

(19)



REPUBLIKA SLOVENIJA

Urad RS za intelektualno lastnino

(10) **SI 20161 A**

(12)

## PATENT

(21) Številka prijave: **9820052**

(51) MPK<sup>6</sup>: **C07H 1/00**, **C07H 3/02**,  
**A61P 35/00**

(22) Datum prijave: **25.06.1998**

(45) Datum objave: **31.08.2000**

(86) Mednarodna patentna prijava:  
**25.06.1998 WO PCT/US98/13367**

(30) Prednostna pravica:  
**30.06.1997 US 51191**

(87) Objava mednarodne patentne prijave:  
**WO 99/00399, 07.01.1999**

(72) Izumitelji: **RAMASAMY Kandasamy, Laguna Hills, CA 92653, US;**  
**BANDARU Rajanikanth, Irvine, CA 92612, US;**  
**AVERETT Devron, Irvine, CA 92653, US**

(73) Nosilec: **ICN PHARMACEUTICALS, INC.,**  
**3300 Hyland Avenue, Costa Mesa, CA 92626, US**

(74) Zastopnik: **Patentna pisarna d.o.o., Čopova 14 p.p. 1725, 1001 Ljubljana, SI**

### (54) POSTOPEK ZA PROIZVODNJO TIAZOFURINA IN DRUGIH C-NUKLEOZIDOV

(57) C-nukleozide sintetiziramo s postopkom, v katerem sladkor derivatiziramo v enem koraku, tako da zagotovimo heterocikel na C1 položaju in nato heterocikel aromatiziramo v še enem posamičnem koraku. V enem razredu prednostnih izvedb ciano sladkor pretvorimo v tiokarboksamid in ga nato

kondenziramo, da tvorimo azolni obroč. V drugem razredu prednostnih izvedb ciano sladkor kondenziramo z amino kislino, da zagotovimo azolni obroč. V tretjem razredu prednostnih izvedb halo sladkor kondenziramo s predpripravljenim heterociklom, da zagotovimo azolni obroč.

SI 20161 A

## ICN PHARMACEUTICALS, INC.

### Postopek za proizvodnjo tiazofurina in drugih C-nukleozidov

#### Ozadje

C-nukleozidi so zanimive spojine s potencialno aktivnostjo kot farmacevtska sredstva. Ena od teh spojin, tiazofurin, [6,2-( $\beta$ -D-ribofuranozil)tiazol-4-karboksamid], ima pomembno aktivnost proti obema humanima limfoidoma, (F. Earle in R.I. Glazer, *Cancer Res.*, 1983, 43 133), pljučnim tumorskim celičnim linijam (D. N. Carnex, G.S. Abluwalia, H. N. Jayaram, D.A. Cooney in D.G. Johns, *J. Clin. Invest.*, 1985, 75 175) in glodalcem implantiranemu humanemu ovarijskemu raku (J. P. Micha, P.R. Kucera, C.N. Preve, M.A. Rettenmaier, J.A. Stratton, P.J. DiSaia, *Gynecol. Oncol.* 1985, 21, 351). Tiazofurin je pokazal tudi učinkovitost pri zdravljenju akutne mieloidne levkemije (G.T. Tricot, H.N. Jasyaram C.R. Nichols, K. Pennington, E. Lapis, G. Weber in R. Hoffman, *Cancer Res.* 1997, 47 4988). Poleg tega so nedavne ugotovitve privedle do zanimanja za tiazofurin kot možnega zdravila za paciente s kronično mieloidno levkemijo (CML) v blastni krizi (G. Weber, US patent, 5,405,837; 1995). V celicah se tiazofurin pretvori v svoj aktiven metabolit, tiazol-4-karboksamid adenin dinukleotid (TAD), ki inhibira IMP dehidrogenazo in kot rezultat depletira gvanozin nukleotidne fonde ("poole"). (E. Olah, Y. Natusmeda, T. Ikegami, Z. Kote, M. Horanyi, I. Szelenye, E. Paulik, T. Kremmer, S.R. Hollan, J. Sugar in G. Weber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988, 85, 6533).

Čeprav je tiazofurin znan že več kot 15 let in je trenutno pod II/III fazo testov na ljudeh, ne obstaja ustrezna sinteza za proizvodnjo v velikem merilu. Tiazofurin so prvi v nizkem dobitku neodvisno sintetizirali M. Fuertes et al. (*J. Org. Chem.*, 1976, 41, 4076) in Srivastava et al. (*J. Med. Chem.*, 1977, 20, 256). Pri obeh postopkih so avtorji dobili stranske produkte (t.j. spojino 12) in v vsaki fazi so za čiščenje produktov uporabili kolonsko kromatografijo. Glavna pomanjkljivost teh metod je tvorba furanskega derivata, kot tudi uporaba zelo strupenega plina vodikovega sulfida.

W. J. Hannon et al. (J. Org. Chem., 1985, 50, 1741) so razvili nekoliko drugačno pot za tiazofurin z 19 % dobitkom. Tudi Hannonova metoda ima pomanjkljivosti kot so nizek dobitok, uporaba plina H<sub>2</sub>S in kromatografska čiščenja. Nedavno so P. Vogel et al. (Helv. Chem. Acta., 1989, 72, 1825) sintetizirali tiazofurin v devetih korakih s 25 %-nim dobitkom. Še nedavneje so D. C. Humber et al. (J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1990, 283) izdelali sintezo za tiazofurin, pri kateri izhajajo iz benzil (2,3,5-tri-O-benzioil-β-D-ribofuranozil)penicilinata.

Edina znana metoda, ki je sploh primerna za proizvodnjo v velikem merilu, je metoda Parsonsa et al. (US 4,451,684). Na žalost pa Parsonsova metoda uporablja tako živosrebrov cianid kot vodikov sulfid, ki sta problematična glede varnosti in okolja. Parsonsova metoda daje tudi zmes produktov.

Zgoraj obravnavani problemi, ki so prisotni pri proizvodnji tiazofurina v velikem merilu, se lahko aplicirajo tudi na proizvodnjo ostalih C-nukleozidov v velikem merilu. V proizvodnji tiokarboksamidov se v večini znanih metod uporablja kot npr. reagent za konverzijo ciano skupine v ustrezno tiokarboksamidno skupino, plinast vodikov sulfid. Takšne metode imajo pripadajoče okoljevarstvene probleme. V proizvodnji C-nukleozidov daje, splošno, večina ali vse znane sinteze v koraku zaprtja obroča zmes produktov. Tako obstaja stalna potreba po novem postopku za proizvodnjo tiazofurina in ostalih C-nukleozidov v velikem merilu.

### **Povzetek izuma**

Predloženi izum se nanaša na nov postopek za sintetiziranje C-nukleozidov, v katerem se C<sub>1</sub> položaj sladkorja derivatizira v posamičnem koraku, tako da se zagotovi heterocikel, nakar se heterocikel aromatizira v še enem posamičnem koraku.

V enem razredu prednostnih izvedb se ciano sladkor pretvori v tiokarboksamid in nato kondenzira, da se tvori azolni obroč. V drugem razredu prednostnih izvedb se ciano

sladkor kondenzira z amino kislino, da se zagotovi azolni obroč. V tretjem razredu prednostnih izvedb se halo sladkor kondenzira z nastalim heterociklom, da se zagotovi azolni obroč.

Predloženi postopek ima številne prednosti. Ena prednost je ta, da postopek eliminira potrebo po plinastem vodikovem sulfidu, ki ni varen s stališča okolja. Druga prednost je, da je, v primerjavi s predhodnimi postopki, dobitok znatno izboljšan. Tretja prednost je ta, da predloženi postopek eliminira potrebno po postopkih kromatografskega čiščenja in s tem zmanjša strošek proizvodnje.

Ti in številni drugi predmeti, lastnosti, vidiki in prednosti predloženega izuma bodo postali bolj razvidni iz naslednjega podrobnega opisa prednostnih izvedb izuma skupaj s spremljajočimi risbami, v katerih iste številke predstavljajo iste komponente.

### **Kratek opis risb**

Slika 1 je vrsta reakcijskih shem, ki ponazarjajo različne izvedbe predloženega izuma.

Slika 2 je še ena serija reakcijskih shem, ki ponazarjajo različne izvedbe predloženega izuma.

Slika 3 je še ena serija reakcijskih shem, ki ponazarjajo različne izvedbe predloženega izuma.

### **Podroben opis**

Obstajajo trije prednostni razredi postopkov za izvedbo predloženega izuma, pri čemer je vsak od njih ponazorjen glede na proizvodnjo tiazofurina na slikah 1, 2 in 3.

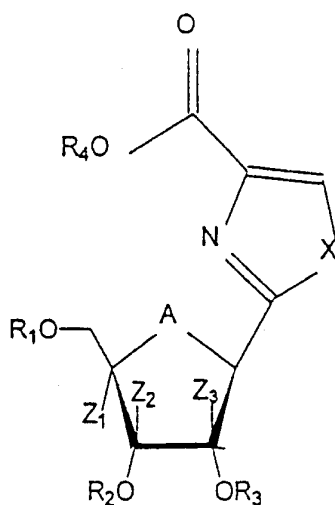
V enem prednostnem razredu izvedb se ciano sladkor pretvori v tiokarboksamid in nato kondenzira, da se tvori azolni obroč. V značilnem primeru, prikazanem na sliki 1,

se blokiran ciano sladkor (2) pretvori v tiokarboksamid (3) in nato kondenzira z etilbromopiruvatom, da se dobi tiazofurinski intermediat (4). Prikazani postopek zagotavlja tiazofurin v kvantitativnem dobitku brez kakršnihkoli stranskih produktov (12 ali  $\alpha$ -anomera 4).

V drugem razredu prednostnih izvedb se ciano sladkor kondenzira z amino kislino, da se zagotovi azolni obroč. V konkretnem primeru, prikazanem na sliki 2, se znan ciano (8) kondenzira s cistein etilester hidrokloridom, da se dobi obročno zaprt produkt (9), ki se nato aromatizira z aktiviranim manganovim dioksidom, da se zagotovi tiazofurinski intermediat (10). Ta ključni intermediat (10) se prikladno z dobrim dobitkom pretvori v tiazofurin.

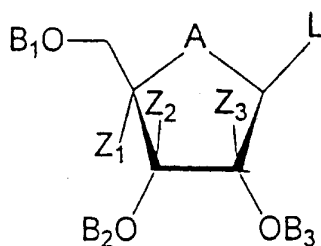
V tretjem razredu prednostnih izvedb se halo sladkor kondenzira s predpripravljenim heterociklom, da se zagotovi azolni obroč. V konkretnem primeru, prikazanem na sliki 1, se predpripravljeni heterocikel (13) kondenzira z znanim halo sladkorjem (14), da se zagotovi ključni intermediat (4), iz katerega se zlahka izvede tiazofurin.

Seveda tukaj opisani inventivni postopki niso omejeni na proizvodnjo tiazofurina in se jih zlahka posploši, vključno še zlasti s posplošitvijo drugega in tretjega razreda postopkov za v bistvu vse C-nukleozide. Splošno spada C-nukleozid v smislu predloženega izuma v splošno strukturo A, kjer je A O, S, CH<sub>2</sub> ali NR, kjer je R H ali blokirna skupina; je X O, S, Se ali NH; so R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> in R<sub>4</sub> neodvisno H ali nižji alkil; in so Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> in Z<sub>3</sub> neodvisno H ali ne-H,



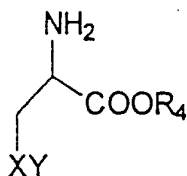
Struktura A

Za doseganje različnih spojin, zaobseženih s strukturo A, je lahko v sladkornem delu molekule znatna variabilnost. Med ostalim ni potrebno, da je sam sladkor enostaven furan. Kisik je lahko nadomeščen npr. z žveplom, tako da se tvori tio sladkor, ali z dušikom, da se tvori amino sladkor. Poleg tega je sladkor lahko substituiran na C2', C3' in C4' položajih s skupino, ki je drugačna od vodika. Še nadalje ima sladkor lahko D- ali L-konfiguracijo in je lahko  $\alpha$ - ali  $\beta$ -anomer. Še nadalje ima sladkor lahko blokirne skupine v različnih stopnjah sinteze. Vse te permutacije so zaobsežene s strukturo B, kjer je A O, S, CH<sub>2</sub> ali NR, kjer je R H ali blokirna skupina; so B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> in B<sub>3</sub> neodvisno blokirne skupine ali nižji alkil in so Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> in Z<sub>3</sub> neodvisno H ali ne-H. Skupina L je reaktivna funkcionalnost kot je CN, halogen ali CHO.



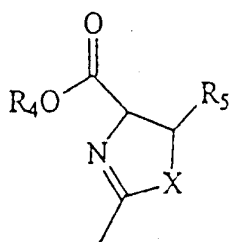
Struktura B

Če se ponovno osredotočimo na drugi razred prednostnih izvedb, lahko uporabo cistein etilester hidroklorida posplošimo na uporabo spojine s strukturo C, kjer je X O, S, Se ali NH; Y je H ali nižji alkil; in R<sub>4</sub> je H ali nižji alkil.



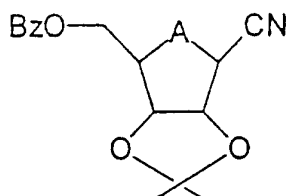
Struktura C

Podobno lahko v tretjem razredu prednostnih izvedb uporabo predpripravljenega heterocikla posplošimo na uporabo spojine s strukturo D, kjer je R<sub>4</sub> H ali nižji alkil.



Struktura D

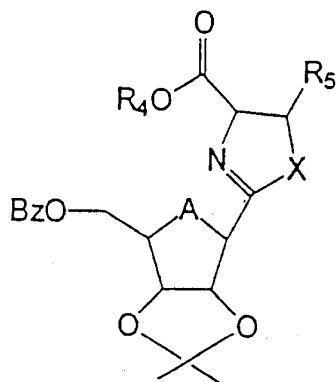
Seveda obstajajo številne blokirne skupine, ki bi bile lahko ustrezne. Med ostalimi lahko uporabimo benzoil, benzil, silil ali izopropiliden. Poleg tega smo specifično opazili, da se lahko blokirne skupine na C2' in C3' položajih na sladkorju oblikujejo v izopropilidensko skupino, kot je prikazana v strukturi E.



Struktura E

To izopropilidensko skupino lahko odstranimo s številnimi postopki, vključno z obdelavo z reagentom, izbranim iz skupine, katero sestavljajo trifluoroocetna kislina,

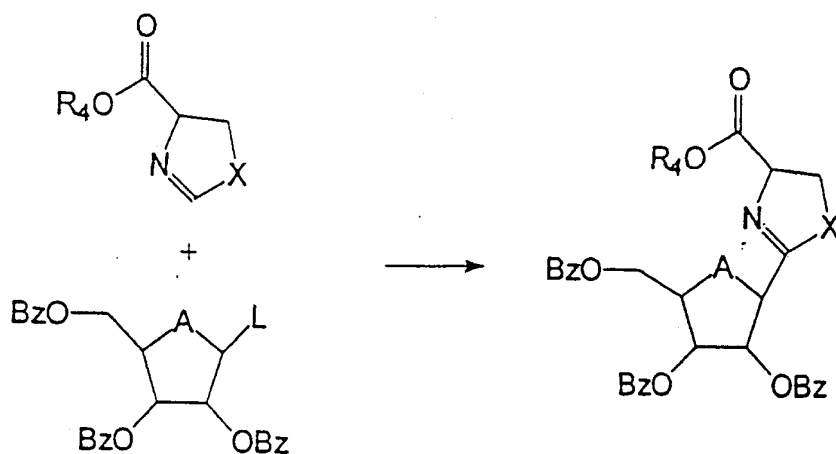
mravljinčna kislina, očetna kislina,  $H^+$  smola v organskem topilu ali jod v metanolu. Aplikacija predložene metode na strukturi E da lahko nato spojino s strukturo F, kjer je  $R_5$  H, nižji alkil, amin ali aril.



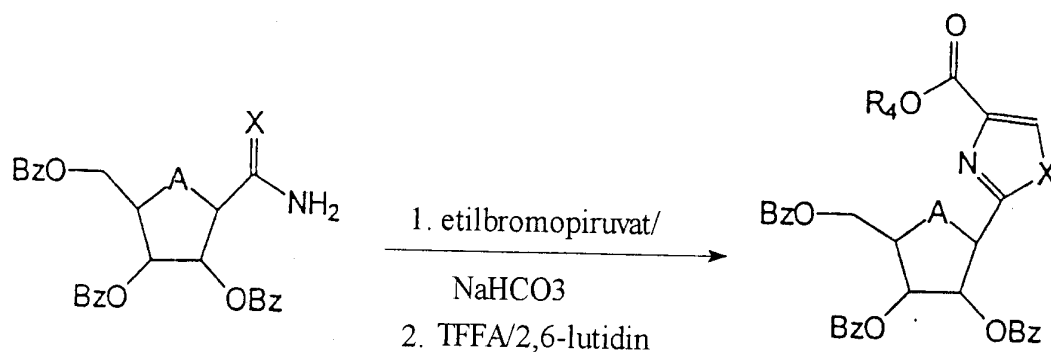
Struktura F

Izvedba vključuje tudi aromatizacijo strukture F z aktiviranim manganovim dioksidom ali drugimi reagenti, čemur sledi deblokiranje zaščitnih skupin, da zagotovimo tiazofurin ali sorodne C-nukleozide.

Posebno prednostne izvedbe v smislu predmeta izuma vključujejo reakcijo A ali reakcijo B, ki sta prikazani spodaj.



Reakcija A



Reakcija B

Te in ostale značilnosti lahko upoštevamo pri naslednjih delovnih primerih, katere gre interpretirati kot ponazoritev različnih vidikov predmeta izuma, ki je predmet zaščite, toda ki ne omejujejo obsega zahtevane zaščite.

## POIZKUSI

### Primer 1

2,3,5-Tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranozil-1-karbonitril (2):

Zmešamo zmes 1-O-acetil-2,3,5-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranoze (sušena pri 60 °C, 133,32 Pa (1 mm Hg), 12 h) (630 g, 1,249 mol), trimetilsilil cianida (sušen nad molekularnimi siti, 24 h) (250 ml, 1,875 mol) in diklorometana (sušen nad magnezijevim sulfatom in shranjen nad molekularnimi siti) (1,25 l) in jo ohladimo na 0-2 °C. Medtem ko vzdržujemo reakcijsko temperaturo pri 0-2 °C, počasi (1,5 h) dodamo kositrov klorid (50 ml, 0,425 mol) in nastalo zmes mešamo ter vzdržujemo pri -5 do 0 °C dodatne 1,5 ure. Reakcijsko zmes počasi (30 min) in ob močnem mešanju dodamo k hladni (5 °C) 10 % raztopini natrijevega hidroksida (1,5 l), katero med celotnim dodajanjem vzdržujemo pri 5-8 °C. Plasti se ločijo in organsko plast spiramo z vodo (3x500 ml) do nevtralnega in nato posušimo nad brezvodnim magnezijevim sulfatom (približno 150 g). Zmes filtriramo in sušilno sredstvo speremo z

diklorometanom (3x500 ml). Filtrat in spiralne tekočine združimo in raztopino koncentriramo (<30 °C, 2,67 kPa (20 mmHg) do volumna 2-2,5 l. Preostalo raztopino filtriramo skozi plast (13,5 cm id x 6,5 cm) silikagela in plast nadalje eluiramo z diklorometanom (2,5 l). Diklorometanske raztopine združimo in uparimo (<30 °C, 2,67 kPa (20 mmHg) do sirupa (približno 750 ml). Sirup zmešamo z etanolom (1, 5 l) in zmes segrevamo (približno 60 °C), da dobimo homogeno raztopino. Dodamo kalitvene kristale 2,3-anhidro-3,4,6-tri-O-benzoil-b-D-alononitrila in raztopino mešamo pri sobni temperaturi 2 uri ter jo nato počasi v obdobju 2 ur ohladimo do 0 °C. Kristalinično trdno snov zberemo, speremo s hladnim (-5 °C) etanolom (3x600 ml), speremo s heksani (600 ml) in sušimo pri 45 °C ter 133.32 Pa 12 ur; 452 g (0,959 mol, 76 %), tal. 73-75 °C (lit tal. 78-80 °C).

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): d 4,61 (m, 2), 4,80 (q, 1), 5,88 (t, 1), 6,05 (t, 1), 7,45-7,57 (m, 6), 7,64-7,71 (m, 4), 7,88-7,94 (m, 4), in 8,07 (d, 2).

## Primer 2

2,5-Anhidro-3,4,6-tri-O-benzoil-D-alontioamid (3):

Postopek A: vodikov sulfid vodimo skozi hladno (5 °C) mešano suspenzijo 2',3',5'-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranozil cianida (2, 50 g, 106,16 mmol) v suhem EtOH (900 ml) 5 minut, nato nanekrat dodamo N,N-dimetilaminopiridina (1,2 g, 10 mmol). Vodikov sulfid počasi vodimo skozi mešano reakcijsko zmes 5 ur (izpustna cev iz reakcijske bučke se preprihava skozi belilno raztopino pripravljeno v 5 % NaOH). Po 5 urah bučko zatesnimo in mešanje nadaljujemo pod 25 °C še 16 ur. Skozi reakcijsko zmes vodimo 1 uro argon, da odstranimo še zadnje sledi H<sub>2</sub>S. Suspenzijo mešamo pri 0 °C 2 uri in izločeno trdno snov odfiltriramo, speremo s hladnim suhim EtOH ter posušimo nad P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> v vakuumu. Dobitek 52 g (97 %); tal. 133-135°C.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 4,72 (m, 2H), 4,74 (m, 1H), 5,12 (d, 1H), 5,71 (t, 1H), 5,98 (t, 1H), 7,30-7,60 (m, 10H), 7,86 (d, 2H), 8,14 (m, 4H) in 8,46 (širok s, 1H).

Postopek B: raztopino 2',3',5'-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranozil cianida (2, 4,71 g, 10,00 mmol) in tioacetamida (1,50 g, 20,00 mmol) v suhem DMF (50 ml) nasitimo z

brezvodnim vodikovim kloridom in segrevamo pri 70-60 °C 2 uri. Reakcijo ohladimo in uparimo do suhega, ostanek raztopimo v metilenkloridu (150 ml), speremo z nasičeno raztopino NaHCO<sub>3</sub> (100 ml), vodo (100 ml) in slanico (70 ml). Organski ekstrakt posušimo nad brezvodnim MgSO<sub>4</sub>, filtriramo in speremo s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml). Združen filtrat uparimo do suhega. Ostanek raztopimo v minimalni količini suhega etanola, ki da po ohladitvi čist produkt. Dobitek 4,20 g (83 %). Tališče in spektralne karakteristike tega produkta se ujemajo s produktom, pripravljenim v predhodnem postopku A.

### Primer 3

Etil-2-(2',3',5'-tri-O-benzoil-β-D-ribofuranozil)thiazol-4-karboksilat (4):

K mešani zmesi 2,5-anhidro-3',4',6'-tri-O-benzoil-D-alontioamida (3, 10,12 g, 20,00 mmol) in trdnega NaHCO<sub>3</sub>, (16,8 g, 200 mmol) v suhem 1,2-dimetoksietanu (60 ml) dodamo v obdobju 10 minut pri 0 °C pod atmosfero argona etil bromopiruvat (7,8 g, 40,00 mmol). Po dodajanju reakcijsko zmes mešamo pri 0 °C pod argonom 6 ur. TLC pokaže popolno konverzijo izhodnega materiala v en produkt (heks:EtOAc, 7:3). Reakcijo ohladimo do -15 °C v suhem ledu/CCl<sub>4</sub> pod argonom. V obdobju 15 minut počasi dodamo raztopino trifluoroocetnega anhidrida (12,6 g, 60,00 mmol) in 2,6-lutidina (12,84 g, 120 mmol), raztopljenega v suhem 1,2-dimetoksietanu (20 ml). Po dodatku reakcijo mešamo pod atmosfero argona pri -15 °C 2 uri. Reakcijsko zmes filtriramo, speremo s suhim metilenkloridom (100 ml). Združen filtrat uparimo do suhega pod znižanim tlakom. Ostanek raztopimo v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml) in z nasičeno raztopino NaHCO<sub>3</sub> naravnamo pH na 7. Organski ekstrakt speremo z 1N HCl (100 ml), nas. NaHCO<sub>3</sub> (200 ml) in slanico (100 ml). Organsko plast posušimo nad brezvodnim Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, jo filtriramo, speremo s CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 ml) in uparimo do suhega. Surov material uporabimo kot tak za nadaljnjo reakcijo. Majhno količino očistimo z bliskovno kromatografijo nad silikagelom ob uporabi heksana-etilacetata kot eluenta. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,36 (t, 3H), 4,40 (m, 2H), 4,62 (dd, 1H), 4,74 (m, 1H), 4,86 (dd, 1H), 5,74 (d, 1H), 5,84 (m, 2H), 7,30 - 7,60 (m, 9H), 7,91 (d, 2H), 7,98 (d, 2H), 8,08 (m, 2H) in 8,12 (s, 1H).

**Primer 4**

Etil 2-( $\beta$ -D-ribofuranozil) tiazol-4-karboksilat (5):

Surov etil-(2',3',5'-tri-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranozil) tiazol-4-karboksilat (4, 15,00 g) raztopimo v suhem etanolu (100 ml) in pod atmosfero argona obdelamo z natrijevim etoksidom v prahu (1,36 g, 20 mmol). Reakcijsko zmes mešamo pod argonom pri sobni temperaturi 12 ur. Raztopino nevtraliziramo z Dowex 5OW-X8 H<sup>+</sup> smolo, jo filtriramo in speremo z metanolom (100 ml). Filtrat uparimo do suhega. Ostanek porazdelimo med vodo (100 ml) in kloroform (150 ml). Vodno plast speremo s kloroformom (100 ml) in uparimo do suhega. Ostanek raztopimo v metanolu (100 ml), dodamo silikagel (15 g) in uparimo do suhega. Posušeno spojino, adsorbirano na silikagelu, damo na vrh kolone silicijevega dioksida (5x20 cm) pakiranega v CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Kolono eluiramo z CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/acetonom (7:3; 500 ml), čemur sledi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanol (95:5; 1000 ml). CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/metanolne frakcije zberemo skupaj in jih uparimo, da dobimo čist 5. Majhno količino kristaliziramo iz 2-propanola/etra kot brezbarven produkt. Dobitek 4,8 g (83 %); tal. 62-64 °C.

<sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>);  $\delta$  1,36 (t, 3H), 3,52 (m, 2H), 3,84 (m, 2H), 4,06 (m, 1H), 4,28 (m, 2H), 4,94 (t, 1H), 4,98 (d, 1H), 5,08 (d, 1H), 5,46 (d, 1H) in 8,52 (s, 1H).

**Primer 5**

2- $\beta$ -D-ribofuranozil tiazol-4-karboksamid (Tiazofurin) (6):

Surov etil 2-( $\beta$ -ribofuranozil) tiazol-4-karboksilat (5, 4,6 g, 15,92 mmol) damo v jekleno bombo in zmešamo s sveže pripravljenim metanolnim amoniakom (nasičen pri 0 °C, 70 ml). Reakcijsko zmes mešamo pri sobni temperaturi 12 ur. Jekleno bombo ohladimo, previdno odpremo in vsebino uparimo do suhega. Ostanek trituriramo s suhim etanolom (60 ml) in uparimo do suhega. Ostanek obdelamo s suhim etanolom (60 ml), ki da po tritraciji svetlo rumeno trdno snov. Trdno snov odfiltriramo, speremo z etil acetatom in posušimo. Trdno snov kristaliziramo iz etanola/etil acetata, da dobimo čist produkt. Dobitek 3,6 g (87 %); tal. 142-144 °C,

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  3,57 (m, 2H), 3,89 (širok s, 2H), 4,06 (m, 1H), 4,84 (t, 1H), 4,93 (d, 1H), 5,06 (m, 1H), 5,37 (d, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,69 (s, 1H) in 8,21 (s, 1H).

### Primer 6

5-Q-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranozil-1-karbonitril (7):

Raztopino 2',3',5'-tri-Q-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranozil-1-karbonitrila (2, 61 g, 129,40 mmol) v kloroformu (200 ml) dodamo pod atmosfero argona ob mešanju v ledeno hladen nasičen suh metanolni amoniak (500 ml). Reakcijsko zmes mešamo pri 0 °C 4,5 ure. TLC pokaže popolno konverzijo izhodnega materiala. Reakcijsko zmes uparimo do suhega. Ostanek raztopimo v etil acetatu (500 ml), speremo z nasičeno raztopino  $\text{NaHCO}_3$  (100 ml), vodo (300 ml) in slanico (150 ml). Organski ekstrakt posušimo nad brezvodnim  $\text{MgSO}_4$ , filtriramo, speremo z etil acetatom (100 ml) in filtrate združimo ter uparimo do suhega, da dobimo temno rjavo tekočino. Tekočino raztopimo v benzenu (100 ml), razredčimo s heksanom (50 ml) in acetonom (15 ml). Po stanju pri sobni temperaturi preko noči da raztopina kristale. Trdno snov odfiltriramo, jo speremo s heksanom in posušimo. Dobitek 29 g (85 %); tal. 116-117 °C.

### Primer 7

5-Q-benzoil-2,3-Q-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil-1-karbonitril (8):

Trden 5'-Q-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranozil-1-karbonitril (7, 26,3 g, 100 mmol) naenkrat dodamo k mešani raztopini 72 % perklorne kisline (4 ml) v 2,2-dimetoksiopropanu (30 ml) in suhem acetonu (150 ml) pod atmosfero argona. Reakcijsko zmes mešamo pri sobni temperaturi 3 ure. Raztopino nevtraliziramo z amonijevim hidroksidom in uparimo do suhega. Ostanek raztopimo v kloroformu (250 ml) in speremo z vodo (2x200 ml) in slanico (100 ml). Organsko fazo posušimo nad brezvodnim  $\text{MgSO}_4$ , filtriramo, speremo s kloroformom (50 ml) in filtrat uparimo do suhega. Ostanek da po kristalizaciji iz etra-heksana brezbarvne kristale. Dobitek 28,5 g (95 %); tal. 62-63 °C.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1,35 (s, 3H), 1,52 (s, 3H), 4,51 (m, 2H), 4,59 (m, 2H), 4,77 (d, 1H), 4,87 (d, 1H), 5,10 (m, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,57 (m, 1H) in 8,07 (m, 2H).

### Primer 8

Etil 2-(5'-O-benzoil-2',3'-O-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil)thiazolin-4-karboksilat (9): K mešani raztopini 5'-O-benzoil-2',3'-O-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil-1-karbonitrila (8, 4,71 g, 15,55 mmol) v suhem metilen kloridu (150 ml) dodamo pri sobni temperaturi pod atmosfero argona pri 0 urah, v 2. uri, 4. uri in v 6. uri cistein etilester hidroklorid (1,49 g, 8 mmol) in (0,81 g, 8 mmol). Reakcijsko zmes mešamo pri sobni temperaturi pod atmosfero argona 24 ur. Reakcijo razredčimo z metilenkloridom (100 ml), speremo z vodo (200 ml) in slanico (150 ml).  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ekstrakt posušimo nad brezvodnim  $\text{MgSO}_4$ , filtriramo, speremo s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (50 ml) in filtrat uparimo do suhega. Ostanek uporabimo kot takšen za naslednjo reakcijo. Majhno količino surovega produkta očistimo z bliskovno kromatografijo nad silikagelom ob uporabi heksana/etil acetata kot eluenta in okarakteriziramo s protonsko spektroskopijo.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,24 (t, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,52 (s, 3H), 3,40 (m, 2H), 4,20 (m, 2H), 4,42 (m, 3H), 4,80 (m, 2H), 5,12 (m, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,58 (m, 1H) in 8,08 (m, 2H).

### Primer 9

Etil 2-(5'-O-benzoil-2',3'-O-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil)thiazol-4-karboksilat (10): Postopek A: k močno mešani raztopini surovega etil 2-(5'-O-benzoil-2'-3'-O-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil)thiazolin-4-karboksilata (9, 7,0 g) v metilen kloridu (300 ml) dodamo pri sobni temperaturi aktiviran manganov dioksid (27,8 g). Reakcijsko zmes mešamo pri sobni temperaturi 24 ur, jo filtriramo preko Celite-a in speremo z acetonom (200 ml). Filtrate združimo in uparimo do suhega, da dobimo oljnat ostanek. Dobitek 5,9 g (88 % iz ciano sladkorja 8). Majhno količino surovega produkta očistimo s bliskovno kromatografijo nad silikagelom z uporabo  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -etil acetata kot eluenta in okarakteriziramo s protonsko spektroskopijo.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,39 (t, 6 H), 1,63 (s, 3H), 4,39 (m, 3H), 4,60 (m, 2H), 4,84 (m, 1H), 5,26 (m, 1H), 5,40 (d, 1H), 7,40 (m, 2H), 7,52 (m, 1H), 7,89 (m, 2H) in 8,02 (s, 1H).

Postopek B: zmes surovega etil 2-(5'-O-benzoil-2',3'-O-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil)tiiazolin-4-karboksilata (9, 7,0 g) in aktiviranega manganovega dioksida (27,8 g) v suhem benzenu (150 ml) segrevamo pri 80 °C 2 uri. Reakcijsko zmes filtriramo preko Celite-a in speremo z acetonom (200 ml). Filtrate združimo in uparimo do suhega, da dobimo oljnat ostanek. Dobitek 6,0g (89 % iz ciano sladkorja 8). Majhno količino surovega produkta očistimo s bliskovno kromatografijo nad silikagelom ob uporabi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -etil acetata kot eluenta in s protonsko spektroskopijo. Ugotovili smo, da so dobljeni produkti po obeh metodah identični v vseh pogledih.

Postopek C: k močno mešani raztopini surovega etil 2-(5'-O-benzoil-2',3'-O-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil)tiiazolin-4-karboksilata (9, 2,0 g) v metilen kloridu (100 ml) dodamo pri sobni temperaturi nikljev peroksid (10,0 g). Reakcijsko zmes mešamo pri sobni temperaturi 24 ur, jo filtriramo skozi Celite in speremo z acetonom (200 ml). Filtrate združimo in uparimo do suhega, da dobimo oljnat ostanek. Dobitek 5,9 g (88 % iz ciano sladkorja 8). Ugotovili smo, da je produkt, dobljen s tem postopkom, v vseh pogledih identičen produktom, dobljenim s postopkoma A in B.

### Primer 10

Etil 2-(5'-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranozil)tiazol-4-karboksilat (11):

Raztopino etil 2-(5'-O-benzoil-2',3'-O-izopropiliden- $\beta$ -D-ribofuranozil)tiazol-4-karboksilata (10, 4,5 g, 10,39 mmol) v zmesi trifluoroacetne kisline: tetrahidrofurana:vode (30:20:6 ml) pustimo mešati pri sobni temperaturi 1 uro. Reakcijsko zmes uparimo do suhega. Ostanek suspendiramo v metilen kloridu (100 ml), ohladimo in nevtraliziramo z nasičeno raztopino  $\text{NaHCO}_2$ . Vodno raztopino ekstrahiramo s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2x100 ml), speremo z nasičeno raztopino  $\text{NaHCO}_3$  (100 ml), vodo (100 ml) in slanico (100 ml). Organski ekstrakt posušimo nad  $\text{MgSO}_4$ , filtriramo,

speremo s  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 ml) in filtrat uparimo do suhega. Ostanek kristaliziramo iz etanola/vode (1:1), da dobimo brezbarvne kristale. Trdno snov odfiltriramo in posušimo nad  $\text{P}_2\text{O}_5$  pod vakuumom. Dobitek 4,0 g (98 %); tal. 82-85 °C.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,33 (t, 3H), 4,31 (m, 4H), 4,45 (m, 3H), 4,55 (m, 1H), 4,74 (m, 1H), 5,32 (d, 1H), 7,37 (m, 2H), 7,51 (m, 1H) in 7,99 (m, 3H).

### Primer 11

2- $\beta$ -D-ribofuranoziltiazol-4-karboksamid (tiazofurin) (6): Etil 2-(5'-O-benzoil- $\beta$ -D-ribofuranozil)tiazol-4-karboksilat (11, 3,7 g, 942 mmol) damo v bombo in zmešamo s sveže pripravljenim hladnim metanolnim amoniakom (70 ml, nasičen pri 0 °C). Zmes zaščitimo pred vlago in jo mešamo pri sobni temperaturi 12 ur. Jekleno bombo ohladimo do 0 °C, previdno odpremo in uparimo do lepljive pene. Ostanek trituriramo s suhim toluenom (3x50 ml) in toluensko plast zavržemo. Ostanek, ki ga dobimo, obdelamo z brezvodnim etanolom (60 ml) in trituriramo, da dobimo svetlo rumeno trdno snov. Trdno snov filtriramo, jo speremo z etil acetatom in posušimo. Trdno snov kristaliziramo iz etanola-etil acetata, da dobimo 2,25 g (90 %) čistega produkta: tal. 145-147 °C.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  3,57 (m, 2H), 3,89 (s, 2H), 4,07 (m, 1H), 4,83 (t, 1H), 4,92 (d, 1H), 5,05 (d, 1H), 5,36 (d, 1H), 7,56 (s, 1), 7,69 (s, 1) in 8,20 (s, 1).

Opisali smo specifične izvedbe in uporabe postopka za proizvodnjo tiazofurina in drugih C-nukleozidov. Strokovnjakom pa mora biti jasno, da so poleg teh, že opisanih, možne še številne modifikacije, ne da bi zapustili tukajšnje izumiteljske koncepte. Invetivnega predmeta izuma zatorej ne gre omejevati, razen v duhu priloženih zahtevkov.

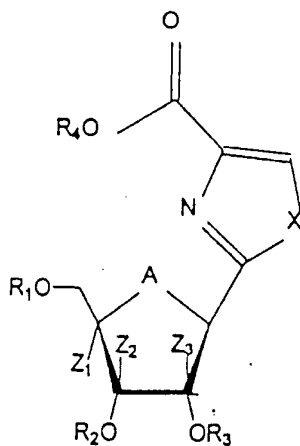
Za

ICN PHARMACEUTICALS, INC.:

PATENTNA PISARNA, d.o.o.  
LJUBLJANA, ŠKOFČEVA 14

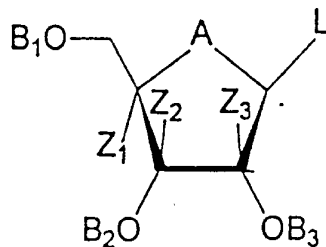
## PATENTNI ZAHTEVKI

1. Postopek za sintetiziranje nukleozida s strukturo A, ki obsega:



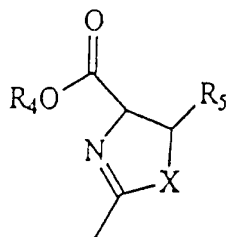
Struktura A

označen s tem, da zagotovimo spojino s strukturo B, kjer je L reaktivna skupina;



Struktura B

v posamičnem koraku, pri čemer presnovimo L strukture B da tvorimo strukturo D, ki ima heterociklični obroč; in

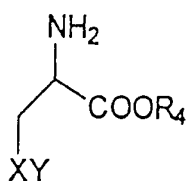


Struktura D

v posamičnem koraku aromatiziramo heterociklični obroč;

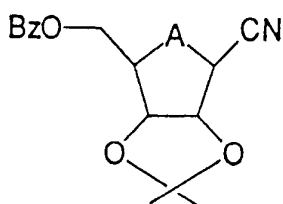
kjer je A O, S, CH<sub>2</sub> ali NR, kjer je R H ali blokirna skupina; je X O, S, Se ali NH; so R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> in R<sub>4</sub> neodvisno H ali nižji alkil; je R<sub>5</sub> H, nižji alkil, amin ali aril; so B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> in B<sub>3</sub> neodvisno blokirne skupine ali nižji alkil, in so Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> in Z<sub>3</sub> neodvisno H ali ne-H.

2. Postopek po zahtevku 1, označen s tem, da je L -CN ali -CHO.
3. Postopek po zahtevku 2, označen s tem, da korak presnove L strukture B za tvorbo strukture D obsega presnovo strukture B s strukturo C, kjer je Y H ali nižji alkil.



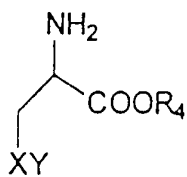
Struktura C

4. Postopek po zahtevku 1, označen s tem, da je spojina s strukturo B struktura E.



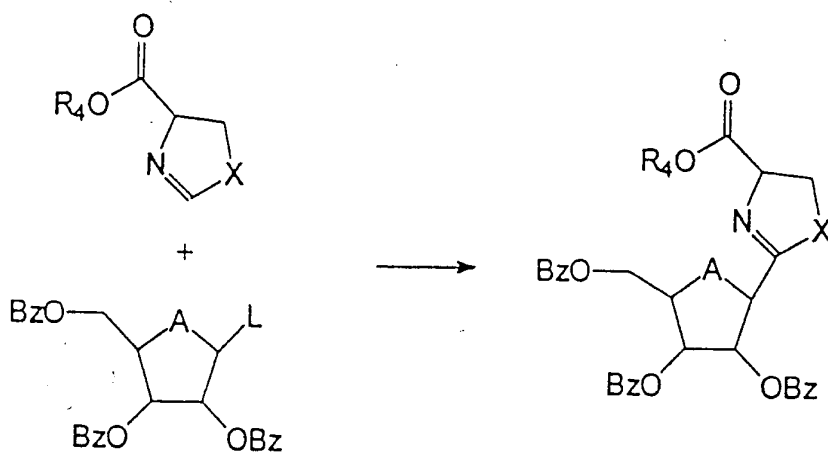
Struktura E

5. Postopek po zahtevku 4, označen s tem, da korak presnove L za tvorbo strukture D obsega presnovo strukture E s strukturo C, kjer je Y H ali nižji alkil.



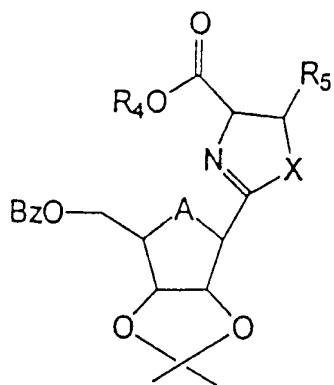
Struktura C

6. Postopek po zahtevku 1, označen s tem, da korak nadomestitve L obsega reakcijo A.



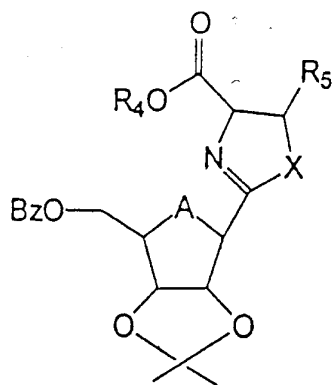
Reakcija A

7. Postopek po zahtevku 2, označen s tem, da je L nadomeščena s strukturo D.
8. Postopek po zahtevku 7, označen s tem, da nadalje obsega presnovo spojine z reagentom, izbranim iz skupine, katero sestavljajo amino kislina in substituirana amino kislina, da proizvedemo intermediat s strukturo F, kjer je R<sub>5</sub> H, nižji alkil, amin ali aril.
9. Postopek po zahtevku 8, označen s tem, da je amino kislina cistein alkilester hidroklorid.
10. Postopek po zahtevku 8, označen s tem, da nadalje obsega aromatiziranje spojine s strukturo F.



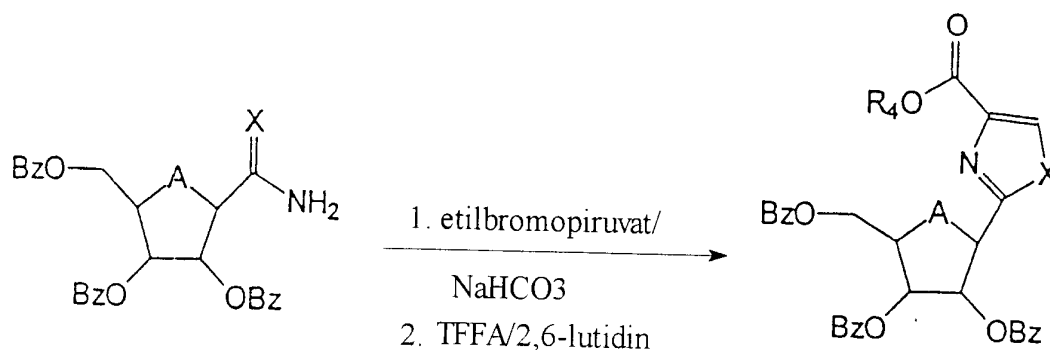
Struktura F

11. Postopek po zahtevku 8, označen s tem, da korak aromatizacije obsega obdelavo spojine s strukturo F z aktiviranim manganovim dioksidom.



Struktura F

12. Postopek po zahtevku 1, označen s tem, da korak presnove L obsega reakcijo B.



Reakcija B

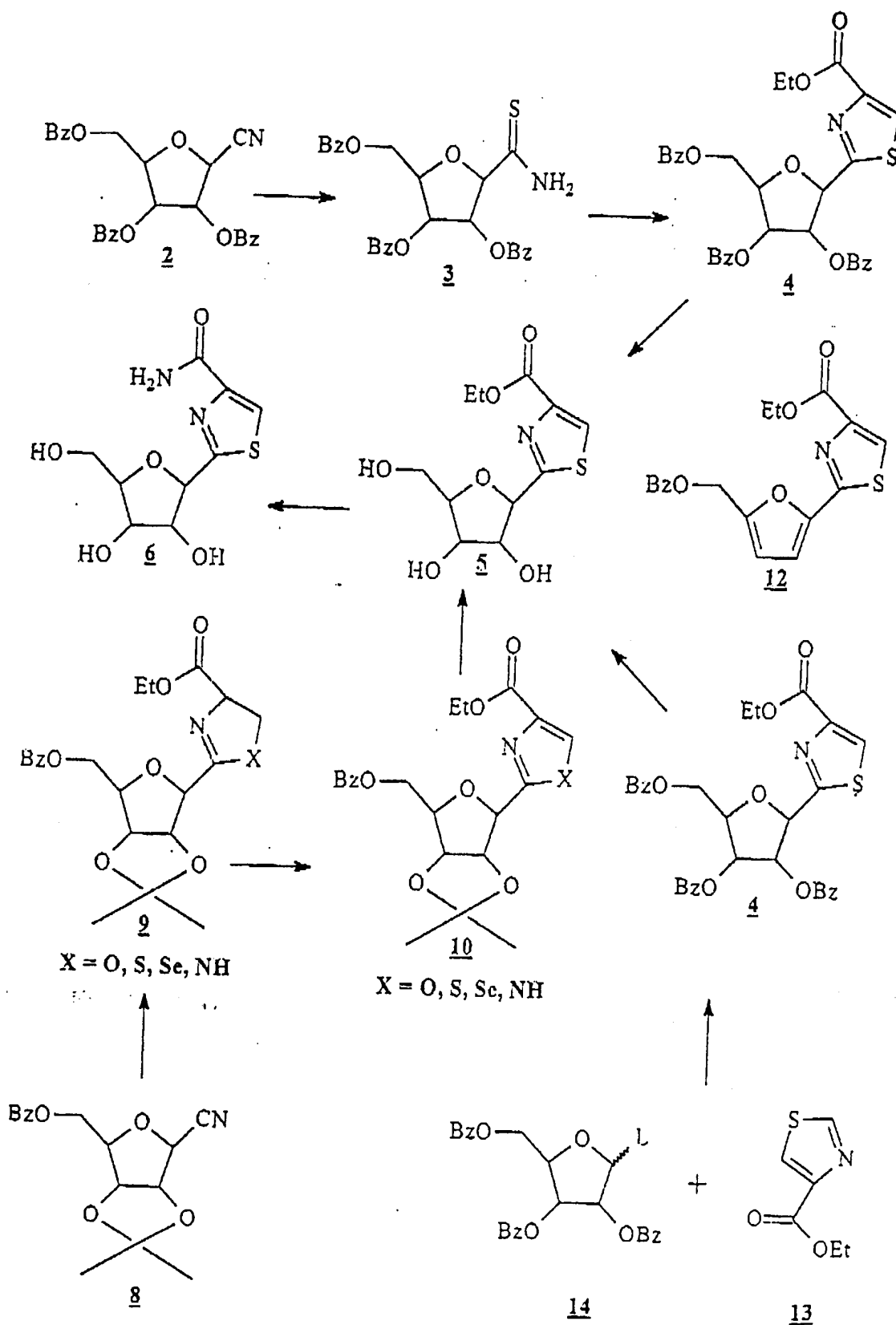
13. Postopek po zahtevku 11, označen s tem, da spojina vsebuje izopropilidensko skupino in da izopropilidensko skupino odstranimo z obdelavo z reagentom, izbranim iz skupine, katero sestavljajo trifluoroocetna kislina, mravljinčna kislina, očetna kislina, H<sup>+</sup> smola v organskem topilu in jod v metanolu.
14. Postopek po kateremkoli od zahtevkov 1-13, označen s tem, da je nukleozid tiazofurin.
15. Postopek po kateremkoli od zahtevkov 1-13, označen s tem, da spojina s strukturo B obsega L-ribozo.
16. Postopek po zahtevku 15, označen s tem, da vsaj eden izmed Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> in Z<sub>3</sub> ni H.
17. Postopek po kateremkoli od zahtevkov 1-13, označen s tem, da je spojina s strukturo B alfa izomer.
18. Postopek po kateremkoli od zahtevkov 1-13, označen s tem, da je spojina s strukturo B beta izomer.

19. Postopek po kateremkoli od zahtevkov 1-13, označen s tem, da je A NR, je R COCH<sub>3</sub> in X ni S.
20. Spojina, označena s tem, da je proizvedena po postopkih po kateremkoli od zahtevkov 1-13 in da ima strukturo po strukturi A.
21. Spojina, označena s tem, da je proizvedena po postopkih po kateremkoli od zahtevkov 1-13 in da ima strukturo po strukturi A, pri čemer je sladkorni del alfa izomer.
22. Spojina, označena s tem, da je proizvedena po postopkih po kateremkoli od zahtevkov 1-13 in da ima strukturo po strukturi A, pri čemer ima sladkorni del L konfiguracijo.
23. Spojina, označena s tem, da je proizvedena po postopkih po kateremkoli od zahtevkov 1-13 in da ima strukturo po strukturi A, pri čemer vsaj eden od Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub> in Z<sub>3</sub> ni H.

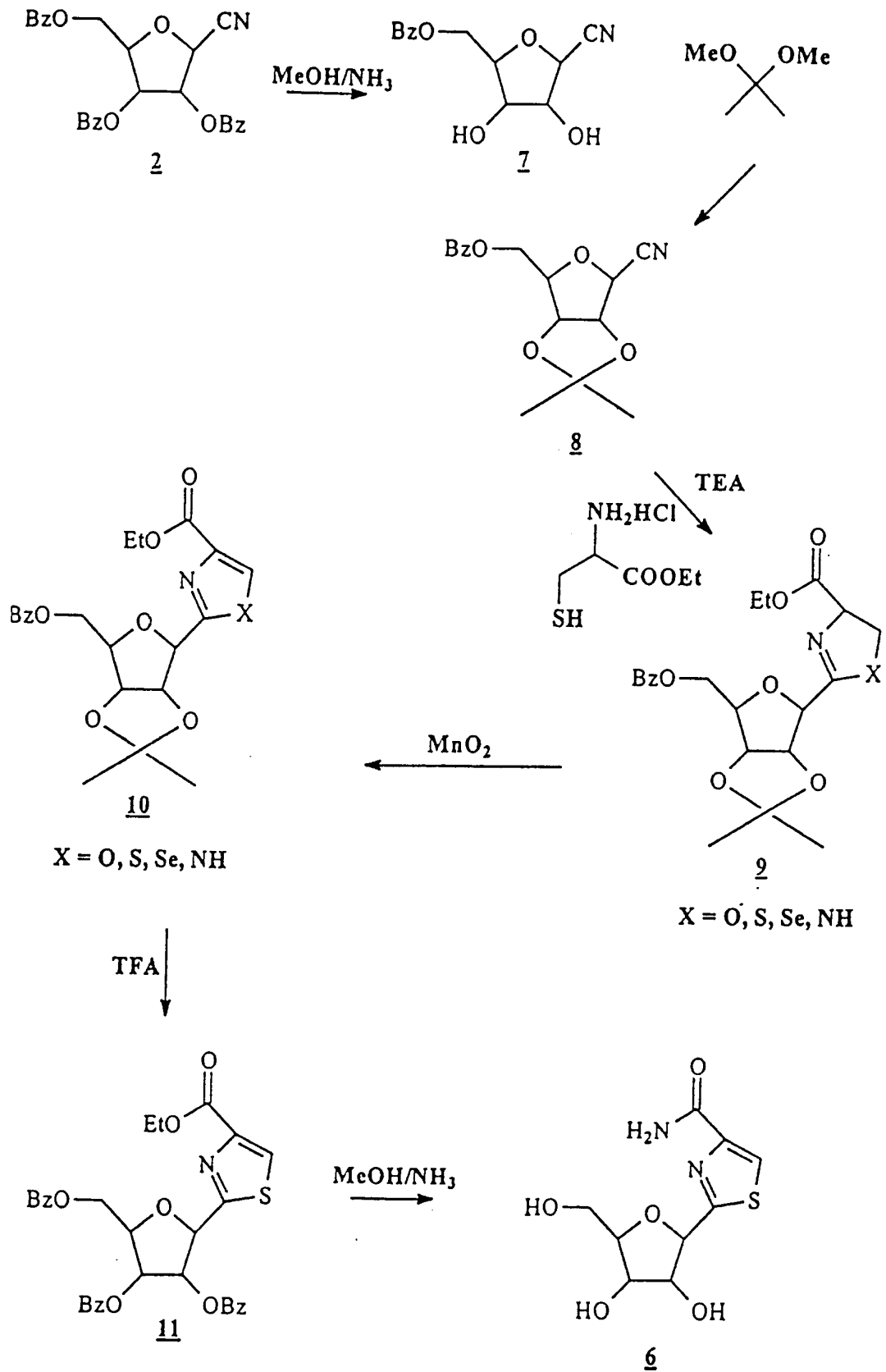
Za

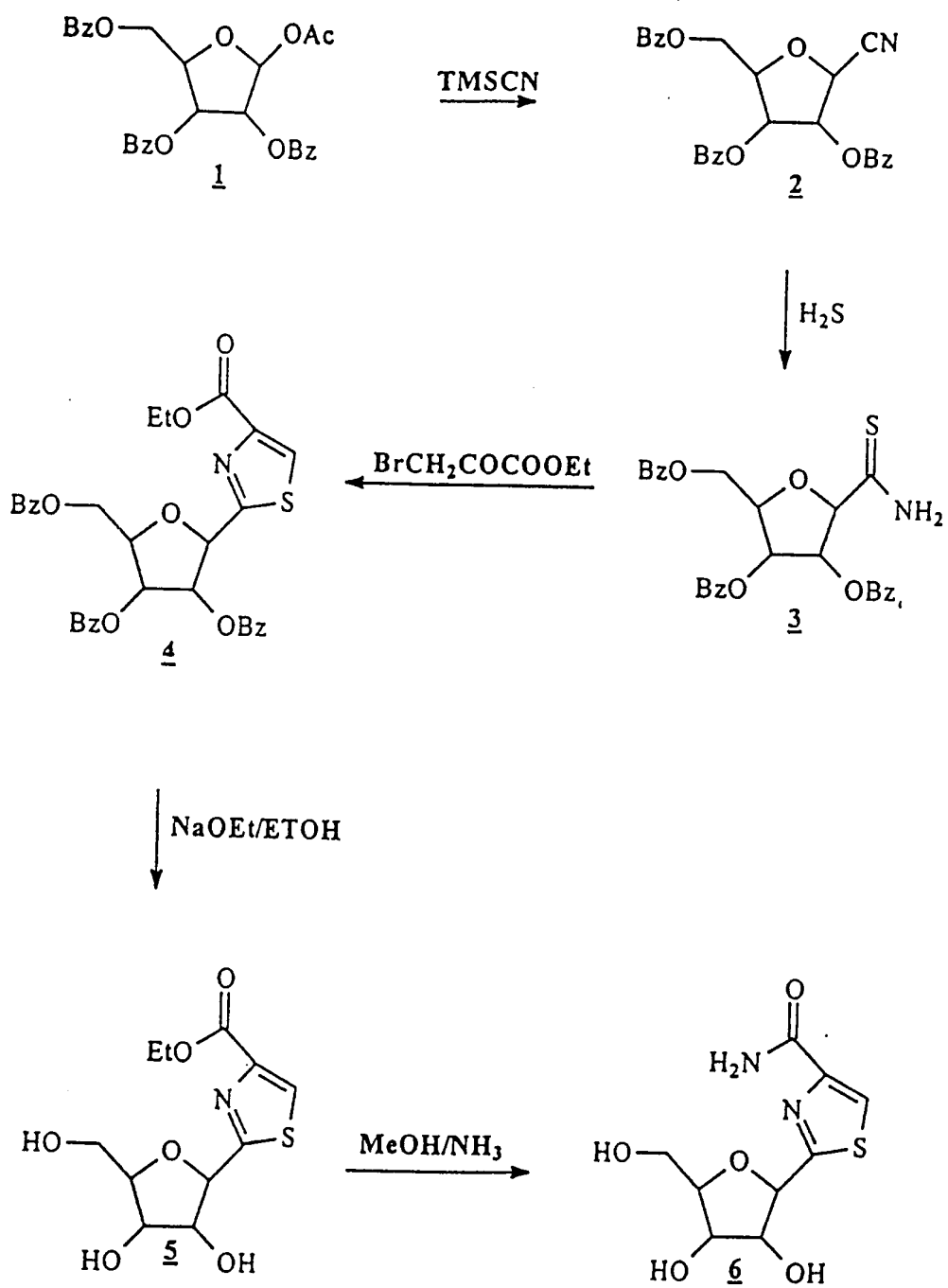
ICN PHARMACEUTICALS, INC.:

PATENTNA PISARNA, d.o.o.  
LJUBLJANA, ŽUPNIŠKA 14



Sl. 1





Sl. 3