

Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego  
w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

Tytuł Projektu: "Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym"  
Nr POIG.01.03.01-00-158/09

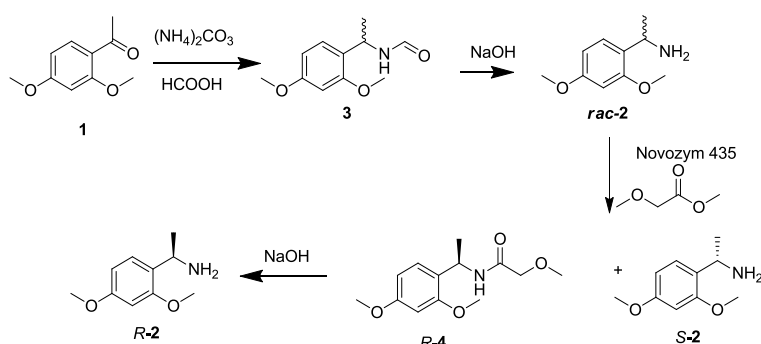
Opracowanie zrealizowano w ramach projektu POIG 01.03.01-00-158/09

Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym

Zadanie badawcze nr 2. Chemoenzymatyczna synteza nowych związków o działaniu  
antynowotworowym

Instytut Chemii Organicznej PAN Warszawa

### Synteza obu enancjomerów $\alpha$ -(2,4-dimetoksyfenylo)etylo aminy, chiralnego pomocnika do syntezy związków o działaniu antynowotworowym.



**Synteza racemicznej  $\alpha$ -(2,4-dimetoksyfenylo)etylo aminy (*rac-2*).** Węglan amonu (13,5 g, 0,14 mol) rozpuszczono w 10,2 ml kwasu mrówkowego (80%). Mieszaninę reakcyjną ogrzewano w temperaturze 135°C przez 2 godziny i następnie schłodzono do temperatury pokojowej. Po schłodzeniu dodano 2,4-dimetoksybenzofenon (12,7 g, 70 mmol) i ogrzewano do wrzenia usuwając tworzącą się wodę. Temperatura mieszaniny reakcyjnej podniosła się do 175°C i mieszanina stała się homofazowa. Ogrzewanie przerwano i pozostawiono w temperaturze pokojowej na dwie godziny a następnie dodano dichlorometan (400 ml). Fazę organiczną oddzielono i przemyto roztworem wodorotlenku sodowego (2N, 100ml) oraz wodą (100 ml). Fazę organiczną oddzielono, suszono siarczanem magnezu i rozpuszczalnik odparowano. Uzyskany surowy produkt krystalizowano z mieszaniny heksanu oraz octanu



Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego  
w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

Tytuł Projektu: "Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym"  
Nr POIG.01.03.01-00-158/09

etylu uzyskując 12 g białego produktu ( wydajność 37%). Tak uzyskany surowy produkt poddano od razu następnej reakcji hydrolizy. Zawiesinę amidu **3** (2 g, 9.5 mmol) w roztworze wodorotlenku sodu (2N, 20 ml) ogrzewano do wrzenia przez 4 godziny kontrolując przebieg reakcji metodą chromatografii cienkowarstwowej (TLC). Następnie mieszaninę reakcyjną schłodzono do temperatury pokojowej i dodawano do niej kwas solny do uzyskania pH = 2 i dodano eter etylowy (2 x 50 ml). Fazę organiczną oddzielono a do fazy wodnej i dodawano roztwór wodorotlenku sodu (4N) do uzyskania pH = 13. Fazę wodną poddano ekstrakcji dichlorometanem (2x100 ml) i po oddzieleniu fazy organicznej, rozpuszczalnik organiczny odparowano a surowy produkt oczyszczano przez destylację pod zmniejszonym ciśnieniem (100 – 101°C, 0.1 mm Hg) uzyskując 1 g bezbarwnej racemicznej aminy **2** (wydajność 58%). <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.44 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.72 (s, 2H), 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.34 (q, J = 6.6 Hz, 1H, -CHPh(CH<sub>3</sub>)), 6.50 – 6.55 (m, 2H -Ph), 7.26 – 7.31 (m, 1H, -Ph); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23.6, 45.9, 55.5, 55.6, 98.9, 104.0, 126.4, 128.6, 158.0, 159.7.

#### **Synteza chemiczna N-[1-(2,4-dimetoksyfenylo)etylo]-2-metoksyacetamidu (rac-4).**

Racemiczną aminę **2** (100 mg, 0.55 mmol) rozpuszczono w metoksyoctanie metylu (12 ml, 11 milimola) i ogrzewano do wrzenia przez noc (12 godzin). Następnie mieszaninę reakcyjną schłodzono do temperatury pokojowej i rozcieńczono octanem etylu. Fazę organiczną oddzielono i przemyto kwasem cytrynowym (10%) and solanką, suszono nad siarczanem magnezu i rozpuszczalnik odparowana pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując produkt jako biały proszek (90 mg, wydajność 68%). <sup>1</sup>H NMR (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.51 (d, J = 6.8 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.45 (s, 3H, -CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>) 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.80 – 4.01 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>) 5.27 – 5.34 (m, 1H, -CHPh(CH<sub>3</sub>)), 6.46 – 6.54 (m, 2H -Ph), 7.16 – 7.20 (m, 1H, -Ph), 7.43 (bs, NH); <sup>13</sup>C NMR (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.9, 46.3, 55.6, 55.6, 59.4, 72.4, 99.5, 104.3, 123.6, 128.6, 158.3, 160.4, 168.4; HR-MS (ESI, [M + Na<sup>+</sup>]) obliczono dla: C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>Na: 276.1206, znaleziono, 276.1202 m/z; Analiza obliczona dla C<sub>13</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>: C, 61.64; H, 7.56; N, 5.53; znaleziono: C, 61.50; H, 7.59; N, 5.46;

#### **Enzymatyczna synteza N-[1-(2,4-dimetoksyfenylo)etylo]-2-metoksyacetamidu (4).**

Racemiczną aminę **2** rozpuszczono w toluenie (20 mg/ml), dodano Novozym 435 (10%



Projekt współfinansowany ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego  
w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka

Tytuł Projektu: "Biotransformacje użyteczne w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym"  
Nr POIG.01.03.01-00-158/09

wagowych), następnie metoksyoctn metylu (3 równoważniki) i pozostawiono na wytrząsarce (48 godzin) w temperaturze pokojowej. Następnie enzym odfiltrowano i fazę organiczną przemyto roztworem kwasu solnego (1N). Fazę organiczną zateżono uzyskując surowy amid **4**  $[\alpha]_D = +111$  ( $c = 0.50$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). Reakcję z Novozym 435 wykonano w skali 3 g aminy. Po krystalizacji uzyskano amid o czystości enancjomerycznej  $ee > 99.9\%$ .

**Synteza (S)- $\alpha$ -(2,4-dimetoksyfenylo)etylo aminy (S-2).** Do fazy wodnej z poprzedniego eksperymentu dodano roztwór wodorotlenku sodu (4N) do uzyskania  $\text{pH} = 13$  i mieszaninę ekstrahowano dichlorometanem (2 x 50 ml). Fazy organiczne połączono, suszono ( $\text{MgSO}_4$ ) i po odparowaniu rozpuszczalnika destylowano pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując aminę o  $[\alpha]_D = -17$  ( $c = 0.85$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). W celu wyznaczenia wartości nadmiaru enancjomerycznego aminę traktowano bezwodnikiem octowym (2 równoważniki) w dichlorometanie przez dwie godziny. Następnie mieszaninę reakcyjną rozcieńczono tym samym rozpuszczalnikiem, przemyto kwasem solnym (1N), suszono ( $\text{MgSO}_4$ ). Po odparowaniu rozpuszczalnika surowy produkt analizowano metodą HPLC stwierdzając jego wysoką czystość enancjomeryczną ( $ee > 99\%$ ).

**Synteza (R)- $\alpha$ -(2,4-dimetoksyfenylo)etylo aminy (R-2).** Amid **R-4** (1 g) zawieszono w roztworze wodorotlenku sodu (4N NaOH, 8 mL) w glikolu etylowym (2 ml). Mieszane reakcyjną ogrzewano do wrzenia przez 18 godzin, schłodzono do temperatury pokojowej i wleto do dichlorometanu (50 ml). Uzyskany roztwór przemyto wodą i suszono ( $\text{MgSO}_4$ ). Po odparowaniu rozpuszczalnika surowy produkt destylowano pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskując 632 mg aminy (**R-2**) of aminy (wydajność 88%,  $ee = 94\%$ ).  $[\alpha]_D = +18$  ( $c = 0.5$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).