu (25).....	33
2.4.1. Pokus a)	33
2.4.2. Pokus b)	33
2.4.3. Pokus c)	34
2.4.4. Pokus d)	34
2.4.5. Pokus e)	35
2.4.6. Pokus f).....	35
2.5. Příprava N-(4-nitrofenyl)morfolin-3-onu (9)	36
2.6. Příprava N-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (10).....	37

2.7.	Příprava <i>N,N'</i> -bis[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]močoviny (60)	38
2.8.	Příprava <i>O</i> -ethyl- <i>N</i> -[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]karbamátu (34)	39
2.9.	Příprava <i>O</i> -ethyl- <i>N</i> -[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]- <i>N</i> -(2,2-diethoxyethyl)karbamátu (61)	40
2.9.1.	Pokus a)	40
2.9.2.	Pokus b)	40
2.9.3.	Pokus c)	40
2.10.	Příprava <i>N</i> -[4-(2,2-dimethoxyethylamino)fenyl]morfolin-3-onu (62)	41
2.10.1.	Pokus a)	41
2.10.2.	Pokus b)	42
2.11.	Příprava <i>O</i> -ethyl- <i>N</i> -[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]- <i>N</i> -(2,2-dimethoxyethyl)karbamátu (63)	42
2.11.1.	Pokus a)	42
2.11.2.	Pokus b)	43
2.12.	Příprava <i>N</i> -[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]- <i>N</i> -(ethoxykarbonyl)aminoethanal (64)	44
3.	Výsledky a diskuze	45
3.1.	Retrosyntetická analýza přípravy léčiva Rivaroxabanu (1) s využitím asymetrické Henryho reakce	45
3.2.	Zhodnocení syntézy jednotlivých sloučenin	47
3.2.1.	Příprava <i>N</i> -(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (10)	47
3.2.2.	Příprava acetalu 61 s využitím retrosyntetické analýzy A	51
3.2.3.	Příprava acetalu 63 s využitím retrosyntetické analýzy B	53
	Závěr	56
	Použitá literatura	57
	Přílohy	59

Seznam zkratek

CIP	Cahn-Ingold-Prelog
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropylethylamin
DMAP	4-dimethylaminopyridin
EtOAc	ethyl-acetát
ICH	Mezinárodní rada pro harmonizaci technických požadavků na registraci léčiv pro humánní použití
IPA	isopropylalkohol
LiHMDS	lithium-bis(trimethylsilyl)amid
Me-THF	2-methyltetrahydrofuran
NBS	<i>N</i> -bromsukcinimid
NMP	<i>N</i> -methylpyrrolidon
NMR	nukleární magnetická rezonance
TBAT	tetrabutylammonium-difluorotriphenylsilikát
TBT	tributylcín
TEA	triethylamin

Cíle práce

Tato práce se zabývá přípravou meziprojektu léčivé substance – antikoagulancia (S)-Rivaroxabanu, ze kterého by bylo možné syntetizovat toto léčivo prostřednictvím asymetrické Henryho reakce. Cílem je připravit tento prekurzor léčiva co nejjednodušší metodou. Použité výchozí látky by měly být relativně levné a netoxické. Jednotlivé meziprojektu měly být charakterizovány dostupnými analytickými metodami.

1. Teoretická část

1.1. Léčiva ovlivňující srážlivost krve

Jedná se o léčiva, která ovlivňují agregaci trombocytů. Tromby vznikají koagulací krve (hemostáza). Koagulace je složitý proces zahájen shlukováním trombocytů na poškozené cévní stěně. V místě poranění cévní stěny vzniká slabá trombocytová zátka. K jejímu zpevnění dochází v důsledku přeměny proteinu fibrinogenu (rozpuštěný v plazmě) na nerozpustný fibrin. Tato přeměna je uskutečněna díky koagulačnímu faktoru IIa – thrombinu.^[1]

Po zahojení poraněného místa začíná další složitý proces nazývaný fibrinolýza, při němž dochází k odstranění trombu. V tomto procesu má hlavní roli proteolytický enzym plasmin, vzniklý z proenzymu plasminogenu. Ve zdravém organismu jsou tyto dva procesy v rovnováze, nadměrná hemokoagulace může vést k trombózám, naopak, nedostatečná ke zvýšené krvácivosti. Ta může být způsobena i nadměrnou fibrinolýzou.^[1]

1.1.1 Antitrombotika

Antitrombotika je souhrnný název pro několik dalších skupin léčiv. **Antikoagulancia** – tyto léčiva snižují srážlivost krve. Mohou působit dvěma možnými mechanismy. U prvního z nich léčivo působí na krevní enzym trombin (katalyzuje přeměnu fibrinogenu na fibrin). V druhém případě jde o léčiva s inhibicí faktoru Xa (enzym v koagulační kaskádě). **Antiagregancia** – jsou léčiva, která působí na receptory trombocytů, jejichž funkcí je zastavení krvácení v místě poranění. **Fibrinolytika** – jedná se o léčiva působící na fibrinogen (plazmatický glykoprotein), rozpouštějí už vzniklé tromby.^{[1],[2]}

1.2. (S)-Rivaroxaban (1)

Toto léčivo (Obr. 1) bylo vyvinuto a patentováno firmou Bayer HealthCare AG^[3] a schválené FDA a EMEA v roce 2011. V současnosti je vyráběno a prodáváno firmou Janssen Pharmaceutica (Johnson & Johnson) pod obchodním názvem Xarelto^{®[4]}. Rivaroxaban patří mezi tzv. NOAC – new oral anticoagulants (hlavními zástupci NOAC jsou: Dabigatran, Rivaroxaban, Apixaban). Mechanismus účinku léčiva spočívá v přímé inhibici faktoru Xa, **Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.** který je zodpovědný za přeměnu protrombinu na trombin prostřednictvím komplexu protrombinázy. Inhibice faktoru Xa způsobuje snížení produkce trombinu, což přerušuje dráhy krevní koagulační kaskády, zatímco příznivé koncentrace trombinu zůstávají nedotčeny. Díky zablokování produkce trombinu se snižuje riziko tvorby

krevních sraženin a léčí se již vzniklé sraženiny,^[3] snižuje riziko mrtvice u pacientů s fibrilací síní a je vhodný k léčbě i prevenci venózního tromboembolismu.^[2]

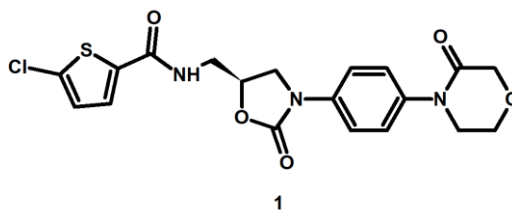
Hlavní výhodou Rivaroxabanu je:

- a) široká terapeutická oblast;
- b) vhodný pro případ, kdy je obtížné podávat antivitaminy K kumarinového typu (např. Warfarin);
- c) příznivá farmakokinetika (nástup účinku je cca 2–4 hodiny, poločas 7–11 hodin) – při dlouhodobém užívání lze podávat pouze 1× denně.

Nevýhody Rivaroxabanu:

- a) v současné době neexistuje jeho antidotum.

Při syntéze (*S*)-Rivaroxabanu (**1**) musí být brán ohled na absolutní konfiguraci ve struktuře této chirální látky, protože pouze (*S*)-enantiomer vykazuje silnou inhibiční aktivitu vůči faktoru Xa, zatímco (*R*)-enantiomer je prakticky neaktivní.^[6]

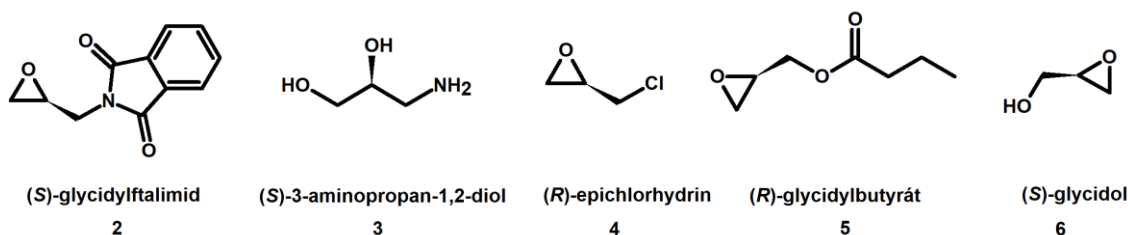


Obr. 1: Strukturální vzorec léčiva (*S*)-Rivaroxaban (**1**)

1.3. Syntézy léčiva Rivaroxaban (**1**)

1.3.1. Chirální stavení bloky

Syntézy léčiva Rivaroxabanu (**1**) v enantiomerně čisté formě jsou založeny na využití vhodného chirálního stavebního bloku majícího vhodnou absolutní konfiguraci na stereogenním centru. Mezi tzv. „chirální building blocky“, které byly použity pro přípravu Rivaroxabanu (**1**), patří (*S*)-glycidylftalimid, (*S*)-3-aminopropan-1,2-diol, (*R*)- i (*S*)-epichlorhydrin, (*R*)-glycidylbutyrát a (*S*)-glycidol,^[7] který slouží jako základní stavební blok pro (*S*)-3-chloropropan-1,2-diol, jak můžeme vidět na Obr. 2.



Obr. 2: Chirální stavební bloky použité pro syntézu Rivaroxabanu (**1**)

1.3.2. Syntéza vycházející z (*S*)-glycidylftalimidu (**2**)

První syntéza Rivaroxabanu (**1**) byla provedena Roehrigem a kol.^[6] Tento postup (Schéma 1) zahrnoval nejprve kondenzaci morfolin-3-onu (**7**) s 1-fluor-4-nitrobenzenem (**8**), za použití NaH jako báze a *N*-methylpyrrolidonu jako rozpouštědla. *N*-(4-Nitrofenyl)morfolin-3-on (**9**), vzniklý v nízkém výtěžku 18 %, byl redukován H₂ za katalýzy Pd-C v THF s výtěžkem 38 %. Získaný *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-on (**10**) byl podroben reakci s (*S*)-glycidylftalimidem (**2**) ve směsi voda/ethanol poskytující aminoalkohol **11** s dobrým výtěžkem 92 %. Následně byla provedena cyklizace působením CDI v přítomnosti DMAP a THF jako rozpouštědla za vzniku karbamátu **12** ve výtěžku 87 %. Deprotekce ftalimidové skupiny sloučeniny **12** byla provedena působením methylaminu v ethanolu a následná kondenzace sloučeniny **13** s 5-chlorthiofen-2-karbonylchloridem (**14**) v pyridinu poskytla Rivaroxaban (**1**) s výtěžkem 86 %.

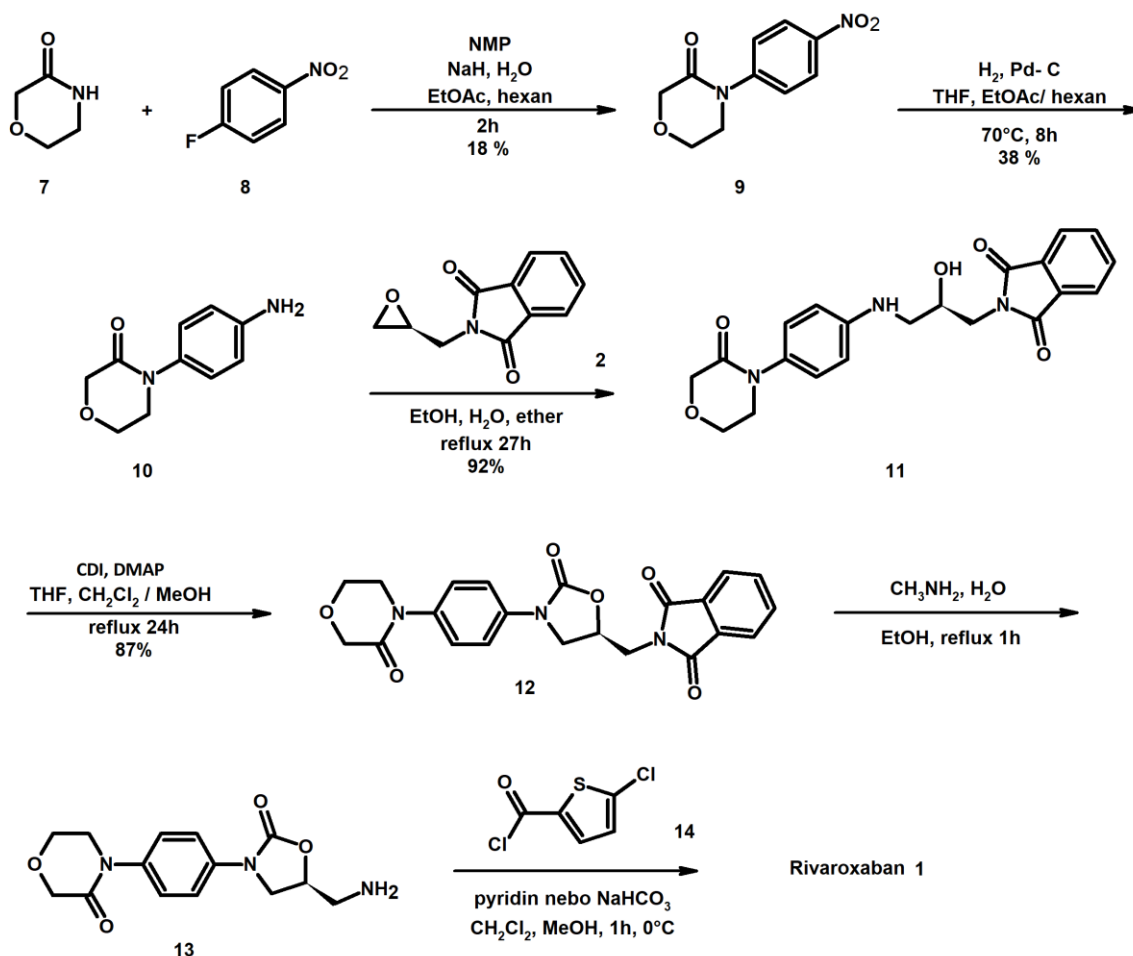


Schéma 1: Syntéza Rivaroxabanu (1) vyvinutá Roehrigem a kol.^[6] vycházející z (S)-glycidylftalimidu (2)

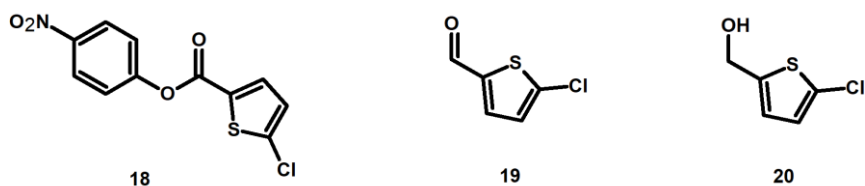
Výše uvedený způsob má mnoho nevýhod, jako například:

- využívá vysoce pyroforická činidla, jako je NaH;
- použití hořlavých rozpouštědel, jako je diethylether;
- nízké výtěžky některých kroků jsou spojeny se vznikem vedlejších produktů a nečistot;
- čištění některých sloučenin sloupcovou chromatografií činí celou syntézu problematickou z hlediska technologického provedení;
- nízký celkový výtěžek 4,5 % činí tento postup ekonomicky nevýhodným pro komerční produkci Rivaroxabanu (1).

Vzhledem k těmto nevýhodám lze tento proces využít pro syntézu Rivaroxabanu (1) pouze v malém měřítku.

1.3.2.1. Účinná metoda syntézy Rivaroxabanu (1) vycházející z (S)-glycidylftalimidu (2)

Mali a kol.^[8] vyvinuli efektivní, ekonomický výhodnější a bezpečnější postup pro syntézu Rivaroxabanu (1) ve vysoké čistotě. Tento postup využívá totiž méně nákladná, komerčně dostupná činidla a chemikálie. Syntéza (Schéma 2) vychází z levného 4-nitroanilinu (15), který byl kondenzací s kyselinou 2-(2-chlorethoxy)octovou (16) za katalýzy kyselinou boritou v toluenu transformován na příslušný amid 17 s výtěžkem 50 %. Jeho následná cyklizace v přítomnosti TBAB jako katalyzátoru fázového přenosu poskytla nitroderivát 9 s výtěžkem 90 %. Následná hydrogenace za použití Pd-C, jako katalyzátoru, v MeOH vedla ke vzniku sloučeniny 10 s výtěžkem 75 %. Kondenzace sloučeniny 10 s (S)-glycidylftalimidem (2) byla v tomto případě provedena v IPA jako rozpouštědle s prakticky kvantitativním výtěžkem sloučeniny 11. Působením CDI na sloučeninu 11 v CH₂Cl₂ a v přítomnosti K₂CO₃ jako báze byl získán karbamát 12 s výtěžkem 95 %. Deprotekci sloučeniny 12 pomocí methylaminu a následným přidáním koncentrované HCl byl získán hydrochlorid aminu 13. Bylo však zjištěno, že deprotektce je doprovázena vznikem vedlejších produktů, které musely být odstraněny rekrystalizací ze směsi MeOH a CH₂Cl₂ nebo sloupcovou chromatografií. Mali a spol.^[8] dále studovali tři alternativní syntetické metody využívající různá činidla (18–20) pro zavedení 5-chlorthiofen-2-karboxylové skupiny (Obr. 3). Jako nejvýhodnější bylo vyhodnoceno použití činidla 18, neboť v tomto případě je Rivaroxaban (1) v závěrečném reakčním kroku izolován krystalizací z reakční směsi ve stejné nádobě, čímž dochází ke zjednodušení ve zpracování. Takto vzniklý Rivaroxaban (1) je kvality ICH s požadovanou polymorfní formou,^[9] a byl získán s celkovým výtěžkem 22 % a čistotou 99,85 % dle HPLC.



Obr. 3: Alternativní činidla pro závěrečný krok syntézy Rivaroxabanu (1) vyvinuté Malim a kol.^[8]

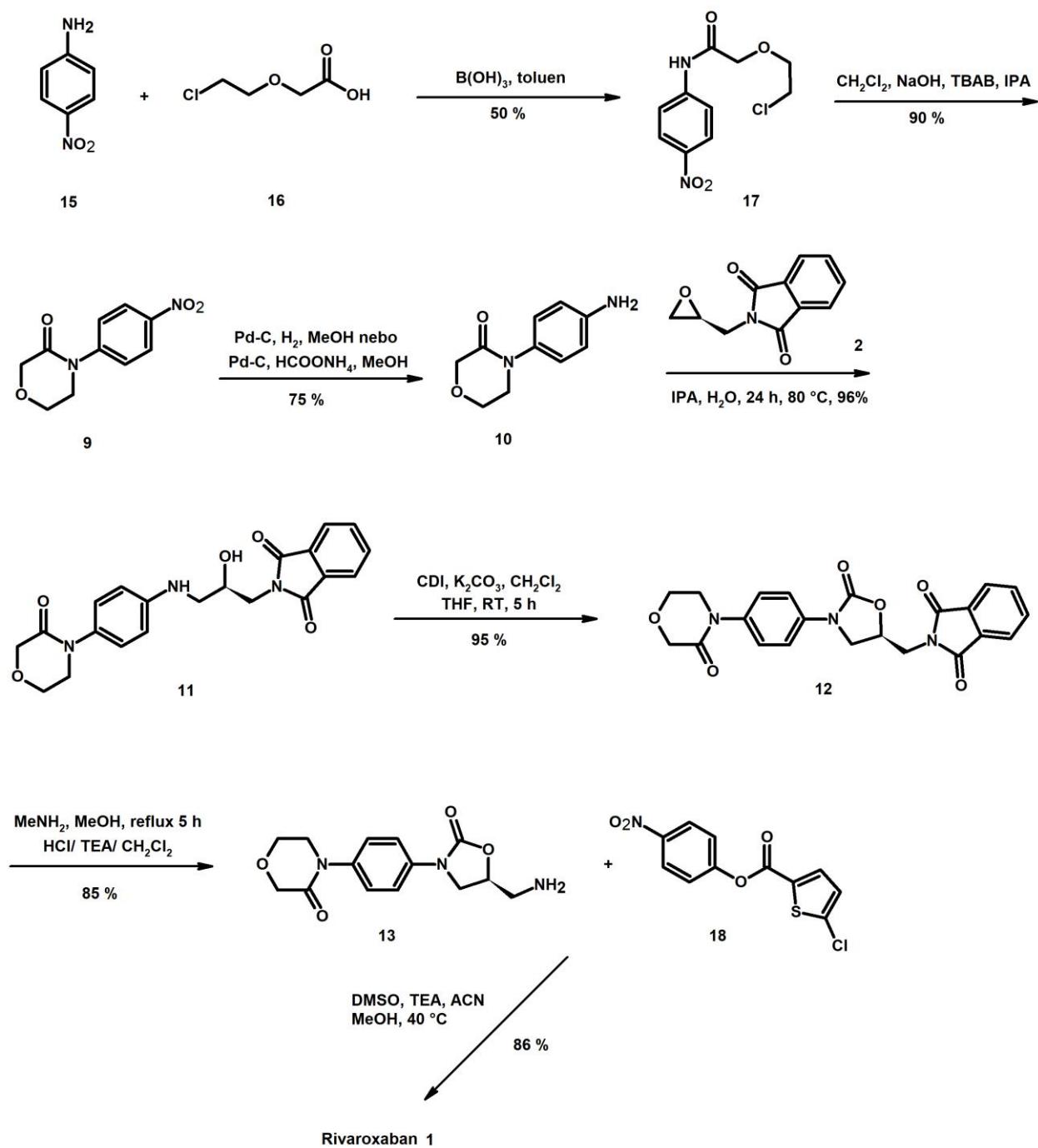


Schéma 2: Syntéza Rivaroxabanu (1) vyvinutá Malim a kol.^[8]

1.3.3. Syntéza vycházející z (*R*)-epichlorhydrinu ((*R*)-4)

1.3.3.1. Metoda využívající Goldbergovu kondenzační reakci

Yuan a kol.^[10] vyvinuli účinnou a snadnou cestu pro syntézu Rivaroxabanu (**1**) za použití komerčně dostupného (*R*)-epichlorhydrinu ((*R*)-4) a brombenzenu (**24**) (Schéma 3). Léčivo **1** bylo získáno reakční sekvencí zahrnující šest reakčních kroků, s celkovým výtěžkem 39 %. Klíčovou reakcí pro získání Rivaroxabanu (**1**) byla Goldbergova kondenzační reakce. Tato metoda je jednodušší a používá levnější chemikálie ve srovnání s dříve publikovanými metodami.^[10]

Při tomto postupu byl nejprve komerčně dostupný (*R*)-epichlorhydrin ((*R*)-4) kondenzován s NaOCN za vzniku (*R*)-chlormethyl-2-oxazolidinonu (**21**) s výtěžkem 79 %. Následně byla látka **21** působením ftalimidu draselného (**22**) při teplotě 80 °C po dobu 12 hodin převedena na sloučeninu **23** s výtěžkem 84 %. Druhým klíčovým meziproduktem byl *N*-(4-bromfenyl)morfolin-3-on (**26**). Ten byl připraven z morfolin-3-onu (**7**), reakcí s brombenzenem (**24**) v přítomnosti 1,2-diaminocyklohexanu, CuI a K₂CO₃ za vzniku *N*-fenylmorfolin-3-onu (**25**) a následnou bromací působením NBS v prostředí DMF, s celkovým výtěžkem 75 %. Následovala další Goldbergova kondenzační reakce, a to těchto dvou klíčových meziproduktů, tj. bromované sloučeniny **26** se sloučeninou **23**, v prostředí CuI, 1,2-diaminocyklohexanu a K₂CO₃ při teplotě 110 °C. Produkt Goldbergovy kondenzace byl získán s dobrým výtěžkem 79 %. Působením hydrátu hydrazinu v methanolu došlo k odstranění ftalimidové skupiny za vzniku sloučeniny **13**, která reakcí s kyselinou 5-chlorthiofen-2-karboxylovou (**27**) a thionylchloridem při refluxu v CH₂Cl₂ za přítomnosti TEA poskytla léčivo **1** ve formě bílé pevné látky s požadovanou optickou čistotou.^[10]

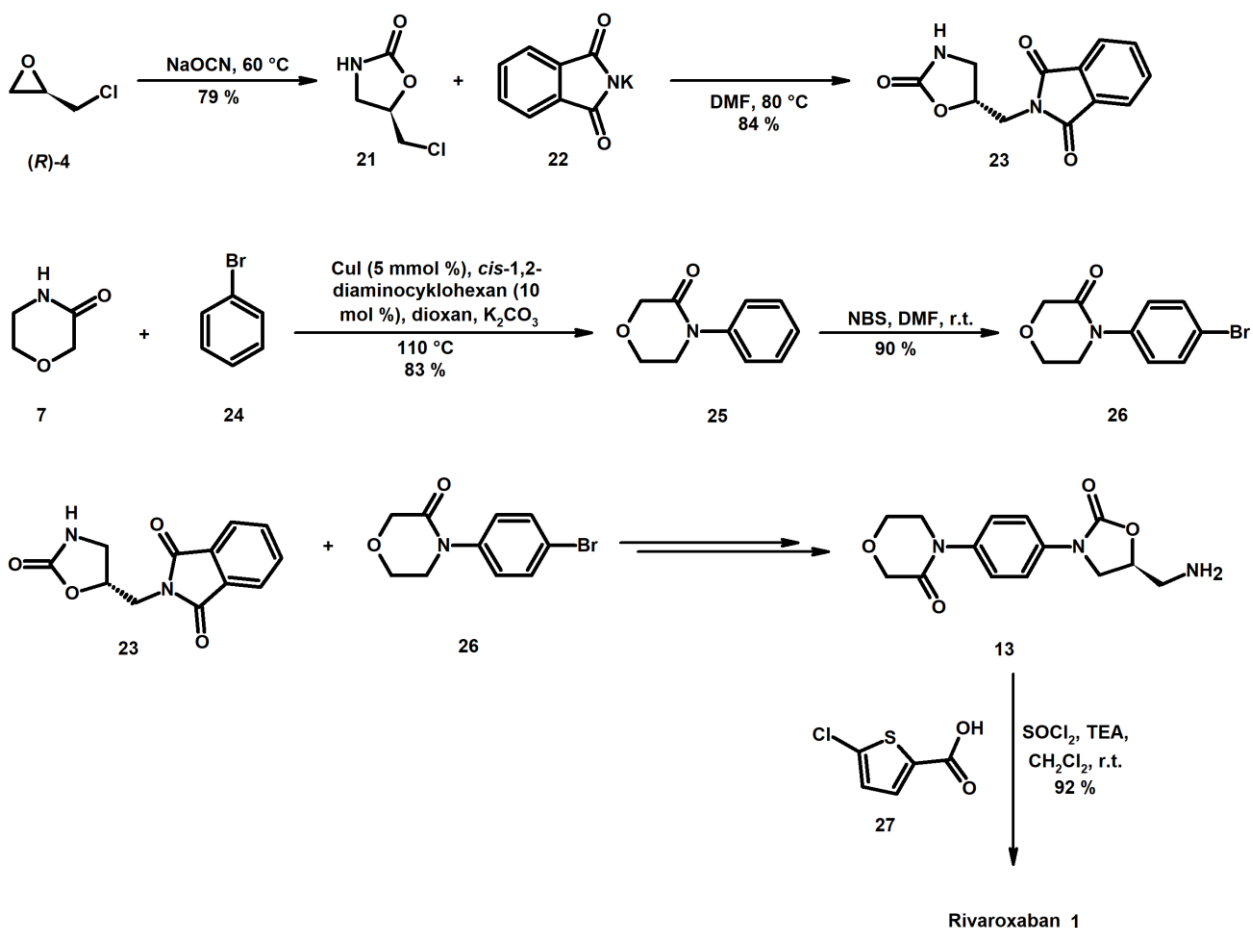


Schéma 3: Příprava Rivaroxabanu (1) dle Yuana a kol.^[10] s využitím Goldbergovy kondenzační reakce

1.3.3.2. Metoda využívající isokyanát-oxiranovou cykloadici

Syntéze Rivaroxabanu (1) s využitím isokyanát-oxiranové cykloadice se věnovali Li a kol.^[11] a také Xingxian a kol.^[12] Obě syntetické metody využívají jako výchozí látky této cykloadiční reakce 4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenylisokyanát (28) a (*R*)-epichlorhydrin ((*R*)-4).

Li a kol.¹¹ provedli isokyanát-oxiranovou cykloadici (*R*)-epichlorhydrinu ((*R*)-4) a 4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenylisokyanátu (28) za katalýzy MgI₂ etherátem v THF při refluxu. Produkt 29 byl získán s výtěžkem 78 %. Následnou reakcí s azidem sodným byl oxazolidinon (29) transformován na azid 30 (87% výtěžek), jehož hydrogenace poskytuje amin 13 s výtěžkem 91 %. Posledním krokem byla acylace aminu 13 5-chlorthiofen-2-karbonylchloridem (14) v přítomnosti TEA. Surový produkt byl podroben čištění flash-chromatografií, přičemž Rivaroxaban (1) byl získán s výtěžkem 80 % (Schéma 4).^[11]

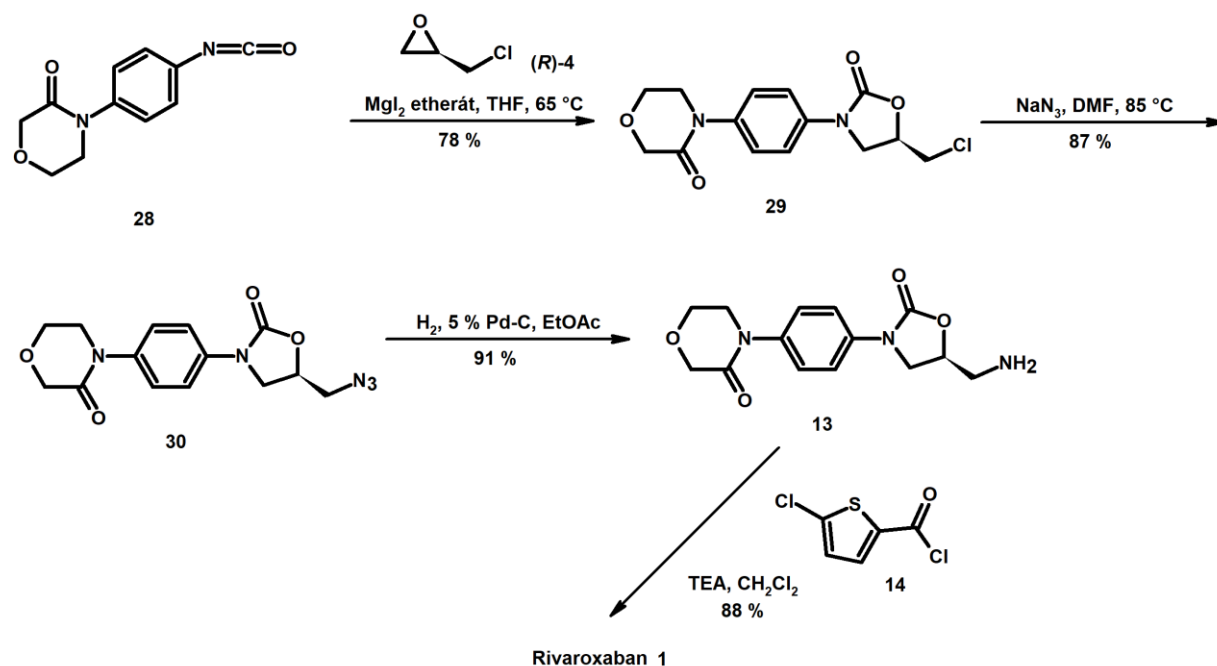


Schéma 4: Příprava Rivaroxabanu (1) s využitím isokyanát-oxiranové cykloadice dle Li a kol.^[11]

Xingxian a kol.^[12] syntetizovali léčivo stejnou reakční sekvencí jako Li a kol.^[11] Ve své práci se zaměřili na optimalizaci reakčních podmínek isokyanát-oxiranové cykloadice isokyanátu **28** a (*R*)-epichlorhydrinu (**(R)-4**). Jako katalyzátor studovali různé hořčnaté soli (MgBr_2 , MgCl_2 , MgI_2 , $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ a $\text{Mg}(\text{OTf})_2$), v přítomnosti THF nebo CH_2Cl_2 jako rozpouštědla. Nejlepšího výtěžku (78 %) dosáhli při použití 2,5 mmol MgBr_2 jako katalyzátoru a THF jako rozpouštědla za přítomnosti thiosíranu sodného.

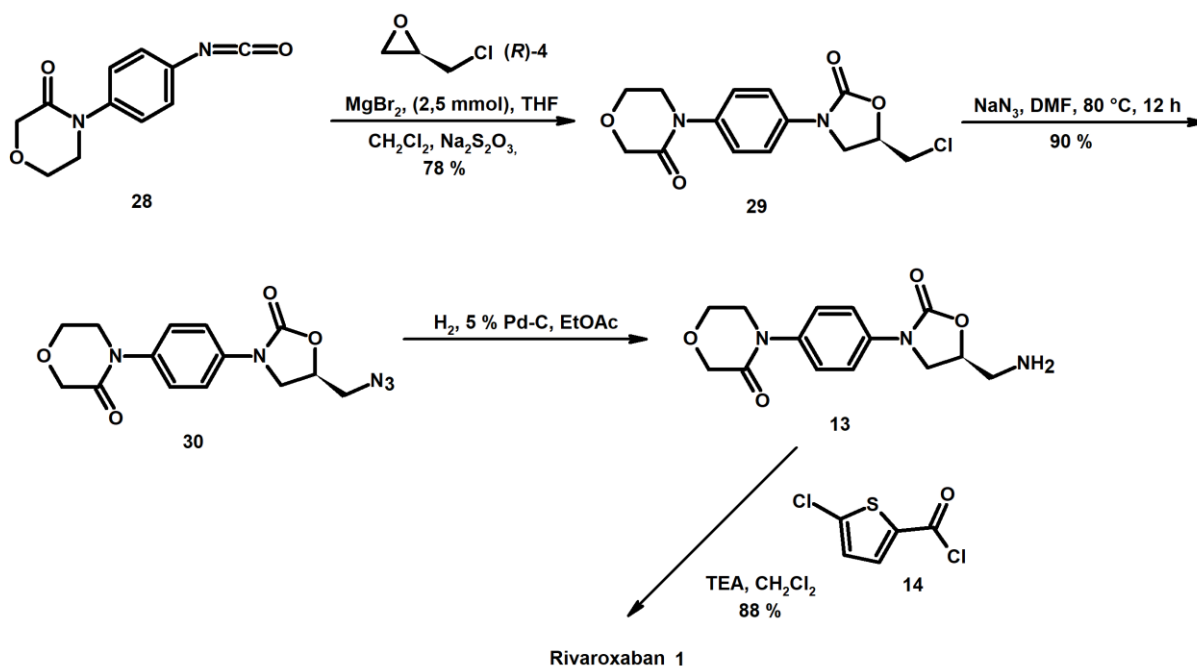


Schéma 5: Příprava Rivaroxabanu (**1**) s využitím isokyanát-oxiranové cykloadice dle Xingxiana a kol.^[12]

1.3.4. Syntéza vycházející z (*S*)-epichlorhydrinu ((*S*)-4)

Hua a kol.^[13] vyvinuli syntézu Rivaroxabanu (**1**), ve které byl jako zdroj chiralitity použit opačný, tj. (*S*)-, enantiomer epichlorhydrinu ((*S*)-4). Tato syntéza (Schéma 6) zahrnuje celkem pět reakčních kroků a používají se zde bezpečnější a levnější činidla. Z tohoto pohledu tento způsob vyhovuje výrobě léčiva v průmyslovém měřítku. Nejprve byla reakcí (*S*)-epichlorhydrinu ((*S*)-4) s azidem sodným ve vodě při 0°C připravena sloučenina **31** s výtěžkem 83 %. Hydroxylová skupina sloučeniny **31** byla následně acylována acetanhydridem v CH_2Cl_2 za přítomnosti pyridinu s výtěžkem 58 %. Vzniklá sloučenina **32** byla dále kondenzována s intermediátem **34**, který byl získán reakcí *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (**10**) s ethylchlorformiátem (**33**) v prostředí vodného NaHCO_3 a CH_2Cl_2 s výtěžkem 93 %. Kondenzace sloučenin **32** a **34** byla provedena v DMF jako rozpouštědla a *t*-BuOLi jako báze, přičemž výsledný azid **30** vznikl s výtěžkem 88 %. Azidová skupina sloučeniny **30** byla dále redukována hydrazinem v prostředí KOH a aktivního uhlí za vzniku aminu **12**. V posledním kroku byla provedena acylace aminu **13** 5-chlorthiofen-2-karbonylchloridem (**14**) v přítomnosti methansulfonylchloridu a suspenze NaHCO_3 v THF za vzniku Rivaroxabanu (**1**) s výtěžkem 60%.^[13]

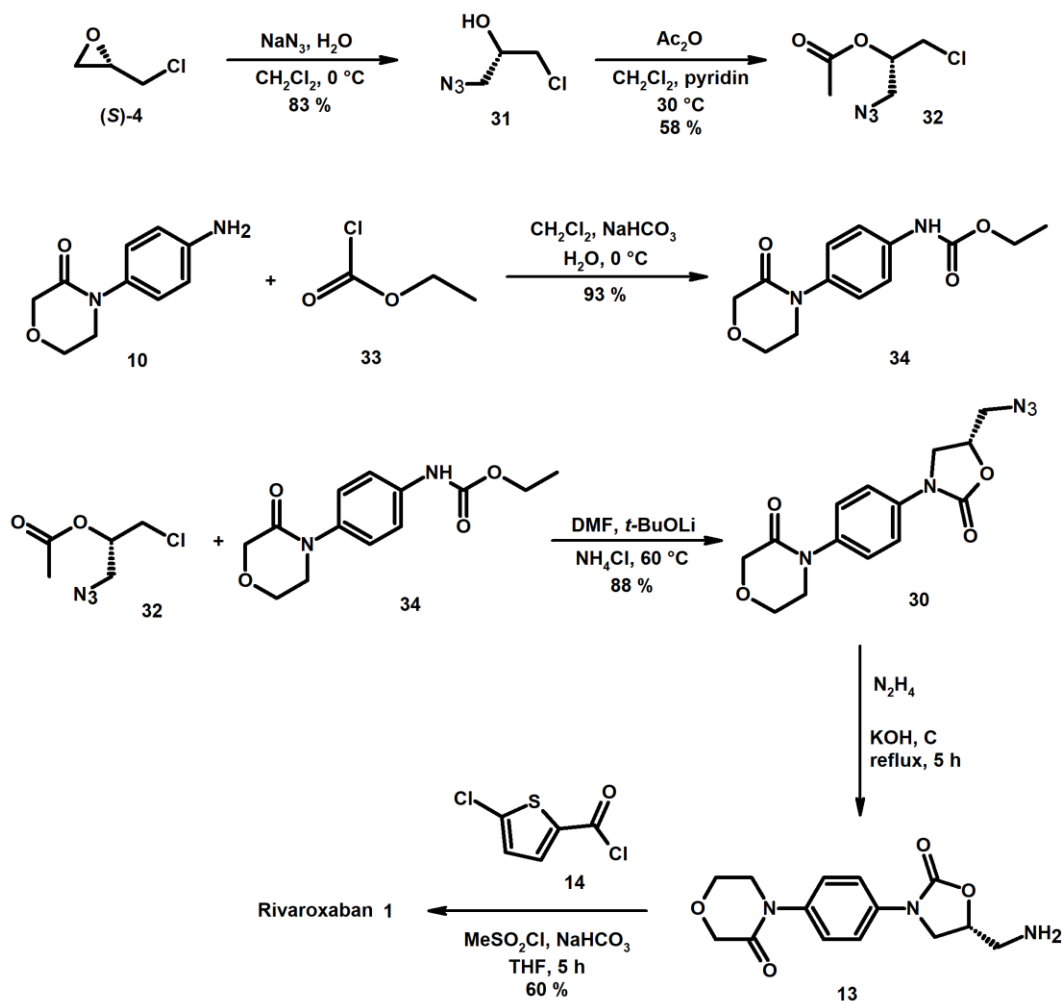


Schéma 6: Příprava Rivaroxabanu (1) vycházející z (*S*)-epichlorhydrinu ((*S*)-4) dle Hua a kol.^[13]

Jinou metodu syntézy Rivaroxabanu (1) s využitím (*S*)-epichlorhydrinu ((*S*)-4) představili Tangbo a kol.^[14] Jimi vyvinutá syntéza využívá sloučeniny, které jsou netoxické, levné a jednotlivé reakční kroky jsou z hlediska provedení jednoduché. Díky vysokým výtěžkům je tato metoda vhodná pro průmyslovou produkci Rivaroxabanu (1) (Schéma 7). Jako výchozí sloučenina byl použit (*S*)-epichlorhydrin ((*S*)-4), který byl nejprve podroben reakci s vhodně substituovaným benzaldehydem 35 v přítomnosti amoniaku za vzniku sloučeniny 36 s výtěžkem 85 %. Sloučenina 36 byla dále kondenzována s karbamátem 37, který byl připraven reakcí methyl-chlorformiátu a *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (10) v přítomnosti K_2CO_3 s kvantitativním výtěžkem. Kondenzace látek 36 a 37 byla provedena v přítomnosti *tert*-butylalkoholátu, přičemž cyklický karbamát 38 vznikl s 85 % výtěžkem. Působením roztoku HCl v *n*-butanolu (pH 1–2) na imin 38 byl získán hydrochlorid aminu 13. Po přidání látky 14, Na_2CO_3 a toluenu došlo k acylaci látky 13 za vzniku Rivaroxabanu (1) s celkovým výtěžkem 87,5 %.^[14]

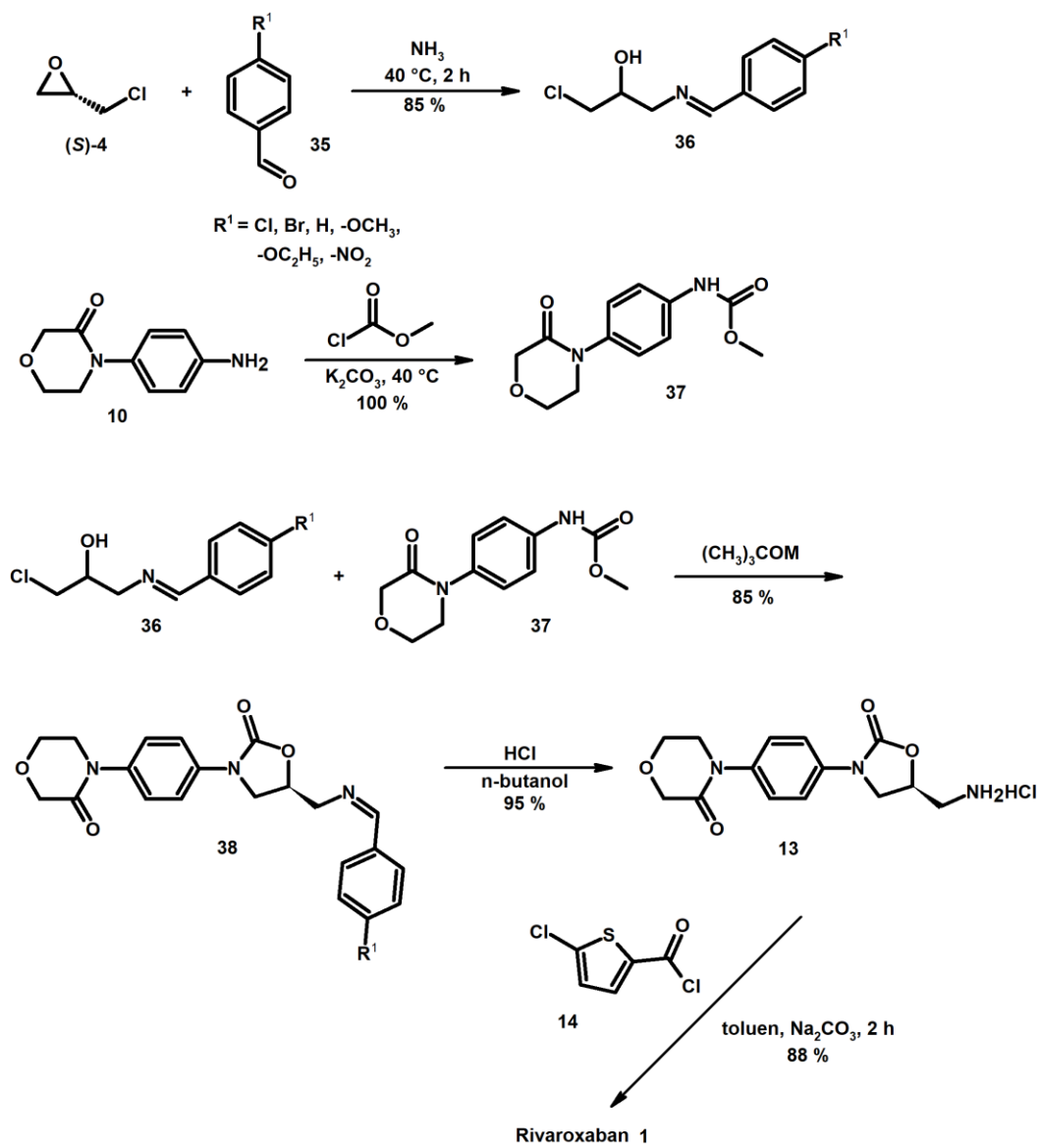


Schéma 7: Příprava Rivaroxabanu (1) vycházející z (*S*)-epichlorhydrinu ((*S*)-4) vyvinutá Tangbem a kol.^[14]

Sipos a kol.^[15] provedli jinou syntézu léčiva Rivaroxaban (**1**) za použití (*S*)-epichlorhydrinu ((*S*)-**4**) jako výchozí chirální sloučeniny (Schéma 8). (*S*)-Epichlorhydrin ((*S*)-**4**) byl nejprve podroben reakci s roztokem dibenzylaminu (**39**) v IPA, čímž vznikl derivát **40** s prakticky kvantitativním výtěžkem. V následném reakčním kroku byl oxiranový kruh otevřen reakcí se sloučeninou **10** v prostředí IPA, čímž vznikl meziprodukt **41** s výtěžkem 53 %. Absolutní konfigurace sloučeniny **41** je dle CIP pravidel (*R*)-. Tato sloučenina byla následně převedena reakcí s CDI v toluenu na karbamát **42** s výtěžkem 93 %. Dále byla provedena hydrogenolýza sloučeniny **42** v prostředí ledové kyseliny octové za přítomnosti katalyzátoru Pd-C a při tlaku H₂ 10 bar s výtěžkem 98 %. V posledním reakčním kroku byla sůl **43** podrobena reakci s látkou **13** v toluenu za přítomnosti Na₂CO₃, čímž vznikl surový Rivaroxaban (**1**) s výtěžkem 91 %. Ten byl rekrystalizován z ledové kyseliny octové s výtěžkem 88 % a s čistotou 99,88 % dle HPLC.^[15]

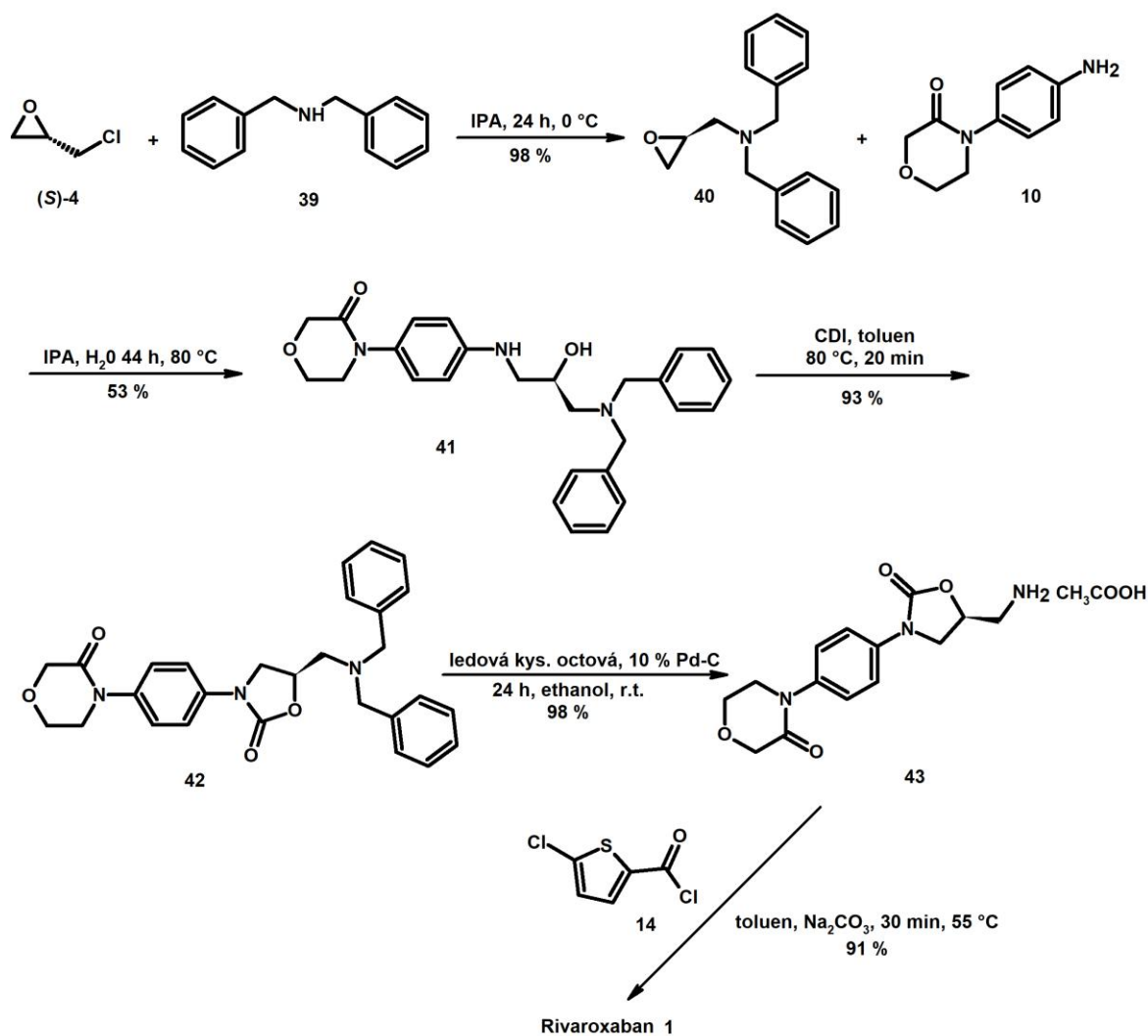


Schéma 8: Příprava Rivaroxabanu (**1**) vycházející z (*S*)-epichlorhydrinu ((*S*)-**4**) vyvinutá Siposovou a kol.^[15]

1.3.5. Syntéza vycházející z (*R*)-glycidyl butyrátu (5)

Rafecas a kol.^[16] provedli syntézu Rivaroxabanu (1), ve které byl chirálním „building blockem“ (*R*)-glycidyl butyrát (5). Tato metoda se vyznačuje relativně dobrými výtěžky a léčivo bylo získáno ve vysoké chemické i enantiomerní čistotě. Samotná syntéza není problematická z pohledu dopadů na životní prostředí, a proto je vhodná pro průmyslovou výrobu léčiva Rivaroxaban (1). Vlastní syntéza (Schéma 9) vycházela z *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (10), ve které byla nejdříve ochráněná aminoskupina. Chránění bylo provedeno reakcí s benzylchlorformiátem (44) v acetonu a za přítomnosti Na₂CO₃ jako báze za vzniku sloučeniny 45 s výtěžkem 86 %. Sloučenina 45 byla dále kondenzována s (*R*)-glycidyl butyrátem (5) za přítomnosti *t*-BuOLi jako báze a v THF jako rozpouštědla. Za těchto podmínek došlo k otevření oxiranového kruhu, následné reesterifikaci za vzniku karbamátu a hydrolyze esterové skupiny, což vedlo k meziproductu 46 ve formě krystalické látky s výtěžkem 80 %. Následně byla sloučenina 46 podrobena reakci s methansulfonfylchloridem v přítomnosti TEA jako báze a CH₂Cl₂ jako rozpouštědla, čímž vznikla sloučenina 47 v prakticky kvantitativním výtěžku. Reakcí látky 47 s *tert*-butylaminem (48) v IPA vznikl amin 49 s relativně nízkým výtěžkem 36 %. Následovala acylace aminu 49 sloučeninou 13 za přítomnosti TEA a CH₂Cl₂ s výtěžkem 81 % a u sloučeniny 50 bylo provedeno odstranění chránící skupiny 6 M HCl v EtOAc s výtěžkem 90 %. Následná rekrystalizace surového produktu z dioxanu poskytla Rivaroxaban (1) s výtěžkem 74 % a s čistotou 98 % dle HPLC.^[16]

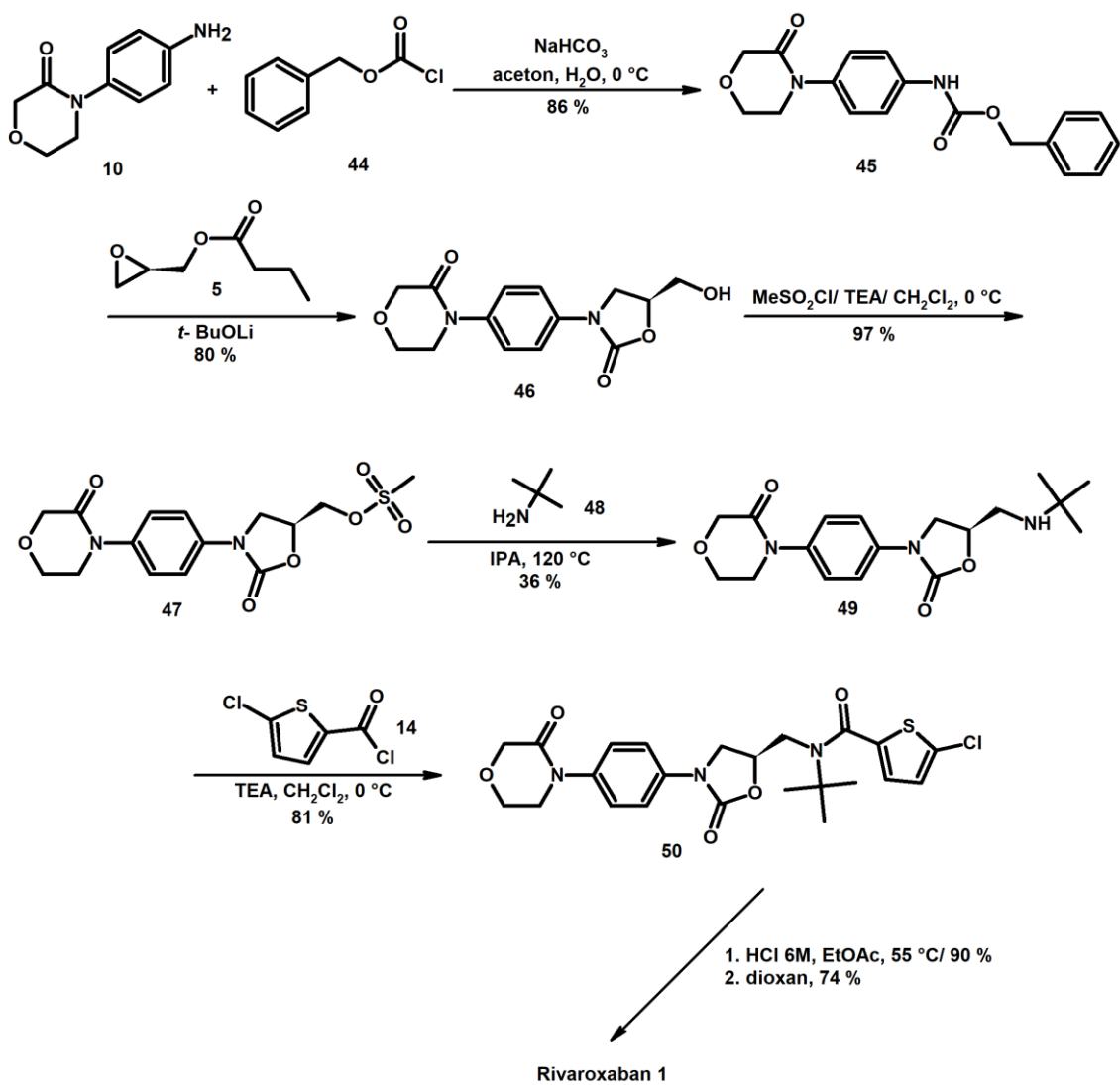


Schéma 9: Příprava Rivaroxabanu (1) vycházející z (S)-glycidyl butyrátu (5) vyvinutá Rafecasem a kol.^[16]

1.3.6. Syntéza vycházející z (*S*)-3-aminopropan-1,2-diolu (**3**)

Thomas a kol.^[17] vyvinuli další metodu syntézy Rivaroxabanu (**1**) (Schéma 10), při které použili jako chirální výchozí látku (*S*)-3-aminopropan-1,2-diol (**3**). Díky nepřítomnosti chránících skupin, je snížen počet reakčních kroků a celkově je syntéza časově i ekonomicky méně náročná než předchozí varianty. Při vlastní syntéze byl nejprve (*S*)-3-aminopropan-1,2-diol (**3**) acylován 5-chlorthiofen-2-karbonylchloridem (**14**) v přítomnosti NaHCO₃ jako báze a 2-methyltetrahydrofuranu jako rozpouštědla. Výtěžek acylace byl vysoký, za daných podmínek dosahoval 92 %. Vzniklá sloučenina **51** byla působením HBr v ledové kyselině octové převedena na bromderivát **52** s výtěžkem 71 %. V dalším kroku byla provedena substituce atomu bromu v látce **52** *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onem (**10**), a to v přítomnosti 2,4,6-kolidinu jako báze a toluenu jako rozpouštědla. Sloučenina **53** byla získána s výtěžkem 62 %. V posledním kroku bylo na sloučeninu **53** působeno CDI, což poskytlo léčivo Rivaroxaban (**1**) s výtěžkem 92 %.^[17]

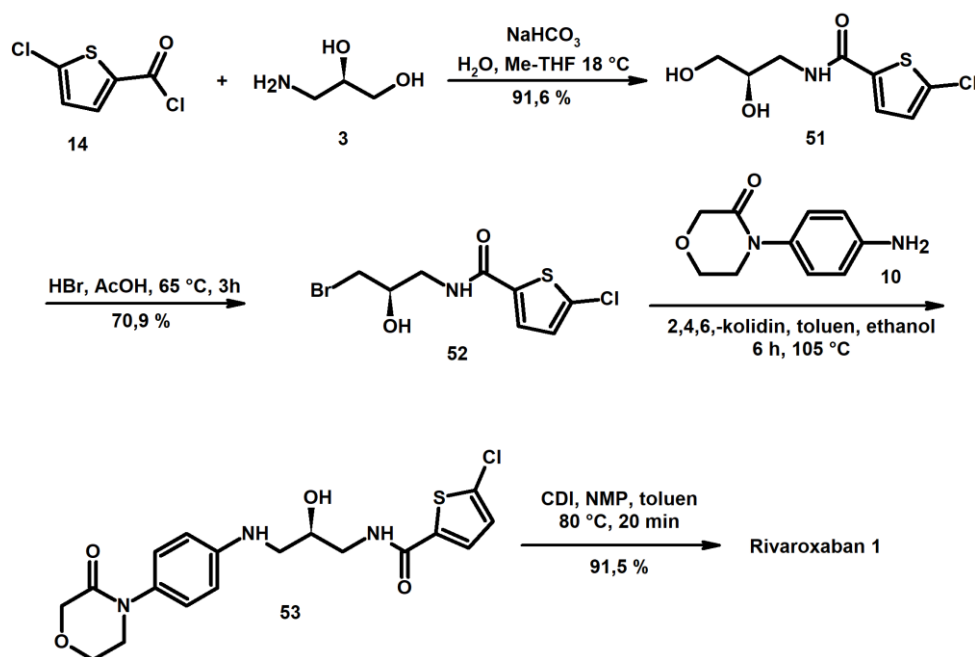


Schéma 10: Příprava Rivaroxabanu (**1**) vycházející z (*S*)-3-aminopropan-1,2-diolu (**3**) vyvinutá Thomasem a kol.^[17]

Sturm a kol.^[18] publikovali alternativní postup pro syntézu Rivaroxabanu (**1**) (Schéma 11), který se od metody popsané ve Schématu 10 liší ve způsobu aktivace primární alkoholové skupiny sloučeniny **51** pro nukleofilní reakci s aminem **10**. Sloučenina **51** je dle této metody acylována alkansulfonylchloridy v DMF, za přítomnosti pomocného činidla – tributylcín – za vzniku sulfonátu **54**. Tributylcín zde zajišťuje regioselektivní sulfonaci primární alkoholové skupiny derivátu **51** a snižuje množství vedlejších produktů. Další výhodou použití tohoto pomocného činidla je výrazně kratší reakční doba a fakt, že reakce probíhá při laboratorní teplotě, na rozdíl od reakce sloučeniny **51** s HBr (Schéma 10), kde reakce probíhala při teplotě 65 °C. V dalším kroku pak byla sloučenina **54** podrobena reakci s aminem **10** za přítomnosti fosgenu a pyridinu, což vedlo ke vzniku sloučeniny **55** s výtěžkem 78 %. V posledním kroku bylo reakcí s lithium-bis(trimethylsilyl)amidem jako bázi v THF vytvořeno cyklické karbamátové uskupení (výtěžek 89 %), čímž vzniklo požadované léčivo Rivaroxaban (**1**). Dalším rozdílem v metodě Thomase a kol.^[17] (Schéma 10) a Sturma a kol.^[18] (Schéma 11) je typ použitého karboxylačního činidla. Zatímco ve Schématu 10 je použit poněkud dražší, ale bezpečnější CDI, ve Schématu 11 je použit levný, avšak extrémně toxický fosgen, což tuto syntézu omezuje pouze na výrobu v malém měřítku nebo v specifických provozech.^{[17],[18]}

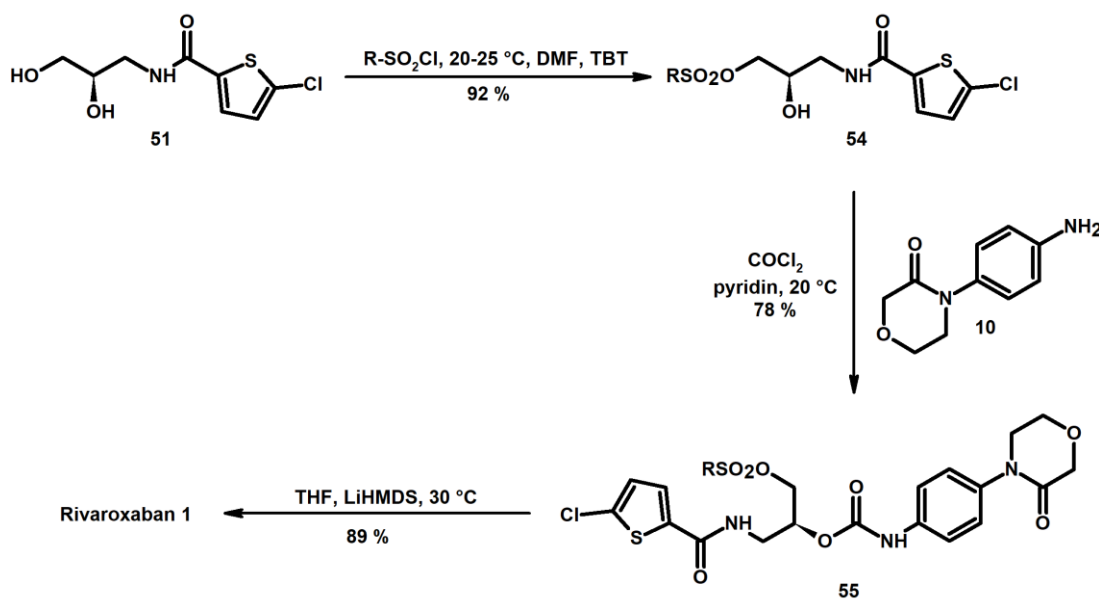


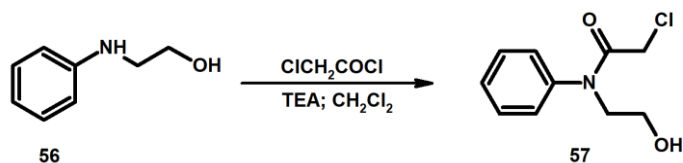
Schéma 11: Příprava Rivaroxabanu (**1**) vycházející z (S)-3-aminopropan-1,2-diolu (**3**) vyvinutá Sturmem a kol.^[18]

2. Experimentální část

2.1. Obecné postupy a použitá přístrojová technika

Výchozí sloučeniny byly zakoupeny u firmy Acros Organics, Sigma-Aldrich, Lach-Ner nebo Fluorochem. V případě magnetického míchání byla použita magnetická míchačka Heidolph. Zahřívání bylo realizováno v lázni silikonového oleje, nebo pomocí nástavce z kovové slitiny tvarované na kulaté destilační baňky Heidolph Dry-Syn. Teplota byla nastavována a kontrolována pomocí digitálního teplotního snímače. Rozpouštědla (CH_2Cl_2 , DMF, MeOH, MeCN, pyridin, toluen) byla v případě potřeby sušena molekulovým sítem (4 Å). Odpařování bylo prováděno rotační vakuovou odparkou Heidolph Laborota 4000 efficient s vakuovým systémem Vacuubrand PC 510. Pro sloupcovou chromatografii byl využit silikagel 60 (230–400 mesh). Tenkovrstvá chromatografie byla prováděna na hliníkových deskách potažených silikagelem (Merck DC, Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄), skvrny byly vyvolány pomocí UV záření. NMR spektra byla měřena na spektrometru Bruker Avance 400 nebo Bruker Ascend 500, při teplotě 25 °C. Byly použity cca 5 % roztoky látek. ¹H NMR spektra byla měřena při 400,13 MHz resp. 500,13 MHz, jsou kalibrována na střed multipletu signálu rozpouštědla CDCl_3 (δ 7,26 ppm) nebo $\text{DMSO-}d_6$ (δ 2,50 ppm). Spin-spinové interakční konstanty (*J*) jsou uvedeny v jednotkách hertz (Hz), multiplicity signálů jsou značeny: s (singlet), bs (široký singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), m (multiplet). ¹³C NMR spektra byla měřena při 100,62 MHz, jsou kalibrována na střed multipletu signálu rozpouštědla CDCl_3 (δ 77,23 ppm) nebo $\text{DMSO-}d_6$ (δ 39,51 ppm) a některá rozlišena metodou APT. Hmotnostní spektra s vysokým rozlišením (HR-MALDI-MS) byla měřena na přístroji Thermo Scientific MALDI LTQ Orbitrap. Použitou maticí byl 0,2 M roztok 2,5-dihydroxybenzoové kys. (DHB) v MeCN/H₂O (95/5). Spektra byla kalibrována vůči použité matici.

2.2. Příprava *N*-fenyl-*N*-(2-hydroxyethyl)chloracetamidu (**57**)

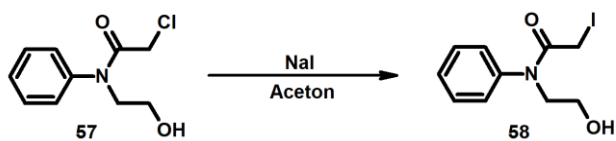


Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a příkapávací nálevkou byl předložen *N*-fenylaminoethanol (**56**) (1,37 g; 10 mmol) a TEA (1,4 ml; 10 mmol) v 15 ml suchého CH₂Cl₂. Vzniklý roztok byl ochlazen na ledové lázni a pak byl po kapkách během 30 min přidán roztok chloracetylchloridu (1,13 g; 10 mmol) v 10 ml suchého CH₂Cl₂. Suspenze byla míchána 1,5 hod. při teplotě 0 °C a 30 min při laboratorní teplotě. Ke směsi bylo přidáno asi 30 ml vody a mícháno dalších 10 min. Poté byla organická fáze oddělena, promyta 2× 25 ml vody a vysušena bezvodým Na₂SO₄. Po odpaření rozpouštědla za vakua bylo získáno 2,0 g olejovité látky **57**.

Výtěžek: 94 %

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,49–7,42 (m, 3H); 7,30 (m, 2H); 3,92 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H); 3,86 (s, 2H); 3,80 (m, 2H); 2,51 (t, *J* = 5,2 Hz, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 168,3; 141,5; 130,4; 129,2; 128,2; 61,1; 53,4; 42,1. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* pro C₁₀H₁₃ClNO₂ (M+H⁺) vypočteno: 214,06349; nalezeno: 214,06365.

2.3. Příprava *N*-fenyl-*N*-(2-hydroxyethyl)jodacetamidu (**58**)



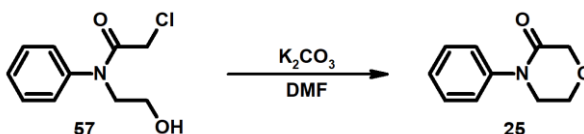
Do 50 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem byla předložena sloučenina **57** (1,05 g; 5 mmol), NaI (0,9 g; 6 mmol) a 5 ml bezvodého acetonu. Homogenní směs byla míchána po dobu 1 hod při laboratorní teplotě, přičemž postupně vznikala sraženina. Rozpouštědlo bylo poté odpařeno za vakua a zbytek byl suspendován v asi 30 ml vody. Sraženina byla zfiltrována na fritě, promyta vodou a vysušena ve vakuové sušárně. Bylo získáno cca 1,4 g olejovité látky **58**.

Výtěžek: 92 %.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,49–7,42 (m, 5H); 3,91 (t, *J* = 4,8 Hz, 2H); 3,81 (m, 2H); 3,64 (s, 2H); 3,24 (bs, 1H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 170,6; 141,9; 130,3; 129,1; 128,1; 60,6; 53,6; -1,8. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* pro C₁₀H₁₃INO₂ (M+H⁺) vypočteno: 305,99910; nalezeno: 305,99902.

2.4. Příprava *N*-fenylmorfolin-3-onu (**25**)

2.4.1. Pokus a)

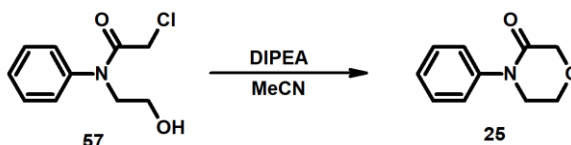


Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a chladičem s chlorkalciovou zátkou byla předložena sloučenina **57** (2,1 g; 10 mmol), bezv. K₂CO₃ (1,38 g; 10 mmol) a 10 ml bezvodého DMF. Směs byla zahřívána po dobu 4 hod na teplotu 80 °C. Rozpouštědlo pak bylo odpařeno za vakua a zbytek byl rozpuštěn v asi 30 ml CH₂Cl₂. Heterogenní směs byla promyta 1M HCl (40 ml), vodou (40 ml), nasyceným roztokem Na₂CO₃ (30 ml) a vodou (30 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Bylo získáno 0,8 g bílé krystalické látky **25**.

Výtěžek: 45 %

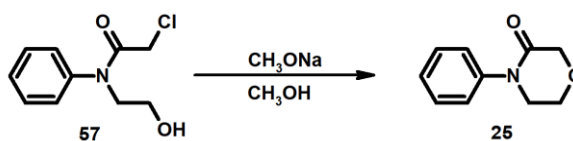
Bod tání: 106–110 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,46–7,40 (m, 2H); 7,32–7,26 (m, 3H); 4,34 (s, 2H); 4,02 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H); 3,76 (t, *J* = 5,0 Hz, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 168,9; 141,5; 129,5; 127,4; 125,7; 68,8; 64,4; 49,9; HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* pro C₁₀H₁₂NO₂ (M+H⁺) vypočteno: 178,08681; nalezeno: 178,08665.

2.4.2. Pokus b)



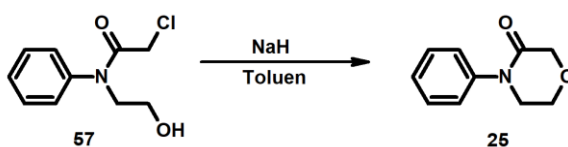
Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byla předložena sloučenina **57** (2,1 g; 10 mmol), DIPEA (1,75 ml; 10 mmol) a 10 ml bezvodého MeCN. Směs byla míchána po dobu 20 hod při laboratorní teplotě. Rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua a zbytek byl suspendován v asi 30 ml vody. Sraženina byla zfiltrována na fritě, promyta vodou a vysušena ve vakuové sušárně. Bylo získáno cca 1,9 g bílé látky, dle NMR výchozí sloučenina **57**.

2.4.3. Pokus c)



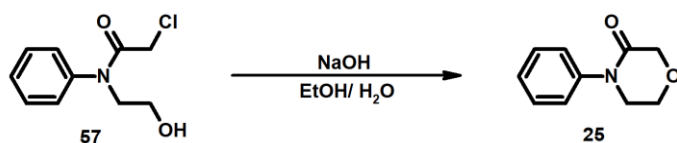
Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byla předložena sloučenina **57** (2,1 g; 10 mmol) a 15 ml 1,4M roztoku MeONa v MeOH (21 mmol). Směs byla míchána po dobu 30 min při laboratorní teplotě. Po cca 5-ti min se z roztoku začalo vylučovat NaCl. Ke směsi byla poté přidána kys. octová (0,75 ml; 12,5 mmol) a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Ke zbytku byla přidána voda (20 ml) a homogenní směs byla extrahována 3×15 ml CH_2Cl_2 . Organická fáze byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Bylo získáno 1,6 g směsi látky **25** a *N*-fenylaminoethanolu (**56**). Tato směs byla proto rozpuštěna v 30 ml CH_2Cl_2 a byla postupně promyta 1M HCl (40 ml), vodou (40 ml), nasyceným roztokem Na_2CO_3 (30 ml) a vodou (30 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Bylo získáno 0,6 g bílé krystalické látky **25**. Výtěžek: 34 %

2.4.4. Pokus d)



Do 100 ml tříhrdlé baňky opatřené magnetickým míchadlem, příkapávací nálevkou a chlorkalciovou zátkou byla předložena 60 % suspenze NaH v oleji (0,4 g; 10 mmol) a suchý toluen (10 ml). Do této směsi byl postupně příkapán roztok sloučeniny **57** (2,1 g; 10 mmol) v 15 ml suchého toluenu. Vzniklá směs byla míchána po dobu 2 hod při laboratorní teplotě. Pak byl přidán nasycený vodný roztok NaHCO_3 (5 ml) a rozpouštědla byla odpařena za vakua. Destilační zbytek byl smíchan s 15 ml vody a extrahován 3×15 ml CH_2Cl_2 . Organická fáze byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Bylo získáno 1,3 g směsi látky **25** a *N*-fenylaminoethanolu (**56**). Tato směs byla proto rozpuštěna v 25 ml CH_2Cl_2 a postupně promyta 1M HCl (30 ml), vodou (30 ml), nasyceným roztokem Na_2CO_3 (20 ml) a vodou (20 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo odpařeno za vakua. Bylo získáno 1,0 g bílé krystalické látky **25**. Výtěžek: 56 %

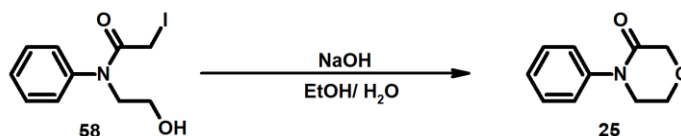
2.4.5. Pokus e)



V 50 ml baňce opatřené magnetickým míchadlem byla rozpuštěna sloučenina **57** (2,1 g; 10 mmol) v 1 ml ethanolu. K roztoku byl přidán roztok NaOH (0,8 g; 20 mmol) v 5 ml vody. Homogenní směs byla míchána po dobu 1 hod při teplotě 40 °C. Ke směsi byla poté přidána kyselina octová (1,2 ml; 20 mmol) a směs byla extrahována 3× 15 ml CH₂Cl₂. Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo odpařeno za vakua. Bylo získáno 2,1 g olejovité směsi látky **25** a *N*-fenylaminoethanolu (**56**). Tato směs byla proto rozpuštěna v 30 ml CH₂Cl₂ a byla postupně promyta 1M HCl (40 ml), vodou (40 ml), nasyceným roztokem Na₂CO₃ (30 ml) a vodou (30 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo odpařeno za vakua. Bylo získáno 0,43 g bílé krystalické látky **25**.

Výtěžek: 24 %

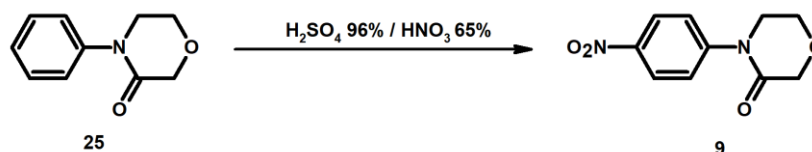
2.4.6. Pokus f)



V 50 ml baňce opatřené magnetickým míchadlem byla rozpuštěna sloučenina **58** (9,76 g; 32 mmol) v 3 ml ethanolu. K roztoku byl přidán roztok NaOH (3,2 g; 80 mmol) ve 20 ml vody. Homogenní směs byla míchána po dobu 15 min při laboratorní teplotě. Ke směsi byla poté přidána vodná HCl (1:1) 40 ml a směs byla extrahována 3× 25 ml CH₂Cl₂. Organická fáze byla poté promyta vodou (40 ml), nasyceným roztokem Na₂CO₃ (30 ml) a vodou (30 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo odpařeno za vakua. Bylo získáno 2,72 g bílé krystalické látky **25**.

Výtěžek: 48 %

2.5. Příprava *N*-(4-nitrofenyl)morfolin-3-onu (**9**)

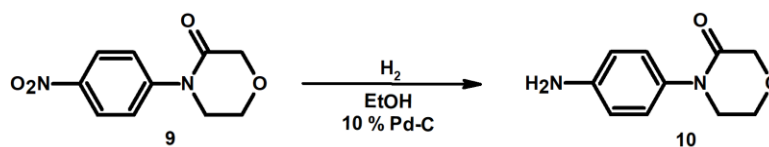


Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a přikapávací nálevkou, byla předložena sloučenina **25** (4,25 g, 0,024 mol) a H_2SO_4 (9,85 ml, 96 %). Po rozpuštění veškeré látky **25** byla reakční směs ochlazena na $-5\text{ }^\circ\text{C}$ pomocí chladicího přístroje a během 30 min byla přidána po kapkách HNO_3 (1,75 ml, 65 %). Poté byla směs míchána další hodinu při teplotě $-5\text{ }^\circ\text{C}$. Následně byl přidán drcený led (cca 30 g), přičemž vznikala kašovitá směs. Reakční směs byla zneutralizována vodným roztokem NH_3 (31 ml, 25 %). Barva směsi se změnila na tmavě žlutou. Poté bylo přidáno 64 ml acetonu, směs byla míchána cca 15 min a organická fáze byla rozdělena v děličce. Rozpouštědlo bylo odpařeno na vakuové odparce, ke zbytku byla přidána voda (30 ml) a sraženina byla filtrována přes fritu. Produkt byl vysušen ve vakuové sušárně. Bylo získáno 2,0 g oranžovohnědé krystalické látky **9**.

Výtěžek: 38 %

Bod tání: $133\text{--}135\text{ }^\circ\text{C}$. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,28 (d, $J = 9,2\text{ Hz}$, 2H); 7,61 (d, $J = 9,2\text{ Hz}$, 2H); 4,38 (s, 2H); 4,08 (m, 2H); 3,86 (m, 2H). ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 167,0; 146,9; 145,7; 124,9; 124,8; 68,9; 64,2; 49,1; HR-MALDI-MS (DHB): m/z pro $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_4$ ($\text{M}+\text{H}^+$) vypočteno: 223,07189; nalezeno: 223,07190.

2.6. Příprava *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (**10**)

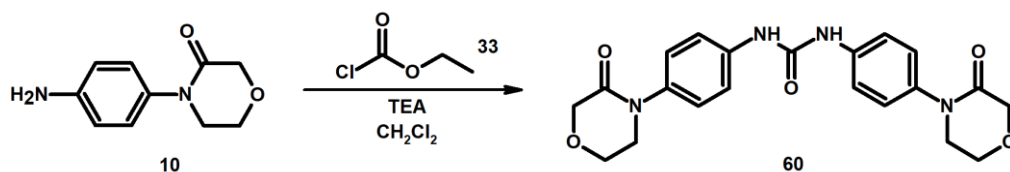


Sloučenina **9** (1,88 g, 8,45 mmol) byla předložena do nádoby tlakového reaktoru o objemu 100 ml a byla rozpuštěna ve 25 ml ethanolu. K roztoku bylo přidáno 0,2 g 10 % Pd-C. (obsah vlhkosti: 50 %). Tlakový reaktor byl napuštěn vodíkem na tlak 20 bar a reakční směs byla míchána 24 hod při laboratorní teplotě. Poté byla reakční směs probublána argonem (5 min). Katalyzátor byl odstraněn filtrací přes dvojité skládaný filtr a promyt cca 50 ml methanolu. Rozpouštědla byla odpařena za vakua a zbytek byl vysušen ve vakuové sušárně. Bylo získáno 0,93 g bílé krystalické látky **10**.

Výtěžek: 80 %

Bod tání: 141–143 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,06 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 6,69 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H); 4,31 (s, 2H); 4,00 (m, 2H); 3,68 (m, 2H). ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 167,1; 145,8; 132,4; 127,0; 115,7; 68,8; 64,4; 50,4. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* pro C₁₀H₁₃N₂O₂ (M+H⁺) vypočteno: 193,09771; nalezeno: 193,09753.

2.7. Příprava *N,N'*-bis[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]močoviny (**60**)

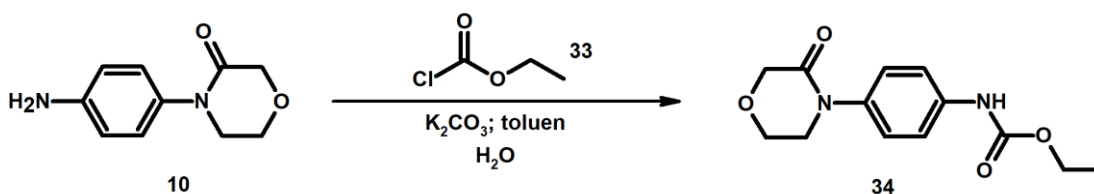


Do 50 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a přikapávací nálevkou byl předložen amin **10** (0,77 g; 4 mmol) a TEA (0,7 ml; 5 mmol) v 10 ml suchého CH₂Cl₂. Do vzniklé suspenze byl po kapkách během 30 min přidán roztok ethyl-chlorformiátu (**33**) (0,60 g; 5 mmol) v 5 ml suchého CH₂Cl₂. Suspenze byla míchána 2 hod při laboratorní teplotě. Sraženina byla zfiltrována přes fritu S3 a promyta nejprve 3× 25 ml vody, následně acetonem (15 ml) a nakonec pentanem (15 ml). Po vysušení za vakua bylo získáno 0,45 g bílé krystalické látky **60**.

Výtěžek: 27 %

Bod tání: 323–325 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8,77 (bs, 2H); 7,47 (d, *J* = 8,8 Hz, 4H); 7,28 (d, *J* = 8,8 Hz, 4H); 4,18 (s, 4H); 3,96 (t, *J* = 5,2 Hz, 4H); 3,69 (t, *J* = 5,2 Hz, 4H). ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165,9; 152,5; 137,9; 135,6; 126,0; 118,5; 67,7; 63,5; 49,2. HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* pro C₂₁H₂₃N₄O₅ (M+H⁺) vypočteno: 411,16685; nalezeno: 411,16809.

2.8. Příprava *O*-ethyl-*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]karbamátu (**34**)

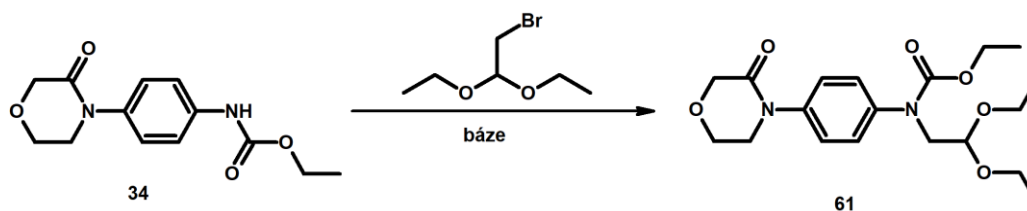


Do 50 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a přikapávací nálevkou byla předložena látka **10** (1,23 g; 6,4 mmol), K_2CO_3 (1,07 g; 7,74 mmol), toluen (6,75 ml) a voda (2,05 ml). Suspenze byla ochlazená na ledové lázni, a poté byl během 15 min přidán po kapkách roztok ethyl-chlorformiátu (**33**) (0,8 ml, 8,39 mmol) ve 2,7 ml toluenu. Suspenze byla míchána 3 hod při laboratorní teplotě. Pak bylo přidáno 6,75 ml vody a bylo mícháno dalších 30 min. Sraženina byla zfiltrována přes fritu S4 a promyta vodou (1,5 ml). Filtrační koláč byl suspendován v 6,75 ml EtOAc a směs byla zfiltrována přes fritu S4. Po vysušení za vakua bylo získáno 1,39 g bílé krystalické látky **34**.

Výtěžek: 56 %

Bod tání: 172–177 °C. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7,41 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 7,25 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H); 6,72 (bs, 1H); 4,33 (s, 2H); 4,22 (q, $J = 7,0$ Hz, 2H); 4,02 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 3,73 (t, $J = 5,0$ Hz, 2H); 1,31 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H). ^{13}C NMR (100 MHz, $CDCl_3$): δ 167,1; 153,8; 137,3; 136,4; 126,4; 119,6; 68,7; 64,3; 61,4; 50,0; 14,7. HR-MALDI-MS (DHB): m/z pro $C_{13}H_{17}N_2O_4$ ($M+H^+$) vypočteno: 265,11884; nalezeno: 265,11911.

2.9. Příprava *O*-ethyl-*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(2,2-diethoxyethyl)karbamátu (**61**)



2.9.1. Pokus a)

Do 50 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byla předložena látka **34** (0,53 g; 2 mmol), 1,4 M roztok methanolátu sodného v methanolu (2,15 ml; 3 mmol) a bromacetaldehyd-diethylacetal (0,47 ml; 3 mmol). Reakční směs byla míchána při laboratorní teplotě po dobu 78 hod. Poté bylo rozpouštědlo odpařeno za vakua a destilační zbytek byl promyt vodou (2× 5 ml) a vysušen ve vakuové sušárně. Dle NMR spektroskopie se jednalo o výchozí látku **34**.

2.9.2. Pokus b)

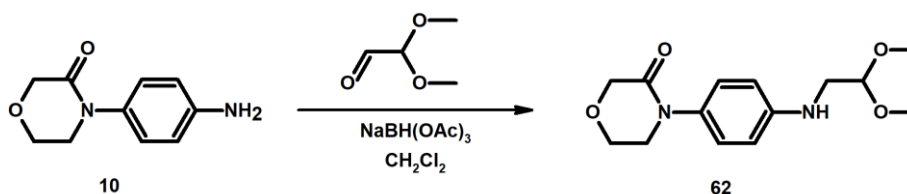
Do 50 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a septem byla předložena látka **34** (1,06 g; 4 mmol), NaH (0,144 g; 6 mmol) a suchý DMF (10 ml). Do vzniklé oranžové suspenze byl při teplotě 0 °C postupně přidán bromacetaldehyd-diethylacetal (0,93 ml; 6 mmol). Reakční směs byla míchána po dobu 24 hod při laboratorní teplotě. Poté bylo rozpouštědlo odpařeno na vakuové odparce. Destilační zbytek byl podroben NMR spektroskopii. Bylo zjištěno, že produktem je směs látek, v níž je majoritně zastoupena výchozí látka **34**.

2.9.3. Pokus c)

Do dvouhrdlé 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a septem byla předložena látka **34** (1,06 g; 4 mmol), *t*-BuOK (0,67 g; 6 mmol) a suchý DMF (10 ml). Do vzniklé červenohnědé suspenze ochlazené na 0 °C byl přidán po kapkách bromacetaldehyd-diethylacetal (0,93 ml; 6 mmol). Reakční směs byla míchána po dobu 24 hod při laboratorní teplotě. Poté bylo rozpouštědlo odpařeno na vakuové odparce. Destilační zbytek byl podroben NMR spektroskopii. Bylo zjištěno, že produktem je směs látek, ze které se sloučeninu **61** nepodařilo izolovat.

2.10. Příprava *N*-[4-(2,2-dimethoxyethylamino)fenyl]morfolin-3-onu (**62**)

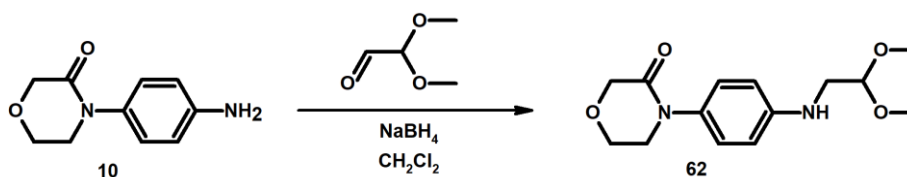
2.10.1. Pokus a)



Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byl předložen amin **10** (960 mg; 5 mmol), čerstvě vyžíhané molekulové síto 4 Å (0,5 g) a suchý CH_2Cl_2 (20 ml). Ke vzniklé suspenzi byl přidán roztok dimethoxyacetaldehydu (60 %) ve vodě (1,13 ml, 7,5 mmol). Vzniklá směs byla míchána 2 hod při laboratorní teplotě. Pak byl postupně během 20 min přidán pevný $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (1,59 g; 7,5 mmol) a směs byla dále míchána 1 hod při laboratorní teplotě. Pak byla suspenze zfiltrována přes vrstvu Celitu a promyta CH_2Cl_2 (30 ml). Rozpouštědlo z filtrátu bylo odpařeno za vakua a destilační zbytek byl podroben sloupcové chromatografii (SiO_2 ; aceton/hexan/TEA 2/1/0,001, R_f 0.47). Bylo získáno 1,32 g (94 %) bílé krystalické sloučeniny **62**.

Bod tání: 99–101 °C. ^1H NMR (CDCl_3 ; 400 MHz): δ 7,09 (m, 2H), 6,65 (m, 2H), 4,56 (t, J = 4,4 Hz, 1H), 4,32 (s, 2H), 4,00 (m, 2H), 3,95 (br, 1H), 3,69 (m, 2H), 3,41 (s, 6H), 3,24 (d, J = 4.4 Hz, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 100 MHz): δ 167,1; 147,2; 131,6; 127,0; 113,6; 102,5; 68,8; 64,4; 54,1; 50,4; 45,5; FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3343, 3054, 2951, 2910, 2857, 2834, 1741, 1639, 1608, 1525, 1478, 1342, 1323, 1121 (100%), 1043, 995, 915, 831, 544; HR-MALDI-MS (DHB): m/z pro $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_4$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$) vypočteno: 281,15014; nalezeno: 281,15024.

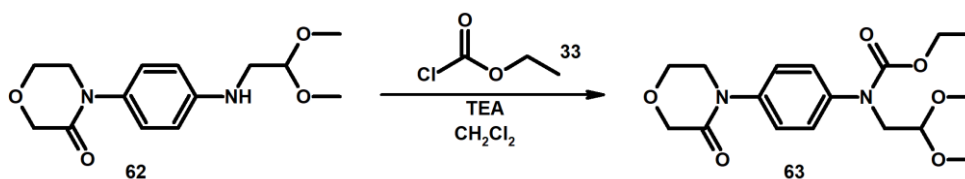
2.10.2. Pokus b)



Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byla předložena látka **10** (0,77 g, 4 mmol), čerstvě vyžíhané molekulové síto 4 Å (0,75 g) a suchý CH₂Cl₂ (25 ml). Ke vzniklé suspenzi byl přidán roztok dimethoxyacetaldehydu (60 %) ve vodě (0,91 ml; 6 mmol). Vzniklá směs byla míchána 1 hod při laboratorní teplotě. Poté byl postupně během 30 min přidán NaBH₄ (0,21 g; 5,23 mmol) a směs byla míchána další 1 hod při laboratorní teplotě. Protože rozpouštění NaBH₄ probíhalo velmi obtížně, bylo do roztoku přidáno 10 ml methanolu a míchání při laboratorní teplotě pokračovalo dalších 24 hod. Poté byla směs zfiltrována přes skládaný filtr a promyta CH₂Cl₂ (30 ml). Rozpouštědlo z filtrátu bylo odpařeno za vakua. Destilační zbytek byl analyzován tenkovrstvou chromatografií a NMR spektroskopii. Bylo zjištěno, že směs obsahuje výchozí látku **10** a 2,2-dimethoxyethanol.

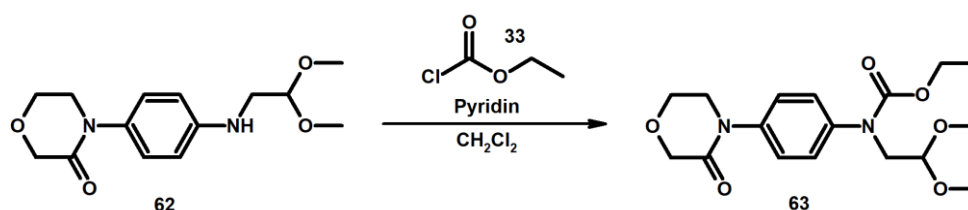
2.11. Příprava *O*-ethyl-*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(2,2-dimethoxyethyl)karbamátu (**63**)

2.11.1. Pokus a)



Do 100 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem byla předložena látka **62** (0,79 g; 2,8 mmol), TEA (0,57 ml; 4,2 mmol) a suchý CH₂Cl₂ (10 ml). Do směsi byl přidán ethyl-chlorformiátu (**33**) (340 µl; 3,5 mmol) a bylo mícháno při laboratorní teplotě po dobu 24 hod. Poté byla směs smíchána s vodou (20 ml), organická fáze byla oddělena a vodná fáze extrahována 2× 20 ml EtOAc. Organická vrstva byla vysušena Na₂SO₄ a po odpaření rozpouštědla za vakua bylo získáno 0,7 g bílé krystalické látky, která byla identifikována jako výchozí látka **62**.

2.11.2. Pokus b)

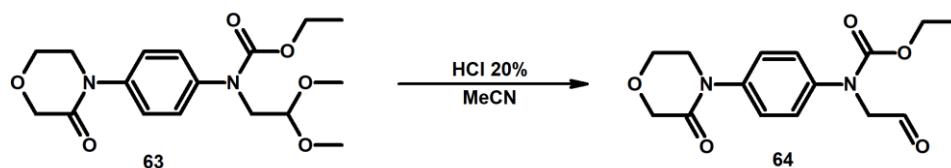


Do 25 ml baňky opatřené magnetickým míchadlem a chlorkalciovou zátkou byl předložen amin **62** (1,12 g; 4 mmol), ethyl-chlorformiátu (**33**) (1,30 g; 12 mmol) a suchý CH_2Cl_2 (4 ml). Směs byla míchána 30 min při laboratorní teplotě a pak byl přidán suchý pyridin (320 μl ; 4 mmol). Vznikl homogenní roztok, ze kterého se po cca 15 min začala vylučovat sraženina. Suspenze byla míchána 1 hod při laboratorní teplotě. Přebytný chlorformiát **33** a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua, destilační zbytek byl smíchán s vodou (10 ml) a extrahován CH_2Cl_2 (2×15 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na_2SO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Bylo získáno 1,21 g žlutě zbarvené olejovité látky **63**.

Výtěžek: 86 %

^1H NMR (CDCl_3 ; 400 MHz): δ 7,31 (m, 4H), 4,59 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H), 4,33 (s, 2H), 4,16 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H) 4,02 (m, 2H), 3,77–3,72 (m, 4H), 3,32 (s, 6H), 1,22 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 ; 100 MHz): δ 166,8; 155,8; 141,1; 139,5; 128,1; 125,8; 101,9; 68,8; 64,3; 62,1; 54,0; 51,8; 49,7; 14,7; FT-IR (ATR, cm^{-1}): 3053, 2980, 2937, 2834, 1697, 1663, 1604, 1513, 1467, 1378, 1345, 1325, 1240, 1125 (100%), 1094, 1062, 992; HR-MALDI-MS (DHB): m/z pro $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ ($[\text{M}+\text{Na}]^+$) vypočteno: 375,15321; nalezeno: 375,15347.

2.12. Příprava *N*-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)fenyl]-*N*-(ethoxykarbonyl)aminoethanal (64)



Ve 25 ml baňce opatřené magnetickým míchadlem byl rozpuštěn acetal **63** (0,90 g; 2,55 mmol) ve směsi MeCN (18 ml), HCl (36 %; 0,6 ml) a vody (0,5 ml). Homogenní roztok byl míchán 18 hod při laboratorní teplotě. Pak byla směs zneutralizována přidávkem roztoku NaHCO₃ (1,26 g; 15 mmol) v 15 ml vody. Rozpouštědla byla odpařena za vakua, destilační zbytek smíchán s vodou (cca 15 ml) a extrahován CH₂Cl₂ (3× 25 ml). Organická fáze byla vysušena bezvodým Na₂SO₄ a rozpouštědlo bylo odpařeno za vakua. Surový produkt byl čištěn sloupcovou chromatografií (SiO₂; aceton/hexan 1/1; *R_f* 0,57). Bylo získáno 0,740 g bílé krystalické látky **64**.

Výtěžek: 95 %

Bodem tání: 134–136 °C. ¹H NMR (CDCl₃; 400 MHz): δ 9,69 (s, 1H), 7,32 (m, 4H), 4,40 (s, 2H), 4,33 (s, 2H), 4,19 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H); 4,02 (m, 2H), 3,76 (m, 2H), 1,23 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃; 100 MHz): δ 197,3; 166,9; 155,5; 140,8; 139,8; 127,5; 126,2; 68,7; 64,3; 62,7; 60,4; 49,7; 14,7; FT-IR (ATR, cm⁻¹): 3055, 2968, 2931, 2841, 1727, 1699, 1646 (100%), 1603, 1514, 1469, 1415, 1375, 1306, 1222, 1124, 1018, 998, 581; HR-MALDI-MS (DHB): *m/z* pro C₁₅H₁₈N₂O₅ ([M+H]⁺) vypočteno: 307,12940; nalezeno 307,12949.

3. Výsledky a diskuze

3.1. Retrosyntetická analýza přípravy léčiva Rivaroxabanu (1) s využitím asymetrické Henryho reakce

Klíčovým intermediátem přípravy (*S*)-Rivaroxabanu (1) s využitím asymetrické Henryho reakce je aldehyd **64** (*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(ethoxykarbonyl)aminoethanal) (Schéma 12). Tato bakalářské práce se proto zaměřuje na syntézu této sloučeniny **64**, ve které by jednotlivé reakční kroky probíhaly s vysokými výtěžky, využívaly pokud možno netoxická činidla resp. reaktanty a byla celkově ekonomicky nenáročná.

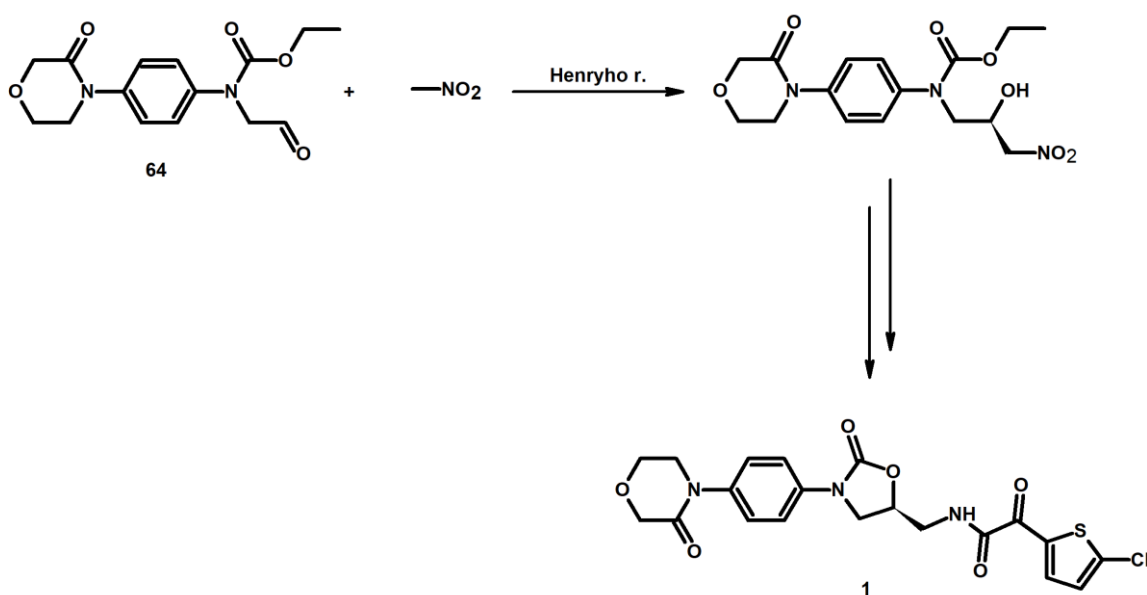


Schéma 12: Struktura sloučeniny **64** a její využití jako intermediátu léčiva Rivaroxaban (1)

Pro přípravu sloučeniny **64** byly navrženy dvě retrosyntetické analýzy (A a B), přičemž obě zahrnovaly celkem sedm reakčních kroků (Schéma 13 a 14). Obě retrosyntetické analýzy se liší pouze v rozdílném pořadí 5. resp. 6. reakčního kroku, tj. transformace *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (**10**) na diethylacetal **61** resp. dimethylacetal **63**. Výchozími sloučeninami dle těchto syntetických návrhů měl být relativně levný *N*-fenylaminoethanol (**56**) (Fluorochem: kat. cena 11 £ / 100 g) a chloracetylchlorid (Acros: kat. cena 65 € / 1000 ml).

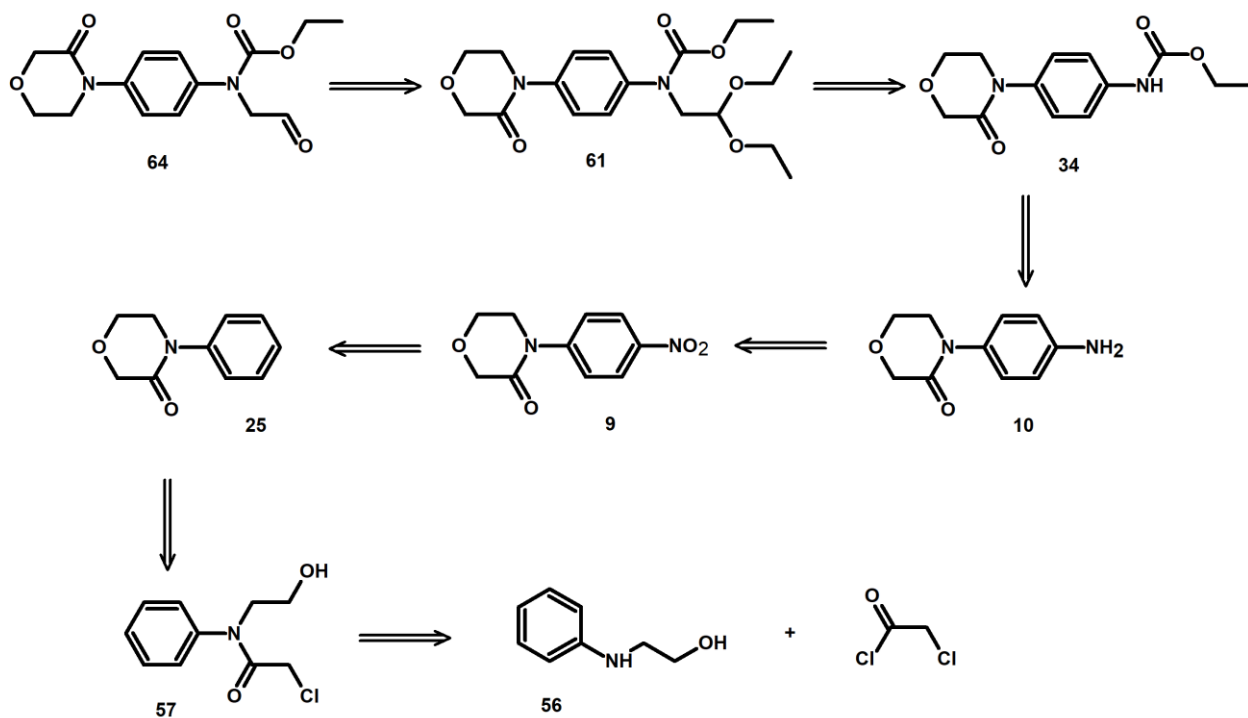


Schéma 13: Retrosynetická analýza A přípravy sloučeniny 64

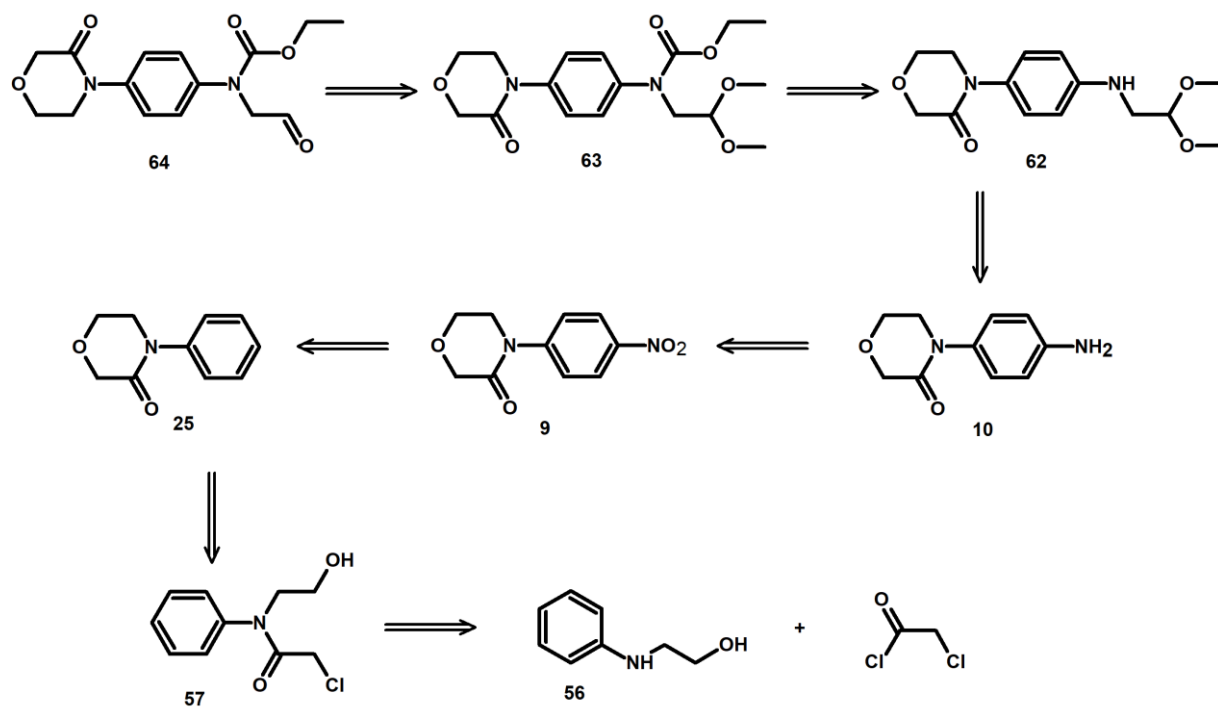


Schéma 14: Retrosynetická analýza B přípravy sloučeniny 64

3.2. Zhodnocení syntézy jednotlivých sloučenin

3.2.1. Příprava *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (**10**)

Obě navržené retrosyntetické analýzy A a B zahrnují jako důležitý intermediát *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-on (**10**). Tato sloučenina je klíčovým meziproduktem v mnoha syntetických metodách přípravy léčiva Rivaroxaban (**1**), a proto je její syntéza popsána v literatuře,^{[6],[8],[11],[16],[19],[19]^[20] především v patentech.^{[8],[16],[19]}[19]}

Při syntéze *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (**10**) se nejprve syntetizuje *N*-fenylmorfolin-3-on (**25**). Literatura^{[6],[11],[16],[19],[19]^[20] uvádí postup, ve kterém je tato sloučenina **25** připravena simultánním přidáváním značného přebytku (3 ekv.) chloracetylchloridu a vodného roztoku NaOH (5–8 ekv.) do ethanolickeho roztoku *N*-fenylaminoethanolu (**56**) (Schéma 15). Při tomto postupu dochází současně jak k acylaci *N*-fenylaminoethanolu (**56**), tak i k následné cyklizaci látky **57**. Výtěžky se pohybují v rozmezí 60–80 %.^{[6],[11],[16],[19],[19]^[20] Tento spíše technologický postup je vhodný pro syntézu látky **25** v kilogramových množstvích. Když jsem tento postup opakovala v laboratorním měřítku, získala jsem sloučeninu **25** pouze v nízkém výtěžku 24 %. Rozhodla jsem se proto provést jednotlivé reakční kroky vedoucí k sloučenině **25** postupně, meziprodukt **57** izolovat a charakterizovat dostupnými analytickými metodami.}}

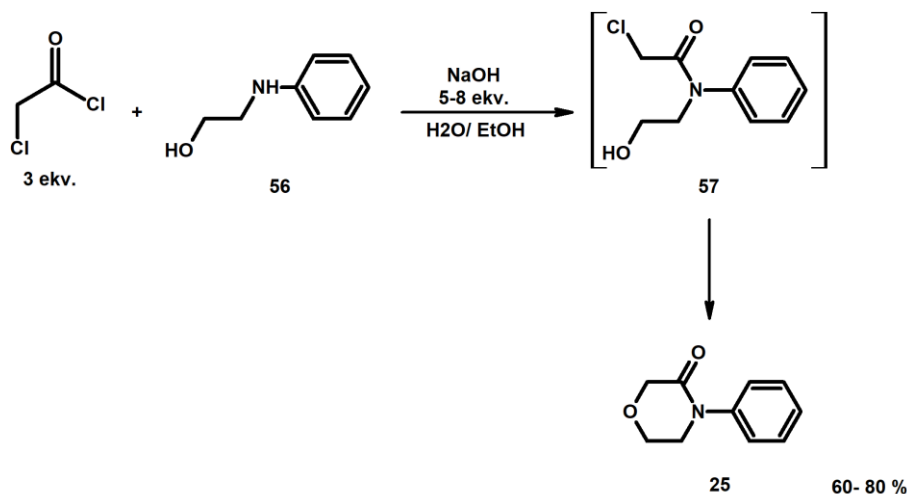


Schéma 15: Příprava sloučeniny **25** dle literatury^{[6],[11],[16],[19],[20]}

Acylaci *N*-fenylaminoethanolu (**56**) jsem provedla ekvimolárním množstvím chloracetylchloridu v přítomnosti TEA jako báze a CH₂Cl₂ jako rozpouštědla (Schéma 16). Vzniklý triethylamin-hydrochlorid jsem odstranila promytím reakční směsi vodou a produkt **57** izolovala prostým odpařením organického rozpouštědla. Dosáhla jsem prakticky kvantitativního výtěžku sloučeniny **57**.

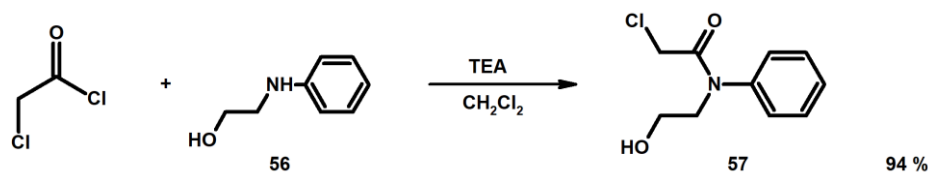


Schéma 16: Příprava sloučeniny **57**

Následně jsem se zabývala cyklizací amidu **57** na morfolin-3-on **25** (Schéma 17). V prvním pokusu (Postup A) jsem jako bázi zvolila bezv. K₂CO₃ a jako rozpouštědlo extra suchý DMF. Reakční směs jsem zahřívala na 80 °C. Po 4 hodinách jsem detekovala nepřítomnost výchozí látky **57** v reakční směsi a vznik dvou produktů – požadované sloučeniny **25** a *N*-fenylaminoethanolu (**56**). Ten jsem oddělila od produktu **25** promytím vodnou HCl. Tímto postupem jsem připravila morfolin-3-on **25** s výtěžkem 45 %.

V dalším pokusu (Postup B) jsem jako bázi použila DIPEA a jako rozpouštědlo suchý MeCN. Vyhnula jsem se tedy značně hydrofobickému DMF, který může být zdrojem vody a způsobovat hydrolyzu amidu **57** na *N*-fenylaminoethanol (**56**). Zjistila jsem však, že za těchto podmínek k cyklizaci na sloučeninu **25** nedochází, izolovala jsem tedy pouze výchozí látku **57**.

V následném pokusu (Postup C) jsem cyklizaci provedla v prostředí 1,4 M MeONa v MeOH. Reakci jsem provedla při laboratorní teplotě. Průběh reakce byl doprovázen vylučováním pevného NaCl z reakční směsi. Po 30 min jsem identifikovala nepřítomnost výchozí látky ve směsi. Reakční směs jsem zpracovala neutralizací, odpařením rozpouštědla a promytím produktu vodou. Takto jsem získala směs morfolin-3-onu (**25**) a *N*-fenylaminoethanolu (**56**), který jsem odstranila od produktu **25** promytím vodnou HCl. Požadovaný morfolin-3-on (**25**) jsem získala s výtěžkem pouze 34 %.

Dále jsem provedla cyklizaci sloučeniny **57** v prostředí bezvodého toluenu působením NaH (Postup D). Reakce probíhala při laboratorní teplotě po dobu 2 hodin. Po neutralizaci roztoku a separaci produktu extrakcí jsem získala směs cyklizátu **25** s jistým množstvím *N*-fenylaminoethanolu (**56**). Ten jsem opět oddělila od produktu **25** promytím vodnou HCl. Výtěžek morfolin-3-onu (**25**) byl v tomto případě 56 %.

Rovněž jsem provedla cyklizaci sloučeniny **57** v prostředí 20 % vodného ethanolu působením NaOH. Reakční teplota byla 40 °C a reakční čas 1 hodina. Tyto reakční podmínky jsou analogické s podmínkami, které uvádí patentová literatura^{[6],[11],[16],[19],[19]^[20] pro syntézu morfolin-3-onu (**25**). Po neutralizaci reakční směsi a extrakci do CH₂Cl₂ jsem získala směs látky **25** a *N*-fenylaminoethanolu (**56**). Ten jsem odstranila od produktu **25** opět promytím vodnou HCl. Produkt **25** jsem tímto postupem izolovala s výtěžkem 24 %.}

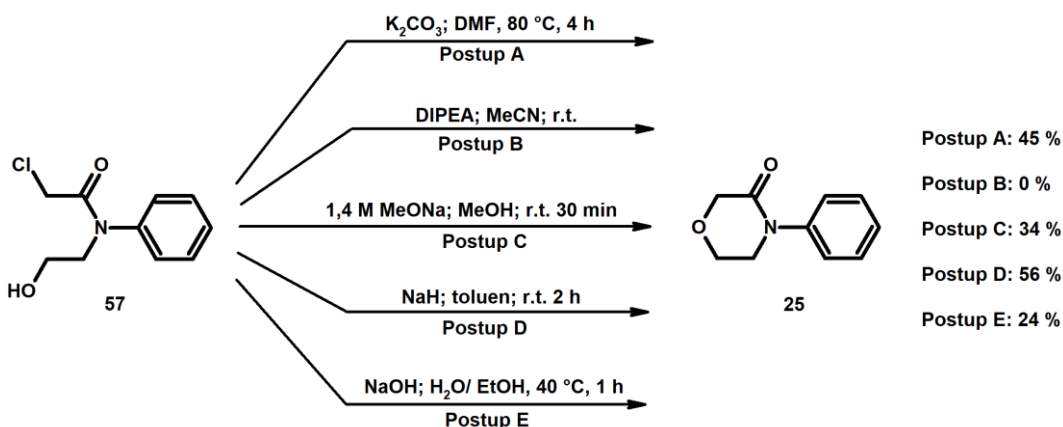


Schéma 17: Příprava sloučeniny **25**

Z výše uvedených pěti Postupů A–E vyplývá, že cyklizace amidu **57** v bazickém prostředí na morfolin-3-on **25** je obecně doprovázena rozkladem amidu **57** na *N*-fenylaminoethanol (**56**). V případě Postupu E, ve kterém bylo použito vodné rozpouštědlo, by se mohlo jednat o klasickou bazickou hydrolyzu amidu **57**. V Postupech A–D však vznik *N*-fenylaminoethanolu (**56**) hydrolyzou amidu **57** nelze předpokládat. Přítomnost *N*-fenylaminoethanolu (**56**) v produktu lze vysvětlit tím, že působením báze na amid **57** dochází k uplatnění jiné reakční cesty (Schéma 18). Ta spočívá v intramolekulárním ataku alkoholátu (konjugované báze amidu **57**) na karboxylový uhlík amidové skupiny. V dalším kroku dochází k rozpadu tetraedráního intermediátu *In*₁ a následné protonaci intermediátu *In*₂ za vzniku (*N*-fenylaminoethyl)-chloracetátu *In*₃. Tento ester pak pravděpodobně podléhá hydrolyze během zpracování reakční směsi, a to především při extrakcích vodnými roztoky. Vzhledem k obecně známé preferenci vzniku pětičlenných cyklických intermediátů ve srovnání se šestičlennými,^[22] je reakční cesta vedoucí k intermediátu *In*₁ konkurencí k nukleofilní substituci atomu chloru, tedy vzniku morfolin-3-onu **25**.

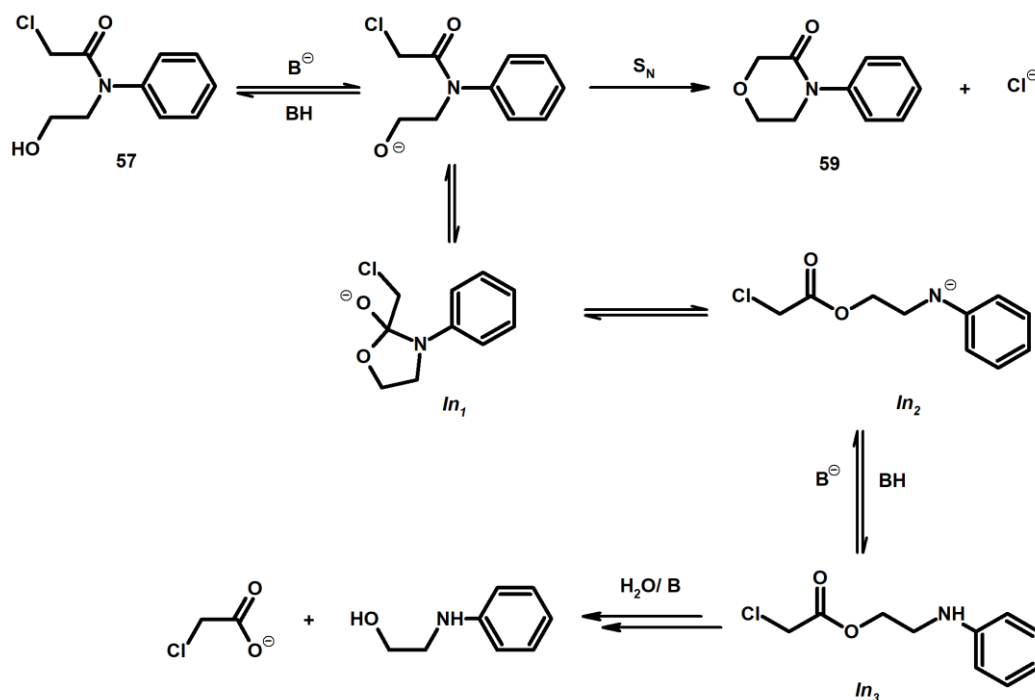


Schéma 18: Pravděpodobná transformace amidu **57** na *N*-fenylaminoethanol (**56**) v bazickém prostředí

Abych při cyklizaci amidu **57** v bazickém prostředí docítila větší preference nukleofilní substituce atomu halogenu, připravila jsem jod derivát **58**. Předpokládala jsem, že obecně známá vyšší reaktivita jodalkanů vůči nukleofilům ve srovnání s reaktivitou chloralkanů^[22] povede k vyššímu výtěžku cyklizátu **25**. Příprava amidu **58** (Schéma 19) spočívala ve Finkelsteinově reakci, tedy působení NaI na chlor derivát **57** v acetonu. Amid **58** jsem získala ve vysokém výtěžku 92 %. Následně jsem provedla cyklizaci jod derivátu **58** na morfolin-3-on **25** v prostředí vodně-ethanolickeho roztoku NaOH (Postup F). Výchozí látka **58** nebyla přítomná v reakční směsi již po 15 min při laboratorní teplotě, což je potvrzením vyšší reaktivity amidu **58** (Postup E vs. Postup F). Po zpracování reakční směsi jsem morfolin-3-on **25** izolovala ve výtěžku 48 %. Při použití jod derivátu **58** jako výchozí látky pro cyklizaci tedy došlo k významnému zvýšení (zdvojnásobení) výtěžku sloučeniny **25**, avšak nežádoucí reakční cesta vedoucí k *N*-fenylaminoethanolu (**56**) nebyla zcela potlačena.

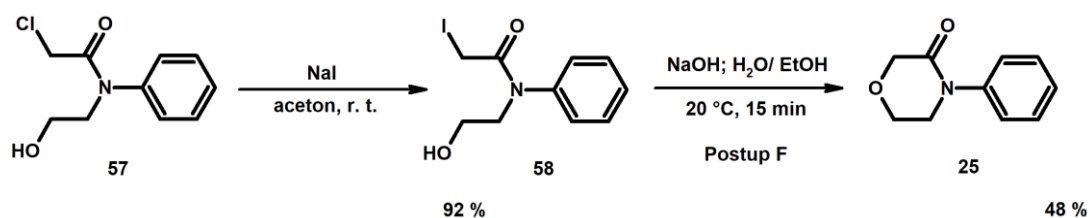


Schéma 19: Příprava amidu **58** a jeho cyklizace na morfolin-3-on **25**

Dalším krokem při syntéze *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (**10**) byla nitrace morfolin-3-onu (**25**) (Schéma 20). Nitraci jsem provedla podle postupů uvedených v literatuře.^{[16],[19],[19]^[20] Výtěžek nitrace je v této literatuře variabilní (42–83 %), závisí na typu zpracování reakční směsi. V mém případě jsem provedla izolaci produktu dle předpisu, který je uveden v odborném časopise^[19][19] nikoli patentech,^{[16],[19]^[20] neboť poskytuje nitro derivát **9** s vyšší čistotou. *N*-(4-Nitrofenyl)morfolin-3-on (**9**) jsem získala s 38 % výtěžkem, což je hodnota srovnatelná s hodnotou literární^[19] (42 %).}}

Nitro derivát **9** jsem následně podrobila hydrogenaci na požadovaný *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-on (**10**) (Schéma 20). Hydrogenaci jsem katalyzovala 10 % palladiem na uhlíku obsahující 50 % vlhkost. Při pokusu, kdy byl tlak vodíku 1 atm (laboratorní teplota; 5 dní), jsem získala z reakční směsi pouze směs výchozí látky **9** a produktu **10** (25 %). Provedla jsem proto hydrogenaci v tlakovém reaktoru při tlaku vodíku 20 bar a laboratorní teplotě. Za těchto reakčních podmínek jsem po 24 hodinách získala *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-on (**10**) s kvantitativní konverzí. Izolovaný výtěžek činil 80 %.

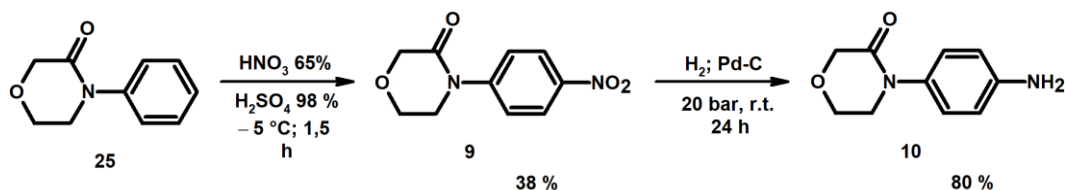


Schéma 20: Nitrace morfolin-3-onu **25** a následná hydrogenace sloučeniny **9**

3.2.2. Příprava acetalu **61** s využitím retrosyntetické analýzy A

V souladu s retrosyntetickou analýzou A jsem se dále zabývala přípravou karbamátu **34**. Jeho příprava spočívala v působení ethyl-chlorformiátu (**33**) na amin **10** (Schéma 21). V prvním pokusu jsem reakci provedla v CH₂Cl₂ a s TEA jako bázi. Použila jsem mírný přebytek ethyl-chlorformiátu (**33**) (1,25 ekv.). Reakce probíhala za laboratorní teploty po dobu 2 hodin. Po této době se z reakční směsi vyloučila bílá krystalická látka, kterou jsem izolovala filtrací a promytím vodou a organickými rozpouštědly (aceton, pentan). Pomocí NMR spektroskopie, hmotnostní spektroskopie a stanovením bodu tání jsem zjistila, že se nejedná o požadovaný karbamát **34**, nýbrž o močovinu **60**. Tato látka byla v literatuře^[21] popsána jako jedna z běžných nečistot, která se ve stopovém množství, v závislosti na použité syntetické metodě, může vyskytovat v léčivu Rivaroxaban (**1**).

V literatuře^[21] je uvedena příprava karbamátu **34** s výtěžkem 88 %. Literární postup spočívá v acylaci aminu **10** ethyl-chlorformiátem (**33**) (1,3 ekv.) v prostředí heterogenní směsi voda/toluen (1/3,3) a K₂CO₃ jako báze. Reakce se provádí při laboratorní teplotě po dobu 3 hodin. Produkt se izoluje prostou filtrací a promytím filtračního koláče vodou a EtOAc. Tímto postupem jsem připravila karbamát **34** jako bílou krystalickou látku s výtěžkem 56 %.

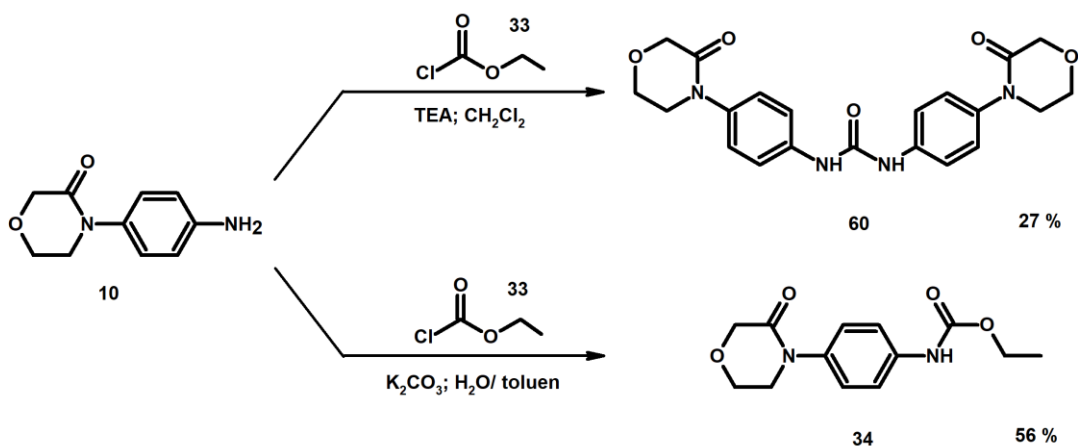


Schéma 21: Reakce aminu **10** s ethyl-chlorformiátem (**33**) za různých podmínek

Následně jsem se zabývala alkyací atomu dusíku karbamátové funkční skupiny látky **34** 2-brom-1,1-diethoxyethanem v bazickém prostředí za vzniku derivátu **61** (Schéma 22). Alkylaci jsem nejprve provedla v prostředí 1,4 M MeONa v MeOH. Reakci jsem provedla při laboratorní teplotě s mírným nadbytkem činidla. Ačkoli byl reakční čas poměrně dlouhý (78 hodin), identifikovala jsem v reakční směsi pouze výchozí látku. Produkt **61** za těchto reakčních podmínek nevznikal. Podobného výsledku jsem dosáhla při použití NaH jako báze v suchém DMF. Po zpracování reakční směsi jsem získala opět výchozí látku. Ve třetím pokusu jsem jako bázi použila *tert*-butylalkoholát draselný v suchém DMF. Dle NMR byla produktem složitá směs produktů, ze které se mi produkt **61** nepodařilo izolovat.

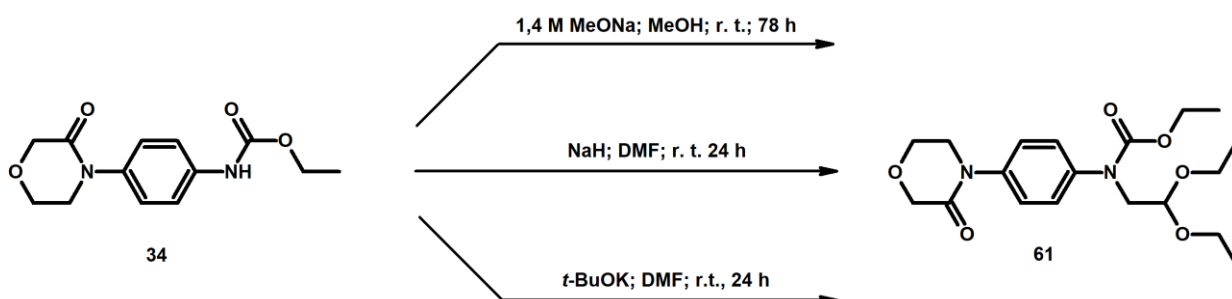


Schéma 22: Pokusy o přípravu acetalu **61**

V prvním kroku jsem provedla kondenzaci *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (**10**) s dimethoxyacetaldehydem, přičemž imin vzniklý *in situ* jsem redukovala NaBH(OAc)₃ (Schéma 24). Reakci jsem provedla za reakčních podmínek převzatých z literatury.^[23]

Při následném provedení reakce jsem však zaměnila poněkud drahý dichlorethan za levnější CH₂Cl₂. Rovněž jsem použila vyšší přebytek sušidla (molekulové síto), které posouvá reakční rovnováhu ve prospěch iminu. Kromě redukce iminu docházelo v reakční směsi i k redukcí přebytečného dimethoxyacetaldehydu (použito 1,5 ekv.) na příslušný alkohol. Ten jsem od produktu oddělila několikedenním sušením za vakua nebo sloupcovou chromatografií. Výsledný sekundární amin **62** jsem získala ve vysokém výtěžku 94 %. Ověřila jsem rovněž možnost aplikace jiného redukčního činidla, a to NaBH₄. Při jeho použití však docházelo přednostně k redukcí dimethoxyacetaldehydu a nikoli iminu, což bylo důvodem toho, že jsem izolovala pouze výchozí látku **10**.

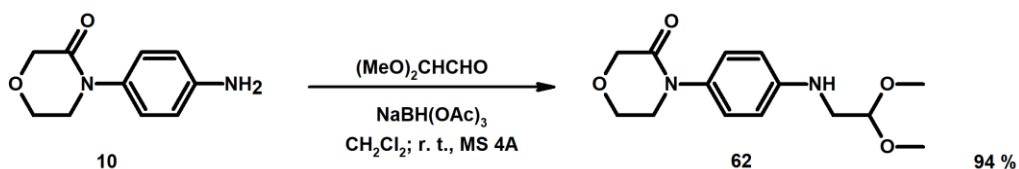


Schéma 24: Příprava sekundárního aminu **62**

Sekundární amin **62** jsem následně acylovala ethyl-chlorformiátem (**33**), a to za podmínek převzatých s literatury^[23] Jako bázi jsem použila TEA a rozpouštědlem byl suchý CH₂Cl₂. Acylační činidlo jsem použila v mírném přebytku (1,25 ekv.) a reakce probíhala 24 hod při laboratorní teplotě.^[23] Za těchto reakčních podmínek jsem však vznik karbamátu **63** nepozorovala, dle NMR spektroskopie jsem izolovala výchozí látku **62**.

Reakční podmínky jsem proto v dalším pokusu upravila tak, že jsem použila značný přebytek ethyl-chlorformiátu (**33**) (3 ekv.). Vlastní postup spočíval v rozpuštění příslušného množství sekundárního aminu **62** v roztoku ethyl-chlorformiátu (**33**) v CH₂Cl₂ (1/2; v/v). Po 30 min, kdy dle TLC došlo k acylaci poloviny výchozí látky, jsem do roztoku přidala ekvivalent báze, a to pyridinu. Během další hodiny došlo k acylaci zbývajícího aminu **62** (Schéma 25). Po odpaření přebytečného ethyl-chlorformiátu (**33**) a rozpouštědla, jsem z produktu odstranila pyridinium-chlorid prostým promytím vodou. Tímto postupem jsem získala karbamát **63** ve výtěžku 86 %.

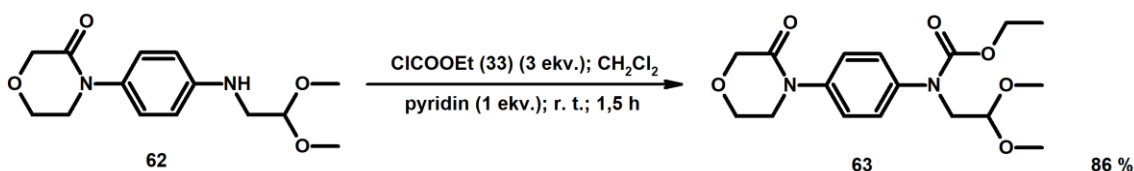


Schéma 25: Příprava karbamátu **63**

V posledním reakčním kroku jsem provedla hydrolýzu acetalové funkční skupiny za vzniku cílového aldehydu **64** (Schéma 26). Reakce byla provedena v acetonitrilu, za přítomnosti katalytického množství vodné HCl a při laboratorní teplotě, což jsou podmínky převzaté z literatury.^[23] Reakční doba byla 18 hodin, přičemž došlo pouze k hydrolýze acetalu, nikoli karbamátové funkční skupiny. Po neutralizaci reakční směsi a odpaření rozpouštědel, jsem anorganickou sůl odstranila promytím produktu vodou. Surový aldehyd **64** jsem čistila sloupcovou chromatografií. Tento reakční krok proběhl s 95 % výtěžkem.

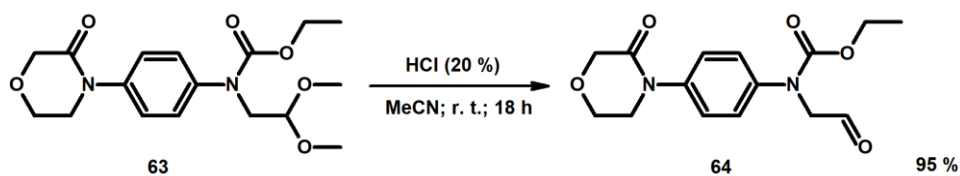


Schéma 26: Příprava aldehydu **64** hydrolýzou acetalu **63**

Závěr

Na závěr lze tedy konstatovat, že se mi podařilo vyvinout vhodnou syntetickou metodu pro přípravu *N*-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)fenyl]-*N*-(ethoxykarbonyl)aminoethanalu (**64**), jakožto prekurzoru léčiva Rivaroxaban (**1**), ze kterého lze toto léčivo syntetizovat s využitím asymetrické Henryho reakce. Syntéza aldehydu **64** zahrnuje celkem 7 reakčních kroků, přičemž vychází z relativně levných chemikálií – *N*-fenylaminoethanolu (**56**) a chloracetylchloridu. Z těchto sloučenin jsem nejprve ve dvou krocích připravila *N*-fenylmorpholin-3-on (**25**) s uspokojivým výtěžkem 40 %. Následně jsem nitrací a redukcí nitroskupiny zavedla do pozice *para* aminovou skupinu, a to s celkovým výtěžkem 30 %. Takto připravený *N*-(4-aminofenyl)morpholin-3-on (**10**) jsem dále alkylovala s využitím reduktivní aminace na sekundární amin **62**, a poté převedla na karbamát **63**. Posledním krokem bylo odchránění aldehydické skupiny, tedy hydrolýza acetalu na požadovaný produkt **64**. Tyto poslední tři syntetické kroky proběhly s celkovým výtěžkem 77 %. Meziprodukty a výsledný aldehyd jsem charakterizovala pomocí ¹H a ¹³C NMR spektroskopie, hmotnostní spektroskopie s vysokým rozlišením, IČ spektroskopie a v případě pevných látek jsem stanovila bod tání.

V další fázi výzkumu budu studovat asymetrickou Henryho reakci aldehydu **64** s nitromethanem, přičemž cílem bude optimalizovat reakční podmínky tak, aby bylo dosaženo co nevyššího chemického výtěžku a co nejvyššího zastoupení enantiomeru s konfigurací *R*-, který bude dále transformován na (*S*)-Rivaroxaban (**1**). Tento výzkum jsem již zahájila a bude předmětem následující diplomové práce.

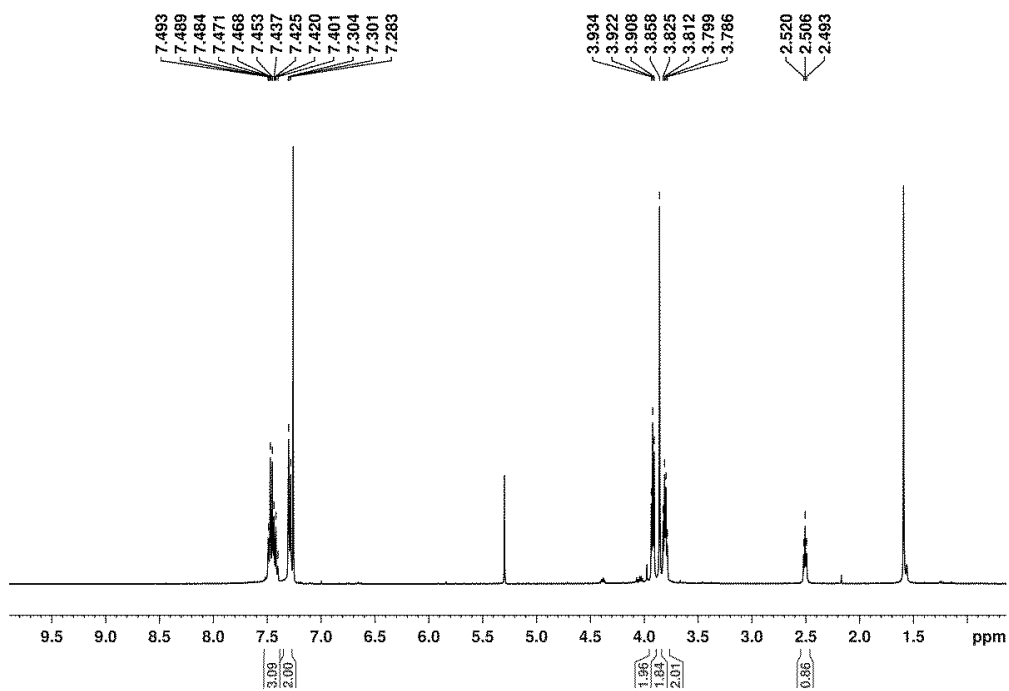
POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Léčiva ovlivňující srážlivost krve. HAMPL, F.; RÁDL, S.; PALEČEK, J. *Farmakochemie*. 3., upravené a rozšířené vydání. Praha: VŠCHT v Praze, 2015, s. 324–336.
- [2] VARDANYAN, R.; HRUBY, V. Antithrombotic Drugs (Anticoagulants, Antiplatelets, and Thrombolytics). *Synthesis of Best-Seller Drugs*. Amsterdam: Elsevier, 2016, s. 383–412.
- [3] Xarelto. *European medicines agency* [online]. London: European Union agencies network, 1995. Dostupné z: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/xarelto-epar-medicine-overview_en.pdf
- [4] Highlights of Prescribing Information of XARELTO, Rivaroxaban, Extended-Release Tablets. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/
- [5] PATEL, M. R.; MAHAFFEY, K. W.; GARG, J.; et al. Rivaroxaban versus Warfarin in Nonvalvular Atrial Fibrillation. *New Engl. J. Med.* **2011**, 365, 883–891.
- [6] ROHRIG, S.; STRAUB, A.; POHLMANN, J.; LAMPE, T.; et al. Discovery of the Novel Antithrombotic Agent 5-Chloro-*N*-({(5*S*)-2-oxo-3-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl]-1,3-oxazolidin-5-yl)methyl}thiophene-2-carboxamide (BAY 59-7939): An Oral, Direct Factor Xa Inhibitor. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 5900–5908.
- [7] FATTAH, T. A.; SAEED, A. A review on the synthetic approaches of rivaroxaban: An anticoagulant drug. *Tetrahedron: Asymmetry* **2017**, 28, 485–504.
- [8] MALI, A. C.; DESHMUKH, D. G.; JOSHI D. R.; LAD, H. D.; et. al. Facile approach for the synthesis of rivaroxaban using alternate synthon: reaction, crystallization and isolation in single pot to achieve desired yield, quality and crystal form. *Sust. Chem. Proc.* **2015**, 3, 11–22.
- [9] GRUNENBERG, A.; LENZ, J.; BRAUN, G. A.; KEIL, B.; THOMAS, Ch. R. Polymorphous form of 5-Chloro-*N*-({(5*S*)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morpholinyl)]-phenyl-1,3-oxazolidin-5-yl)-methyl)-2-thiophene carboxamide. US008188270B2, 2012.
- [10] YUAN, J.; LIU, K.; LI, L.; YUAN, Y.; LIU, X.; LI, Y. A Novel Synthesis of the Oxazolidinone Antithrombotic Agent Rivaroxaban. *Molecules* **2014**, 19, 14999–15004.
- [11] LI, C.; LIU, Y.; ZHANG, Y.; ZHANG, X. An approach to the anticoagulant agent rivaroxaban via anisocyanate-oxirane cycloaddition promoted by MgI₂·etherate. *J. Chem. Res.* **2011**, 35, 400–401.
- [12] XINGXIAN, Z.; YONGJUN, Z.; CHAO, L.; QING, C. Preparation method for rivaroxaban intermediate and rivaroxaban. US Pat. CN 102250076 A, 2011.
- [13] HUA, Z.; HONG JIAN, L.; JINGBING, W. Synthesis method of rivaroxaban. US Pat. CN 102702186 A, 2012.

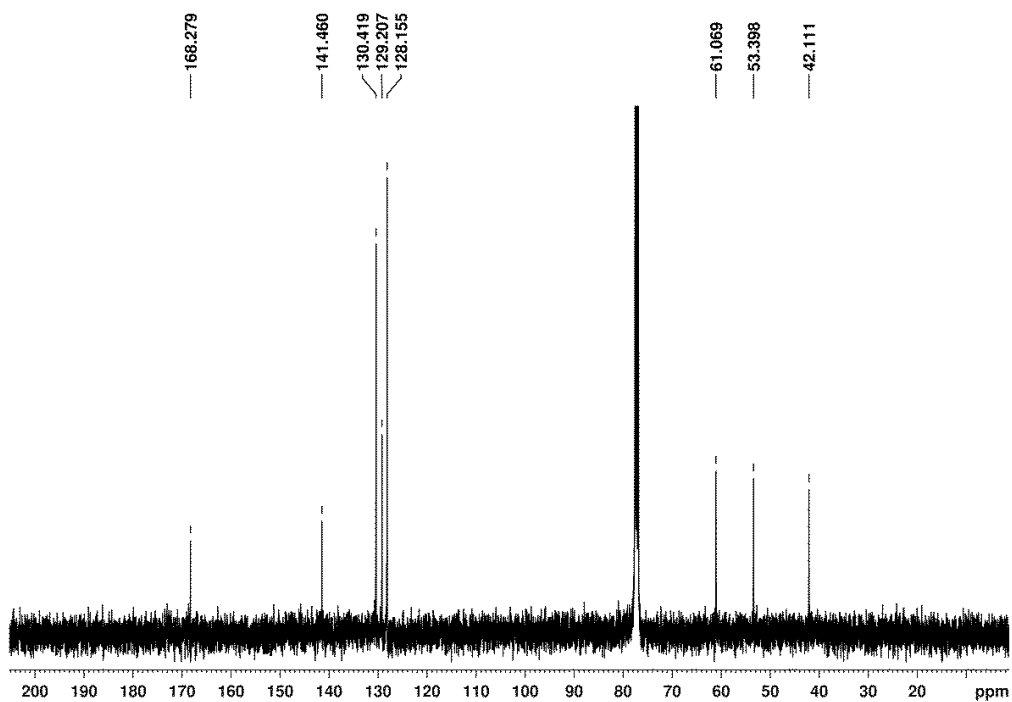
- [14] TANG, B.; GUANGYU, X.; MINGZHONG, Z. Method for synthesizing rivaroxaban. CN 102786516 A, 2012.
- [15] SIPOS, E.; KOVANYIENE LAX, G.; HAVASI, B.; et al. Process for the preparation of a rivaroxaban and intermediates formed in said process. WO 2012153155 A1, 2012.
- [16] RAFECAS JANE, L.; COMELY, A. Ch.; FERRALI, A.; CORTES, C. A.; PASTO AGUILA, M. Process for the preparation of rivaroxaban and intermediates thereof. WO 2011080341 A1, 2011.
- [17] THOMAS, Ch. R. Method for producing 5-chloro-*N*-({5*S*)-2-oxo-3-[4-(3-oxo-4-morpholinyl)-phenyl]-1,3-oxazolidin-5-yl}-methyl)-2-thiophene carboxamide. WO 2004060887 A1, 2004.
- [18] STURM, H.; DE SOUZA, D.; KNEPPER, K.; ALBERT, M. Method for the preparation of rivaroxaban. WO 2011098501 A1, 2011.
- [19] TRETENJAK U.; ILAS, J.; KIKELJ, D. Studies towards the Synthesis of Alkyl *N*-(4-Nitrophenyl)-3/2-oxomorpholine-2/3-carboxylates. *Helv. Chim. Acta* **2013**, *96*, 2160–2172.
- [20] THOMAS C.; BERWE, M.; STRAUB, A. Method for the production of 4-(4-aminophenyl)-3-morpholinon. WO 2005026135 A1, 2005.
- [21] PRASANGI R., S.; DESIREDDY, V. S.; RAO, Y. L.; MURTHY, N.; PALLA, M. An Improved Synthesis of (*S*)-5-chloro-*N*-{[2-oxo-3-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl]oxazolidin-5-yl]methyl}thiophene-2-carboxamide. *Chem. Sci. Trans.* **2017**, *6*, 27–34.
- [22] PANCHARTEK, J.; ŠTĚRBA, V.; VEČEŘA, M. *Organická chemie – Reakční mechanismy*, Praha: SNTL, 1972.
- [23] PICCIONELLO, A. P.; PIERRO, P.; ACCARDO, A.; BUSCEMI, S.; PACE, A. Concise asymmetric synthesis of Linezolid through catalyzed Henry reaction. *RSC Adv.* **2013**, *3*, 24946–24951.

PŘÍLOHY

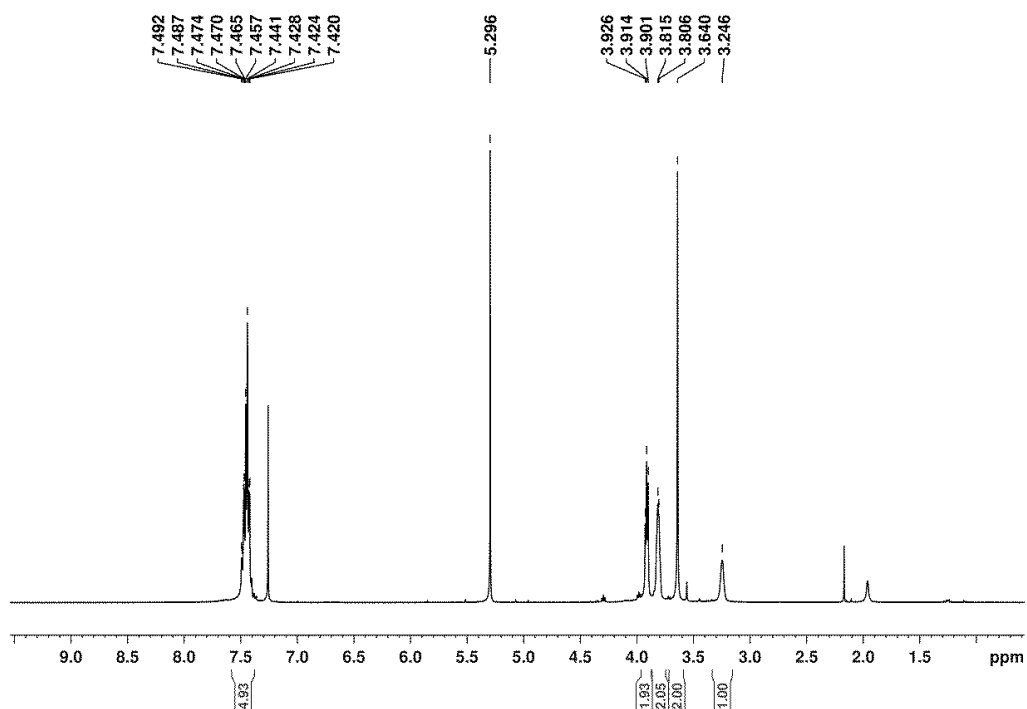
¹H NMR spektrum *N*-fenyl-*N*-(2-hydroxyethyl)chloracetamidu (57)



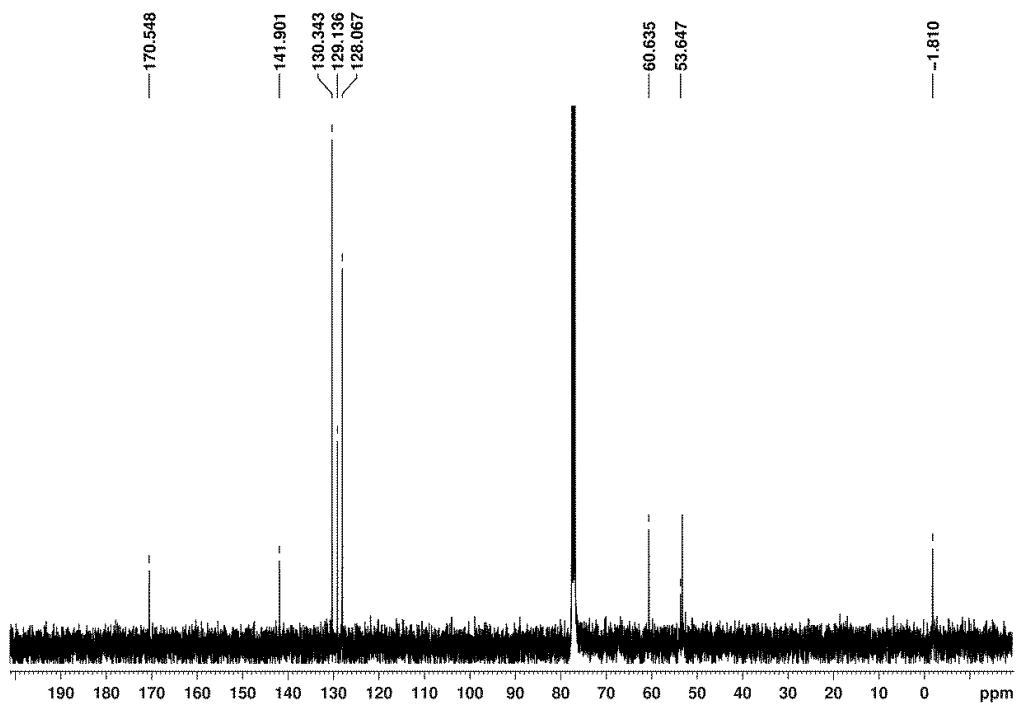
¹³C NMR spektrum *N*-fenyl-*N*-(2-hydroxyethyl)chloracetamidu (57)



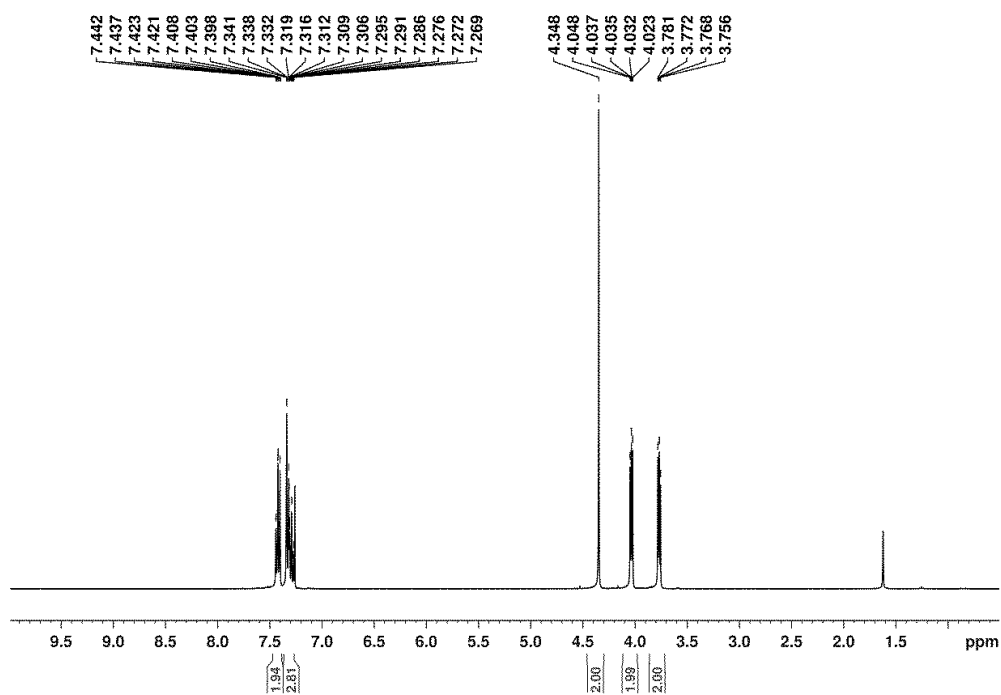
¹H NMR spektrum *N*-fenyl-*N*-(2-hydroxyethyl)jodacetamidu (58)



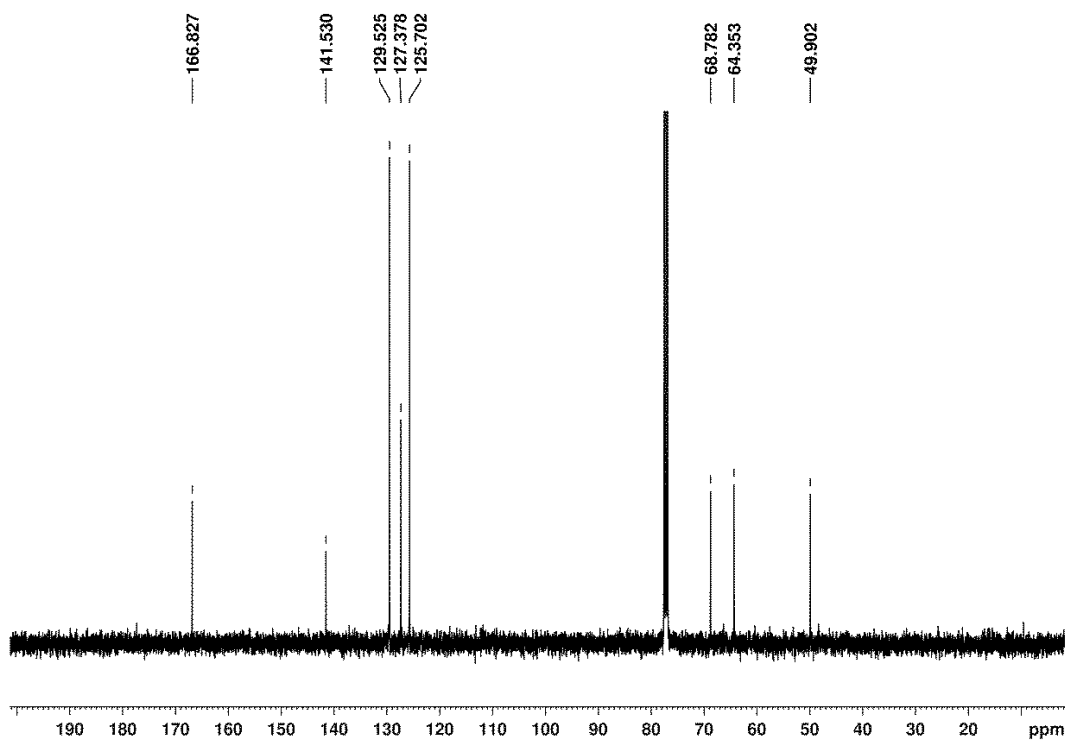
¹³C NMR spektrum *N*-fenyl-*N*-(2-hydroxyethyl)jodacetamidu (58)



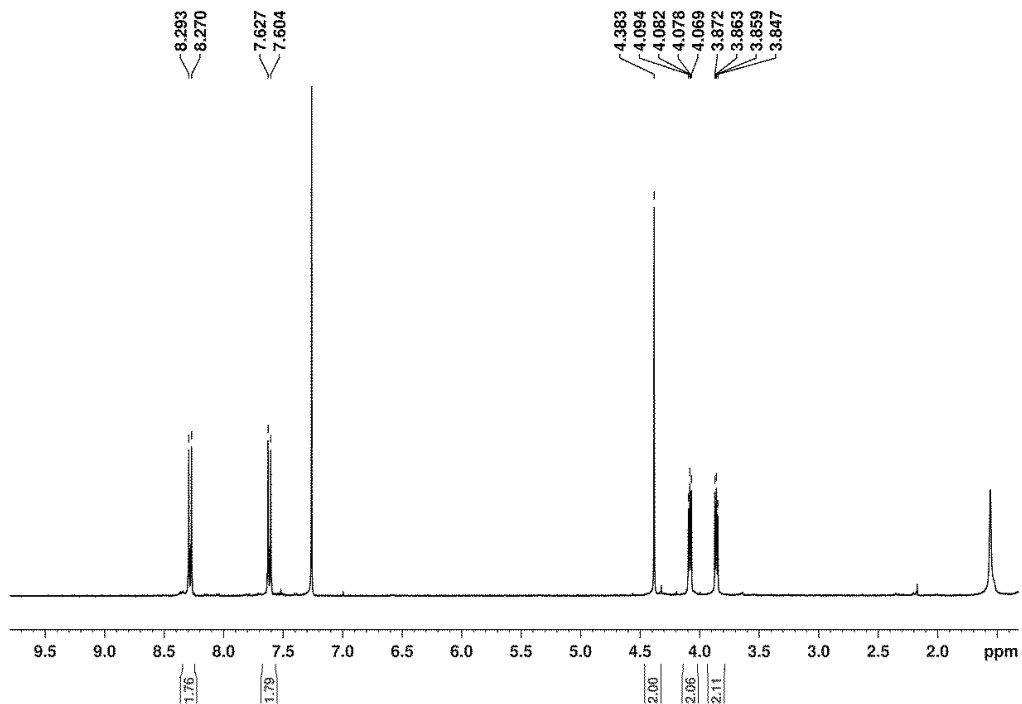
¹H NMR spektrum *N*-fenylmorfolin-3-onu (25)



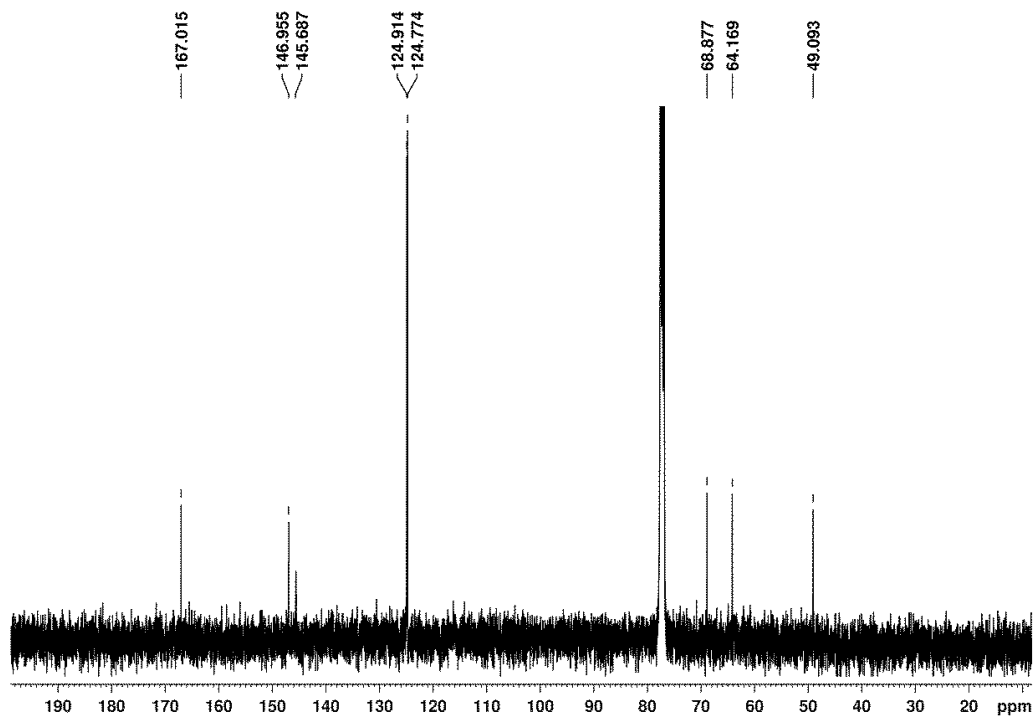
¹³C NMR spektrum *N*-fenylmorfolin-3-onu (25)



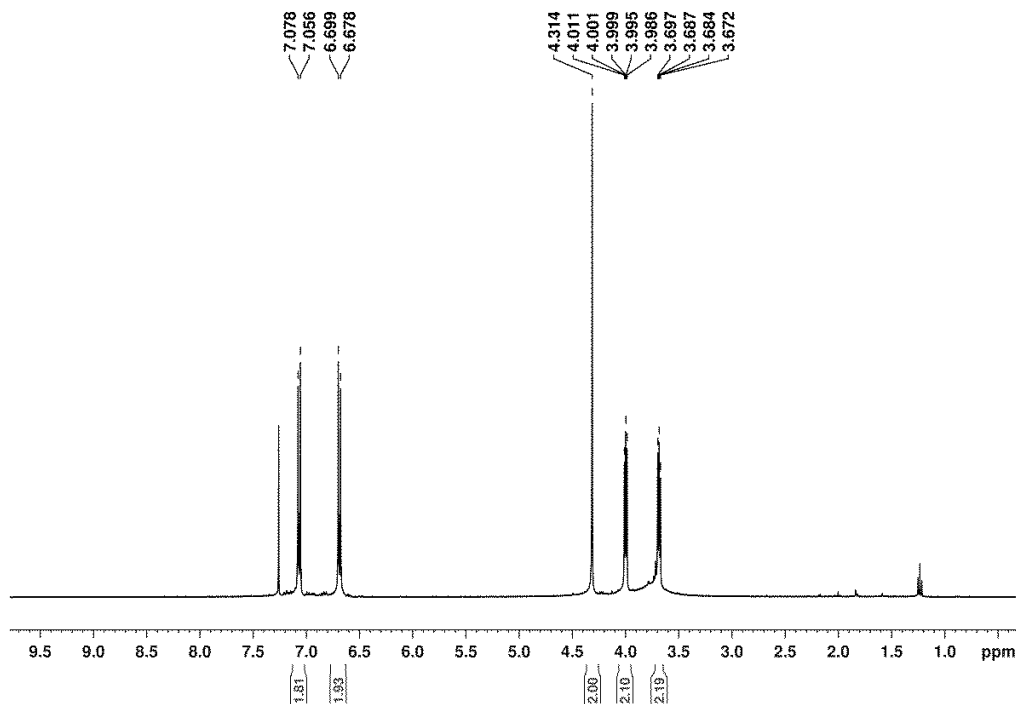
¹H NMR spektrum *N*-(4-nitrofenyl)morfolin-3-onu (9)



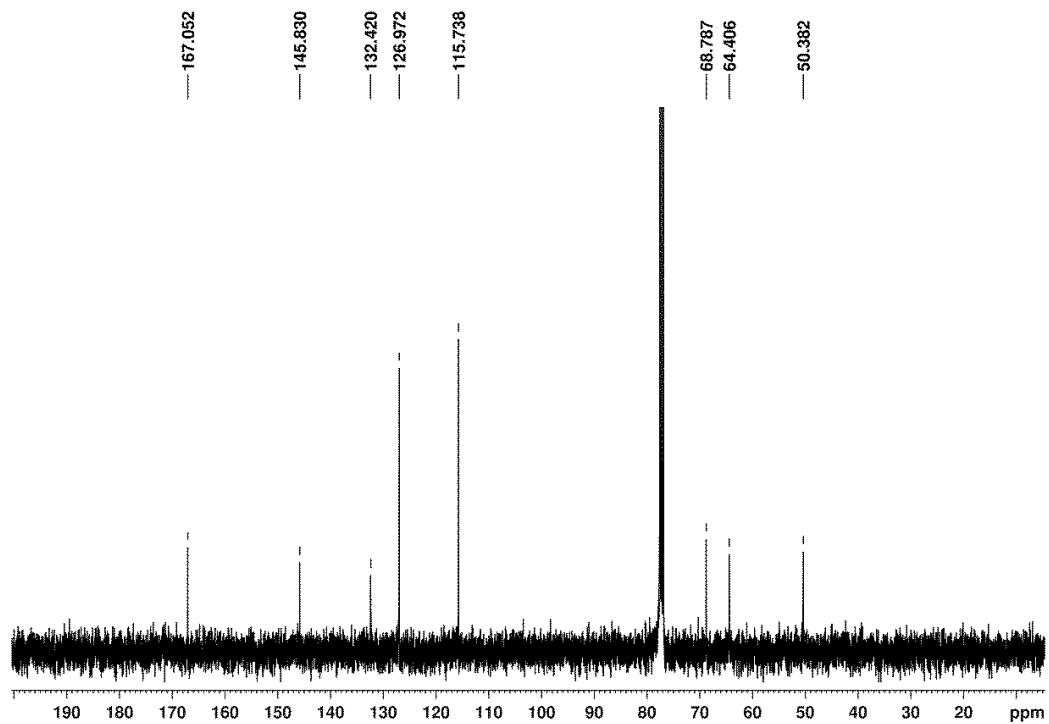
¹³C NMR spektrum *N*-(4-nitrofenyl)morfolin-3-onu (9)



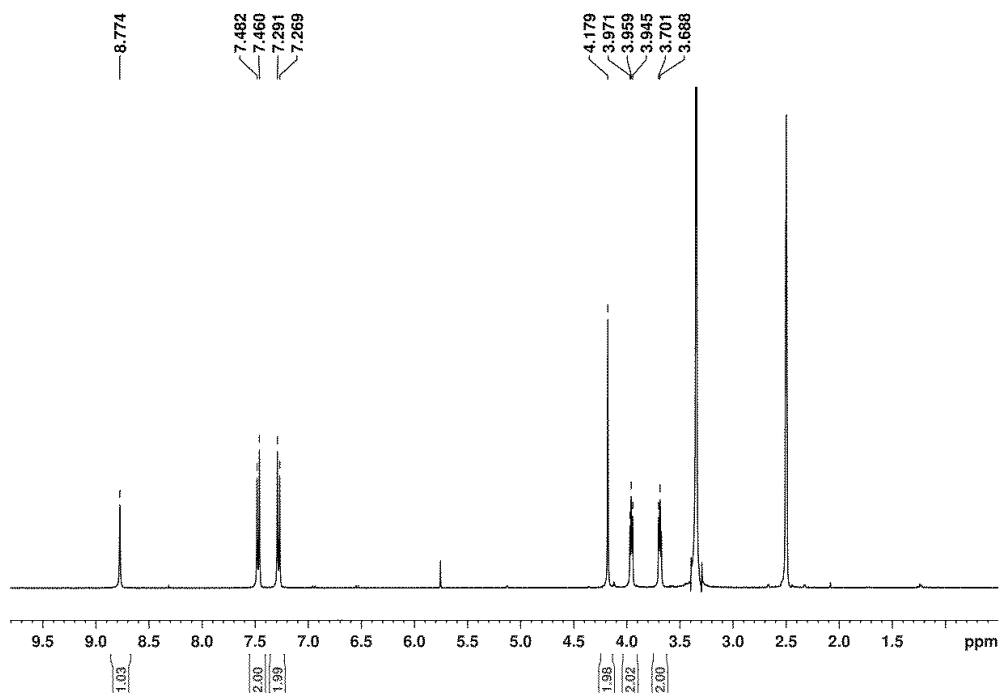
¹H NMR spektrum *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (10)



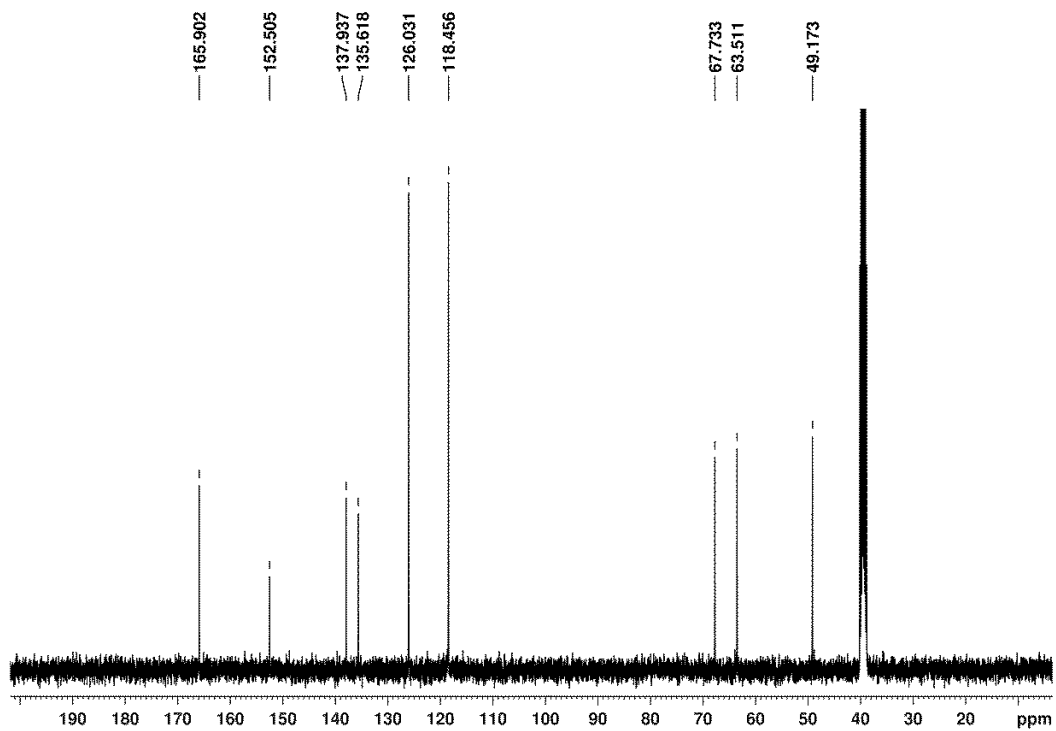
¹³C NMR spektrum *N*-(4-aminofenyl)morfolin-3-onu (10)



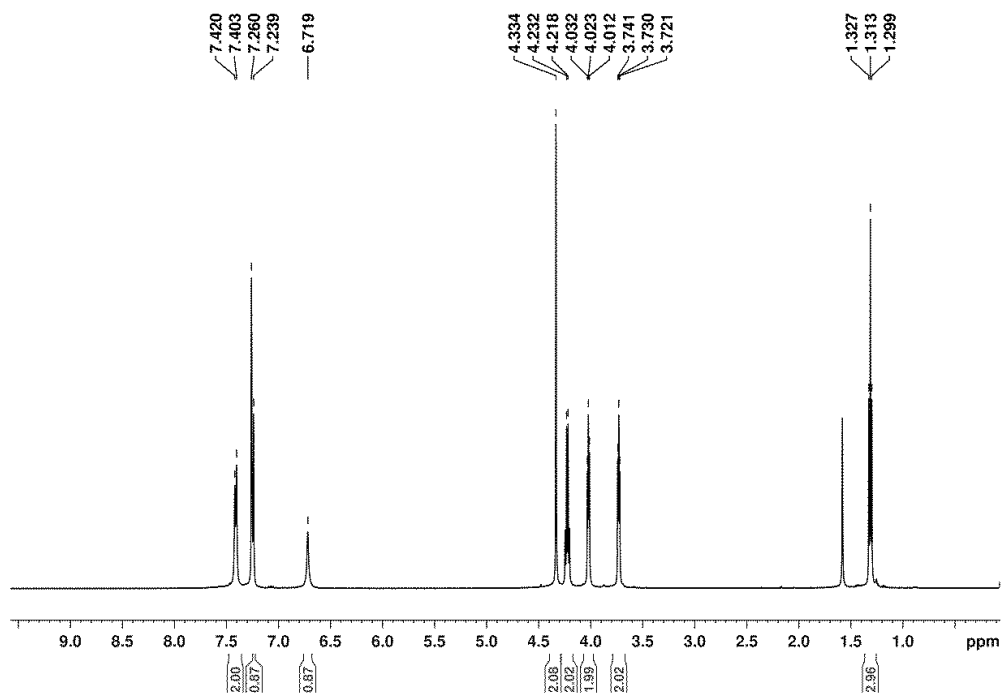
¹H NMR spektrum *N,N'*-bis[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]močoviny (60)



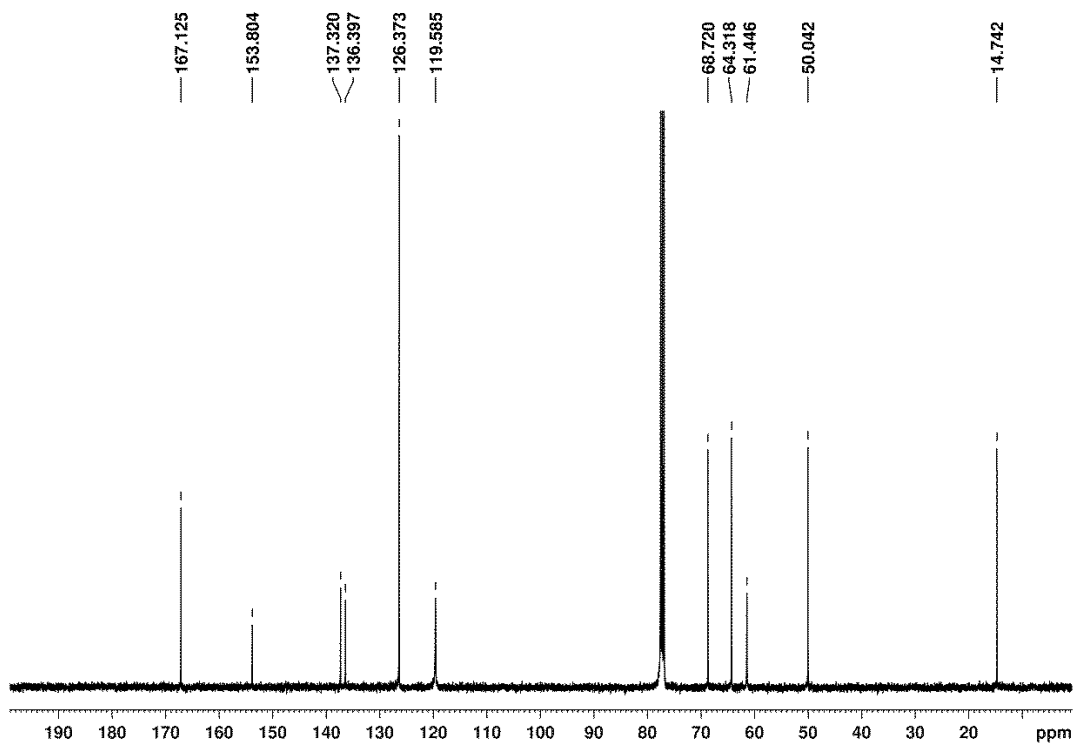
¹³C NMR spektrum *N,N'*-bis[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]močoviny (60)



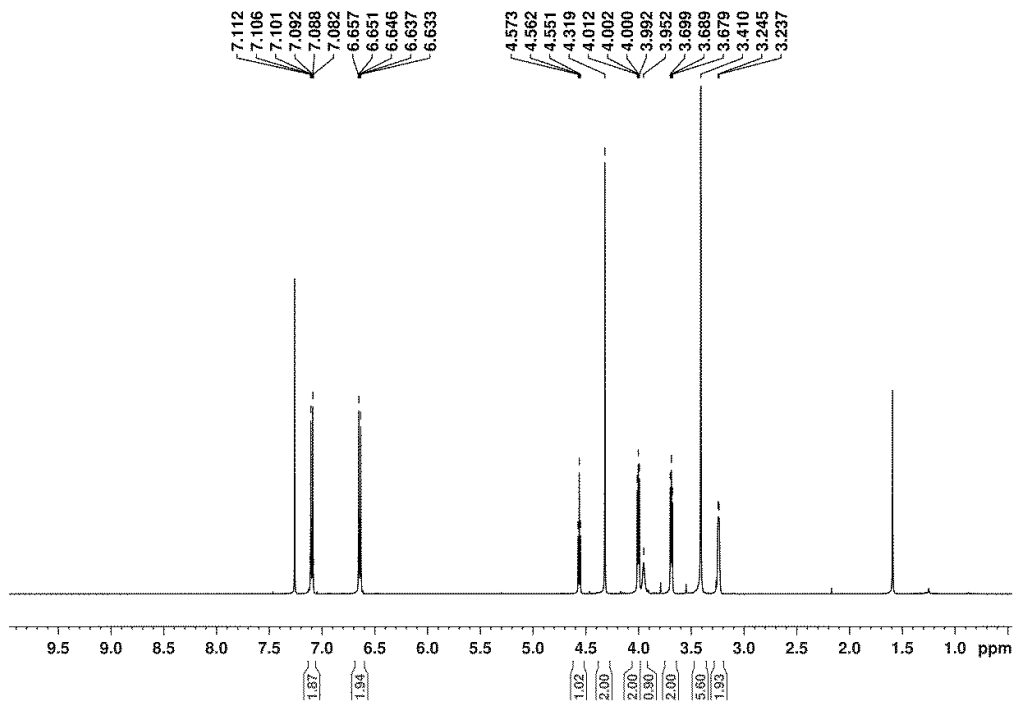
¹H NMR spektrum *O*-ethyl-*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]karbamátu (34)



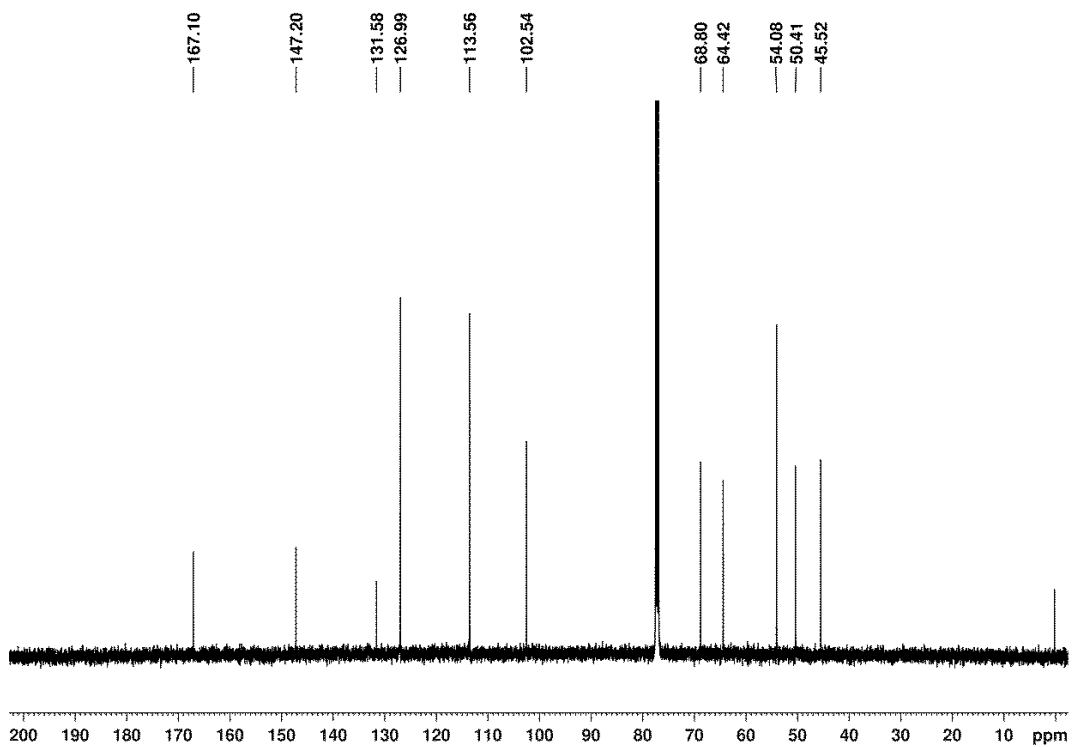
¹³C NMR spektrum *O*-ethyl-*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]karbamátu (34)



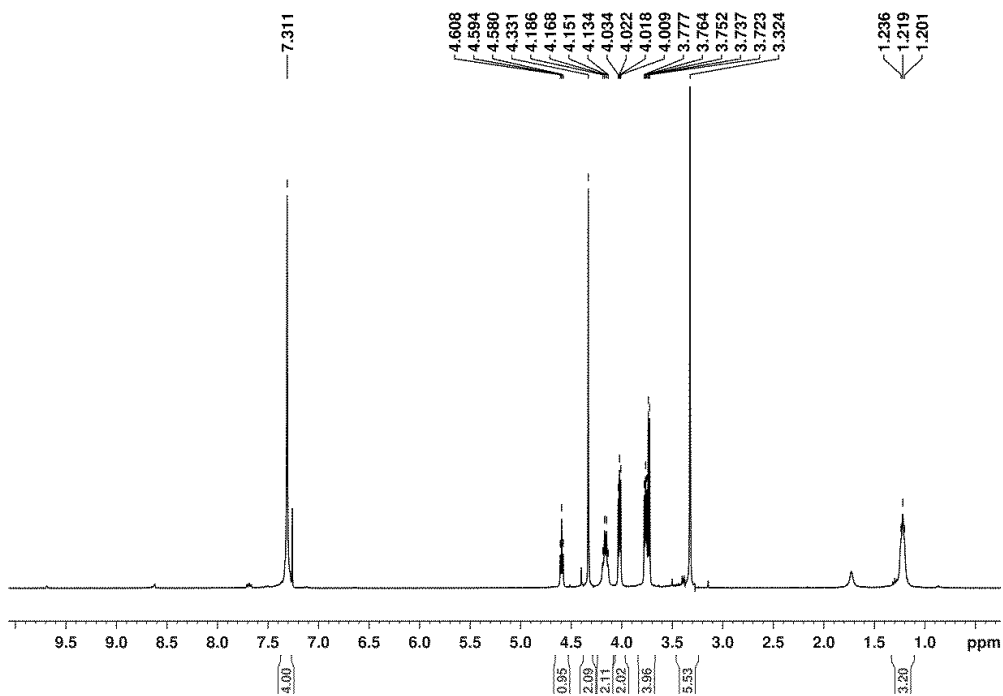
¹H NMR spektrum *N*-[4-(2,2-dimethoxyethylamino)fenyl]morfolin-3-onu (62)



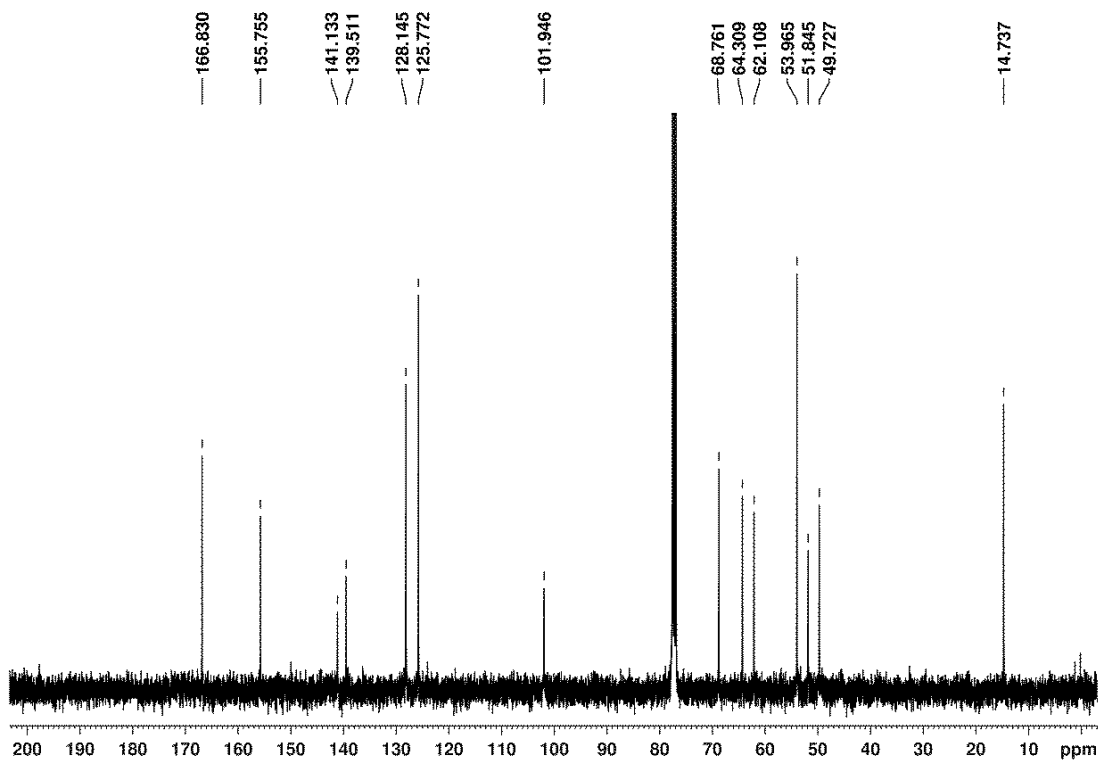
¹³C NMR spektrum *N*-[4-(2,2-dimethoxyethylamino)fenyl]morfolin-3-onu (62)



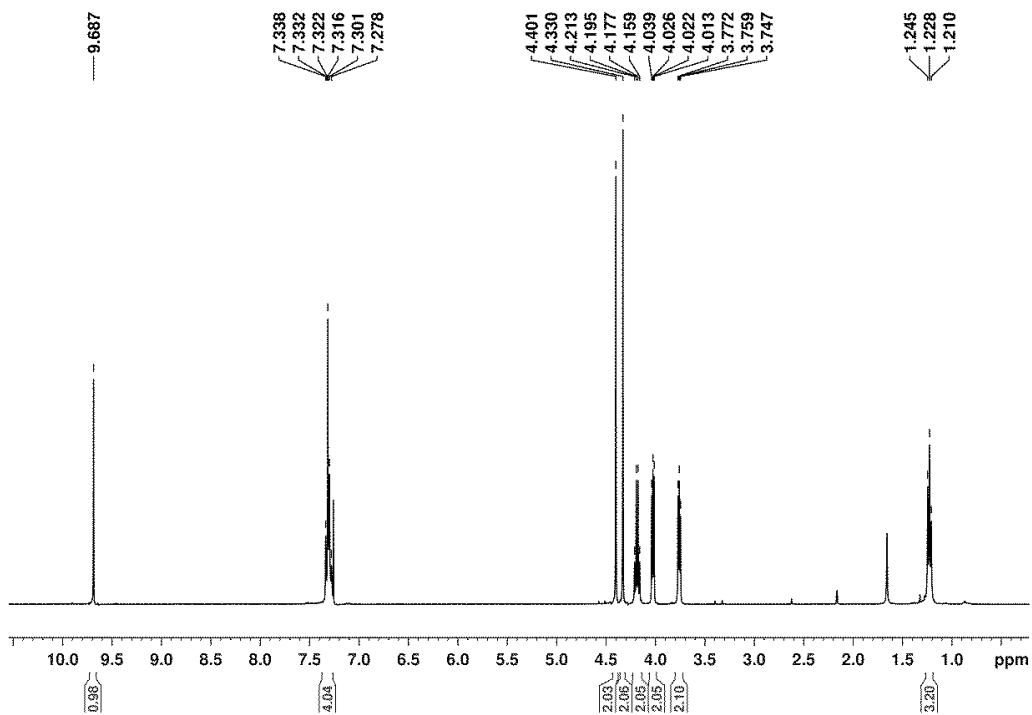
¹H NMR spektrum *O*-ethyl-*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(2,2-dimethoxyethyl)karbamátu (63)



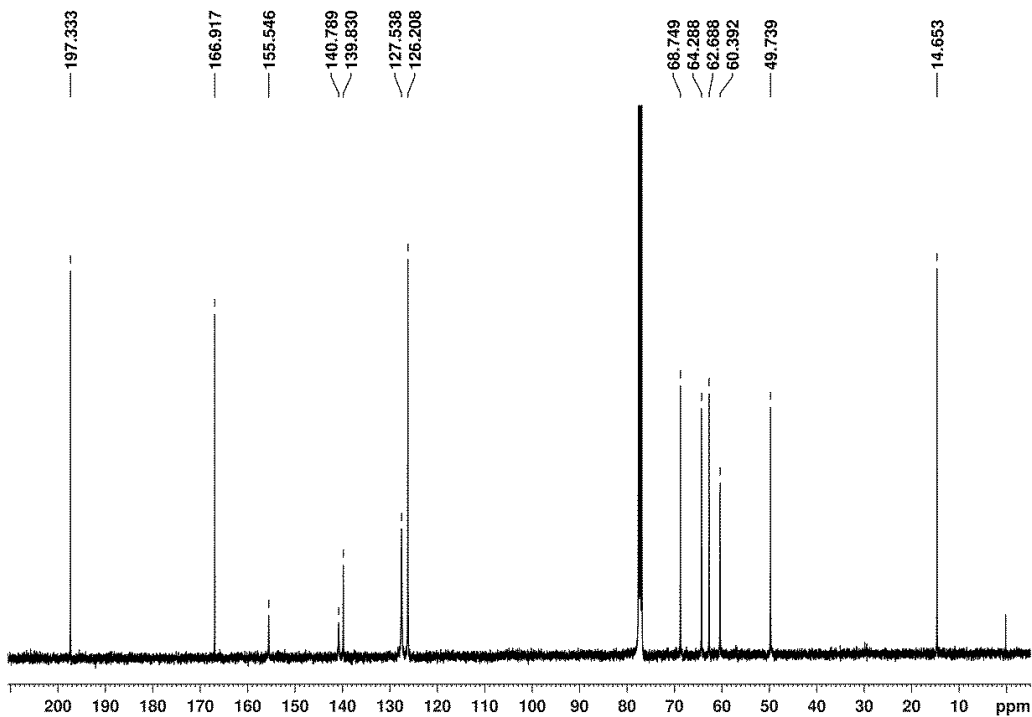
¹³C NMR spektrum *O*-ethyl-*N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(2,2-dimethoxyethyl)karbamátu (63)



¹H NMR spektrum *N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(ethoxykarbonyl)aminoethanal (64)



¹³C NMR spektrum *N*-[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]-*N*-(ethoxykarbonyl)aminoethanal (64)



ÚDAJE PRO KNIHOVNICKOU DATABÁZI

Název práce	Příprava prekurzorů léčiva Rivaroxaban
Autor práce	Viol Feixová
Obor	Farmakochemie a medicínální materiály
Rok obhajoby	2019
Vedoucí práce	doc. Ing. Pavel Drabina, Ph.D.
Anotace	Bakalářská práce popisuje přípravu <i>N</i> -[4-(3-oxomorfolin-4-yl)fenyl]- <i>N</i> -(ethoxykarbonyl)aminoethanalu jakožto prekurzoru humánního léčiva – antikoagulancia Rivaroxaban. Z tohoto prekurzoru lze Rivaroxaban syntetizovat v neracemické formě s využitím asymetrické Henryho reakce. Příprava prekurzoru byla provedena sedmi-krokovou syntézou vycházející z levného, komerčně dostupného <i>N</i> -fenylaminoethanolu. Reakční podmínky jednotlivých reakčních kroků byly optimalizovány za účelem maximalizace výtěžků. Všechny meziprodukty a cílový prekurzor byly charakterizovány pomocí dostupných analytických metod.
Klíčová slova	Antikoagulancia; Rivaroxaban; Inhibitor faktoru Xa; Morfolin-3-onové deriváty; Asymetrická Henryho reakce