



(12)

Patentschrift

- (21) Anmeldenummer: A 2018/2007 (51) Int. Cl.⁸: **F24J 2/04** (2006.01)
(22) Anmeldetag: 2007-12-12
(43) Veröffentlicht am: 2009-02-15

(56) Entgegenhaltungen:
CALLEY N. EATON AND GEORGE H.
DENNY, J. ORG. CHEM.;
1969; 34(3) PP 747 - 748
WO 2003/084958A1 US 2003144508A1

(73) Patentinhaber:
EUTICALS S.P.A.
I-26900 LODI (IT)
(72) Erfinder:
SAISCHEK GERALD DIPL.ING.
GRAZ (AT)

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON 2-FLUORADENIN

- (57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 2-Fluoradenin mit einer Reinheit von mindestens 98 % (HPLC, Area) ausgezeichnet dadurch, dass der sehr hohe Reinheitsgrad von mindestens 98 % (HPLC, Area) direkt im Rohprodukt nach Wäsche und Abfiltration, ohne Umkristallisation und/oder jeglichen weiteren Reinigungsschritt, erzielt wird.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 2-Fluoradenin mit einer Reinheit von mindestens 98 % (HPLC, Area), ausgezeichnet dadurch, dass der sehr hohe Reinheitsgrad von mindestens 98 % (HPLC, Area) direkt im Rohprodukt nach Wäsche und Abfiltration, ohne Umkristallisation und/oder jeglichen weiteren Reinigungsschritt, erzielt wird.

2-Fluoradenin ist ein Zwischenprodukt zur Herstellung von 2-Fluoradenosin, einem wichtigen Anti-Krebsmittel.

Es ist seit langem bekannt, dass durch Austausch der Aminogruppe in aromatischen oder heterocyclischen Verbindungen über Diazoniumverbindungen Fluor eingeführt werden kann. (Methoden der Organischen Chemie; Houben-Weyl; Band V/3 (1962); Seite 213ff).

Zur Diazotierung wird ein geeignetes Nitrit, wie organische Alkylnitrite, insbesondere tertiär Alkylnitrit wie tert. Butylnitrit, oder Alkalimetallnitrite, wie Lithium-, Natrium- oder Kaliumnitrit verwendet. Als Fluorierungsreagens werden Fluorwasserstoffsäure, Fluorwasserstoff-Amin-Komplexe, wie Pyridin-HF (Georges A. Olah; J. Org. Chemie (1979); 44; 3872ff) und in der Schiemann-Reaktion Tetrafluorborwasserstoffsäure verwendet.

Die Reaktion - Diazotierung mit gleichzeitiger Fluorierung - wird meist unter möglichst wasserfreien Bedingungen durchgeführt (Morris J. Robins, Bogdan Uznanski; Can. J. Chem (1981); 59; 2608).

Bevorzugte Methoden sind üblicherweise Natriumnitrit in Pyridin-Fluorwasserstoff-Komplex oder in wasserfreier Fluorwasserstoffsäure.

Die selektive Fluoreinführung über Diazotierung am 2,6-Diaminopurin in Gegenwart eines Fluorierungsreagens mit HBF₄ nach Schiemann zum 2-Fluoradenin ist bereits bei J.A. Montgomery et al. In J. Amer. Chem. Soc. (1960); 82; 463 ff. beschrieben. Die dort beschriebene Reaktionsführung und Aufarbeitung ist für den technischen Gebrauch völlig inakzeptabel. Die Ausbeuten liegen bei 6 % und die Reinheit bei 90 %.

Eine etwas verbesserte Methode, Reaktion in wasserfreiem HF, mit etwas höheren Ausbeuten von 22 % wird von Calley N. Eaton et al. In J. Org. Chem. (1969); 34; 747ff. beschrieben. Die Reaktion - Diazotierung und Fluorierung - wird bei 0 °C durchgeführt. Zur Aufarbeitung wird das noch vorhandene HF abdestilliert und erst daran anschließend der Rückstand mit Wasser ausgerührt. Um die endgültige Reinheit von „analytical pure“ zu erreichen, wird schließlich noch eine Kohlefiltration durchgeführt.

Die Selektivität der Fluoreinführung in Position 2 am 2-Aminoadenosin wird sowohl beim O-geschützten Nucleosid von Morris J. Robins et al. In Can. J. Chem. (1981); 59; 2608ff, als auch von J.A. Montgomery in den Patentschriften US 4188378 und US 4210745, und von H. Verbrüggen et al. in der Offenlegungsschrift DE 4141454A1 bei ungeschützten Nucleosiden beschrieben.

Werden somit selektive Fluoreinführungen entweder beim 2-Aminoadenin oder beim 2-Aminoadenosin, im Zuckerteil geschützt oder ungeschützt, nach einer der bisher beschriebenen veröffentlichten Methoden durchgeführt, so kann das gewünschte 2-Fluoradenin oder das 2-Fluoradenosin (O-geschützt oder ungeschützt) nur nach aufwändiger Isolierung aus der Reaktionslösung in schlechten Ausbeuten gewonnen werden. Solche Arbeitsschritte umfassen meist Neutralisation der Reaktionslösung mit anschließender Extraktion des Rohproduktes aus der Reaktionslösung, oder Abdestillieren des überschüssigen HF und entsprechender Weiteraufreinigung des erhaltenen Rohproduktes.

Die weitere Aufreinigung, um den gewünschten Reinheitsgrad von mindestens 98 % (HPLC, Area) zu erreichen, gelingt bei den bisher bekannten Methoden nur durch weitere zusätzliche

Verfahrensschritte wie Säulenchromatographie, Aktivkohlereinigung oder durch Umkristallisation.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass bei Anwendung geeigneter Reaktions- und Aufarbeitungsbedingungen 2-Fluoradenin mit hoher Ausbeute und einem Reinheitsgrad von mindestens 98 % (HPLC) direkt aus dem Reaktionsgemisch gewonnen werden kann, ohne dass zusätzliche Arbeitsschritte wie Neutralisation, Säulenchromatographie, Aktivkohlereinigung, Umkristallisation oder sonstige Reinigungsmethoden notwendig sind.

Dies ist umso überraschender, da die Ausbeute des gewünschten Reaktionsproduktes nicht bei 100 % liegt, somit vorhandene Nebenprodukte, welcher Art auch immer, während des Aufarbeitungsschrittes auf Grund der gewählten Aufarbeitungsmethoden entfernt werden, und 2-Fluoradenin offenbar nicht gleichzeitig in größeren Mengen mitausgewaschen wird, und somit 2-Fluoradenin direkt durch einfaches Abfiltrieren und ausreichender Wäsche mit demineralisiertem Wasser aus dem wässrigen Reaktionsgemisch in wesentlich höheren Ausbeuten im Bereich von 50 % bis 70 % im Vergleich zu den bisher publizierten Methoden gewonnen werden kann.

In der vorliegenden Erfindung wird die Reaktion ohne zusätzliche Lösungsmittel direkt im Fluorierungsmittel, welches im Überschuss verwendet wird, durchgeführt.

Die Reaktion wird vorteilhaft direkt in HF/Pyridin durchgeführt. Der Überschuss HF/Pyridin zu 2,6-Diaminopurin beträgt das 2,3 bis 6 fache der molaren Menge in Kilogramm im Verhältnis zur eingesetzten 2,6-Diaminopurinmenge. Vorzugsweise bedeutet das Mol-Verhältnis an HF/Pyridin das 3 bis 4 fache der Mole 2,6-Diaminopurin.

Als Fluorierungsmittel wird HF/Pyridin verwendet. Der HF-Gehalt im HF/Pyridin-Komplex soll 50 bis 70 Gewichtsprozent HF betragen. Vorzugsweise sollte der Pyridin Komplex 65 bis 70 Gewichtsprozent HF enthalten.

Als Diazotierungsreagentien werden organische Nitrite, wie Alkylnitrite, Isobutylnitrite, oder tert. Butylnitrit, bevorzugt tert. Butylnitrit, oder Alkalimetallnitrite, wie NaNO_2 ; KNO_2 oder LiNO_2 , bevorzugt NaNO_2 , verwendet.

Die Zugabe von 2,6-Diaminopurin zur HF/Pyridinlösung wird bei Temperaturen zwischen -30°C und $+25^\circ\text{C}$, vorzugsweise aber bei Temperaturen im Bereich von 0°C bis $+20^\circ\text{C}$ durchgeführt. Die Zugabe erfolgt in kleinen Teilmengen derart, dass die angegebenen Temperaturgrenzwerte, aufgrund der Lösungswärme, im oberen Temperaturgrenzbereich möglichst nicht überschritten werden. Bevorzugt erfolgt die Zugabe in gleich grossen Teilmengenschritten. Der Zeitraum zur Eintragung von Diaminopurin in HF/Pyridin ist für das Verfahren unwesentlich. Wichtig ist nur, dass die obere Temperaturgrenze möglichst nicht überschritten wird. Kurzzeitige Überschreitungen beeinflussen das Verfahren nicht bis kaum.

Die Zugabe des Diazotierungsreagens erfolgt kontinuierlich bei flüssigen Stoffen, oder semikontinuierlich in kleinen, gleich bleibenden Teilmengenschritten. Die jeweilige Zugabemenge bei Feststoffen liegen zwischen 1/70 bis 1/120, bevorzugt bei 1/100 (einem Hundertstel) der Ausgangsmenge an Nitrit in Kilogramm. Die Teilmengenzugabe erfolgt nach jeweils gleich bleibenden Zeitintervallen, zwischen 2 und 10 Minuten pro Teilschritt, bevorzugt bei 5 Minuten, über den gesamten Zugabezeitraum. Die Zugabemenge bei Flüssigstoffen erfolgt kontinuierlich mit einer Dosierate von 1/300 bis 1/600, bevorzugt bei 1/420 pro Minute, bezogen auf die Ausgangsmenge (Liter oder Kilogramm).

Die Reaktion (Diazotierung und Fluorierung) wird bei Temperaturen zwischen -30°C und -10°C , bevorzugt im Bereich -20°C bis -12°C durchgeführt.

Nach erfolgter Reaktion wird das Reaktionsgemisch im Laufe von ca. 1,5 Stunden langsam kontinuierlich auf einen Temperaturbereich von -5 °C bis +2 °C, bevorzugt 0 °C, erwärmt.

Am Ende der Reaktionszeit wird das auf -5 °C bis +2 °C erwärmte Reaktionsgemisch in eine auf ca. 2 °C bis 5 °C vorgekühlte Wassermenge unter intensivem Rühren schnell in einem zweiten Reaktor eingetragen und gequenchet. Die Menge der vorgekühlten Wassermenge liegt zwischen dem 7 bis 13-fachen, bevorzugt dem 8-fachen, in kg bezogen auf die eingesetzte Menge HF/Pyridin in kg. Nach ca. 10 - 15 Minuten Rühren wird das Produkt abfiltriert, die Mutterlauge entsorgt, das 2-Fluoradenin wieder in den Reaktor zurückgeführt, mit der selben Wassermenge, wie oben angeführt, nochmals ausgerührt und wieder abfiltriert.

Dieser Waschvorgang wird insgesamt fünfmal durchgeführt.

Nach beendeter Wäsche wird das Produkt (2-Fluoradenin) im Vakuumschrank bei ca. 70 °C bis 80 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Ausbeute beträgt zwischen 55 - 65 %. Der Reinheitsgrad des Rohproduktes liegt bei mindestens 98 % (HPLC-Area) und bedarf keinerlei weitere Aufreinigung.

Von entscheidender Bedeutung für den Erfolg der vorliegenden Erfindung, ist *einerseits* die strikte Einhaltung der oben angeführten Reaktionstemperaturgrenzen von -30 °C bis -10 °C, bevorzugt im Bereich von -20 °C bis -12 °C und *andererseits* der sehr hohe Verdünnungsgrad beim Eintragen der Reaktionslösung in die jeweiligen Wassermengen. Dadurch wird erreicht, dass der Protonierungsgrad von 2-Fluoradenin möglichst niedrig gehalten wird - Verluste an 2-Fluoradenin werden verringert - und Nebenprodukte, welcher Art auch immer, werden gleichzeitig hinreichend gut ausgewaschen. Ausserdem wird das Abdestillieren des überschüssigen Fluorierungsmittel vermieden, womit sicherlich gewisse Ausbeuteverluste in den bekannten Verfahren zu begründen wären.

Die vorliegende Erfindung ermöglicht somit ein Verfahren zur Synthese von hochreinem 2-Fluoradenosin von mindestens 98 % (HPLC-Area) und hohen Ausbeuten im Bereich von 53 % bis 68 %, ohne jegliche weitere Aufreinigung, wie z.B. präparative HPLC, Aktivkohlefiltration oder Umkristallisation.

Folgende Beispiele sollen das erfindungsgemässe Verfahren näher erläutern.

Beispiel 1:

In 12,78 kg (48,474 Mol) HF/Pyridin (70 Gew.-%ig) werden bei ca. 15 °C 2,45 kg (16,158 Mol) 2,6-Diaminopurin in kleinen, gleich bleibenden Portionen unter gutem Rühren zugegeben. Die Zugabezeit beträgt ca. 50 Minuten. Anschliessend wird der Reaktorinhalt auf -15 °C abgekühlt. In diese Suspension werden, während eines Zeitraumes von ca. 7 Stunden, 2,17 kg (18,905 Mol) tert. Butylnitrit, kontinuierlich mit einer Dosierate von ca. 5,16 g/min über eine Pumpe, eingetragen. Nach Reaktionsende wird die Reaktortemperatur im Zeitraum von ca. 90 Minuten auf 0 °C erwärmt. In einem zweiten Reaktor werden 110 Liter demineralisiertes H₂O vorgelegt, auf ca. 2 °C gekühlt und das Reaktionsgemisch aus dem ersten Reaktor schnell in das Wasser eingerührt. Die Verdünnungs- bzw. Hydratisierungswärme ist geringfügig. Nach ca. 10 Minuten wird das ausgefallene 2-Fluoradenin abfiltriert, die Mutterlauge entsorgt. Der Feststoff wird in den Reaktor zurücktransferiert, wieder in 110 Liter H₂O demineralisiert ausgerührt und abfiltriert.

Der Waschvorgang wird insgesamt fünfmal durchgeführt.

Das gut gewaschene Produkt wird im Vakuumtrockenschrank bei ca. 75 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man erhält 1,46 kg 2-Fluoradenin. Reinheit 99,2 % (HPLC-Area). Die

Ausbeute beträgt 59 %.

Beispiel 2:

5 In 13,24 kg (50,205 Mol) HF/Pyridin (70 Gew.%ig) werden bei ca. 15 °C 2,54 kg (16,73 Mol) 2,6-Diaminopurin in kleinen gleich bleibenden Portionen unter gutem Rühren zugegeben. Die Zugabezeit beträgt ca. 50 Minuten. Anschliessend wird der Reaktorinhalt auf -15 °C abgekühlt. In diese Suspension werden, während eines Zeitraumes von ca. 7 Stunden, 1,390 kg (19,58 Mol) NaNO₂ in 0,0165 kg-Teilmengen nach jeweils 5 Minuten eingetragen. Nach Reaktionsende wird die Reaktortemperatur im Zeitraum von ca. 90 Minuten auf 0 °C erwärmt. In einem zweiten Reaktor werden 120 Liter demineralisiertes H₂O vorgelegt, auf ca. 2 °C gekühlt und das Reaktionsgemisch aus dem ersten Reaktor schnell in das Wasser eingerührt. Die Verdünnungs- bzw. Hydratisierungswärme ist geringfügig. Nach ca. 10 Minuten wird das ausgefallene 2-Fluoradenin abfiltriert, die Mutterlauge entsorgt. Der Feststoff wird in den Reaktor zurücktransferiert, wieder in 120 Liter H₂O demineralisiert ausgerührt und abfiltriert.

Der Waschvorgang wird insgesamt fünfmal durchgeführt.

20 Das gut gewaschene Produkt wird im Vakuumtrockenschrank bei ca. 80 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Man erhält 1,43 kg 2-Fluoradenin. Reinheit 99,0 % (HPLC-Area). Die Ausbeute beträgt 56 %.

Patentansprüche:

- 25 1. Verfahren zur Herstellung von 2-Fluoradenin, *dadurch gekennzeichnet*, dass man
- 30 a) 2,6-Diaminopurin in einem wasserfreiem Fluorierungsmittel in Gegenwart von Nitrit im Temperaturbereich zwischen -30 °C bis -10 °C, vorzugsweise bei -20 °C bis -12 °C, zur Reaktion bringt,
- b) nach beendeter Nitritzugabe das Reaktionsgemisch in einem Zeitraum von 0,5 Stunden bis 4 Stunden, vorzugsweise 1 bis 1,5 Stunden, auf eine Temperatur zwischen -5 °C bis +5 °C, vorzugsweise 0 °C, erwärmt.
- 35 c) das erwärmte Reaktionsgemisch unter Rühren in die 7 bis 13 fache, bevorzugt die 8 fache Wassermenge in Kilogramm, bezogen auf die eingesetzte Menge an Fluorierungsmittel in Kilogramm, einrührt und quencht.
- d) den so erhaltenen Feststoff abtrennt, vorzugsweise abfiltriert,
- e) den Feststoff insgesamt 4 bis 7mal, vorzugsweise 5mal mit der 7 bis 13 fachen, bevorzugt der 8 fachen Wassermenge in Kilogramm, bezogen auf die eingesetzte Menge an Fluorierungsmittel in Kilogramm, wäscht,
- 40 f) den so erhaltenen Feststoff abtrennt, vorzugsweise abfiltriert, und ohne zusätzliche daran anschliessende Reinigungsschritte bei 70 °C bis 85 °C, vorzugsweise bei 8 °C, im Vakuum trocknet,
- und 2-Fluoradenin in einer Ausbeute von 53 % bis 68 %, vorzugsweise 54 % bis 60 %, und einer Reinheit von mindestens 98 % (HPLC-Area) erhält.
- 45 2. Verfahren nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet*, dass wasserfreies Fluorierungsmittel Fluorwasserstoffsäure oder Fluorwasserstoff-Pyridin-Komplex mit einem Fluorwasserstoffanteil von 60 - 70 Gewichts %, vorzugsweise 70 Gewichts %, bedeutet.
- 50 3. Verfahren nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet*, dass Nitrit LiNO₂, KNO₂, NaNO₂ oder tert.-Butylnitrit, vorzugsweise tert.-Butylnitrit oder NaNO₂, bedeutet.
4. Verfahren nach Anspruch 1 und 3, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zugabe von flüssigem tert.-Butylnitrit kontinuierlich über eine Pumpe mit einer Dosierate von einem Dreihundertstel der Ausgangsmenge pro Minute bis zu einem Sechshundertstel der Aus-
- 55

gangsmenge pro Minute, bevorzugt einem Vierhundertzwanzigstel der Ausgangsmenge pro Minute, bezogen auf die Ausgangsmenge tert.-Butylnitrit in Kilogramm, bedeutet.

5. Verfahren nach Anspruch 1 und 3, *dadurch gekennzeichnet*, dass die Zugabe von festen NaNO_2 in gleich bleibenden Teilmengenschritten von einem Siebzigstel der Ausgangsmenge bis zu einem Einhundertzwanzigstel der Ausgangsmenge, bevorzugt einem Hundertstel der Ausgangsmenge NaNO_2 in Kilogramm bedeutet.
6. Verfahren nach Anspruch 1 und 5, *dadurch gekennzeichnet*, dass das Zeitintervall für gleich bleibende Teilmengenschritte jeweils 2 Minuten bis 12 Minuten, bevorzugt 5 Minuten, bedeutet.
7. Verfahren nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet*, dass das eingesetzte Wasser, demineralisiertes oder destilliertes Wasser ist.
8. Verfahren nach Anspruch 1, *dadurch gekennzeichnet*, dass der Betriff Reinigungsschritte präparative liquide Säulenchromatographie, Aktivkohlefiltration, oder Umkristallisation bedeutet.
9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 8, *dadurch gekennzeichnet*, dass durch die Zugabe von Nitrit, insbesondere von tert.-Butylnitrit, in Teilmengen bei tiefer Temperatur im Bereich von $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$, vorzugsweise bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, und durch Verwendung von Wassermengen im Bereich vom 7 bis 13 fachen, bevorzugt dem 8 fachen der Wassermenge in Kilogramm, bezogen auf die eingesetzte Menge an Fluorierungsmittel, für das Quentchen der Reaktion, und durch Verwendung von Wassermengen im Bereich vom 7 bis 13 fachen, bevorzugt dem 8 fachen der Wassermenge in Kilogramm, bezogen auf die eingesetzte Menge an Fluorierungsmittel, für jede einzelne Teilwäsche des Feststoffes, 2-Fluoradenin in Ausbeuten von 53 % bis 68 %, vorzugsweise 54 % bis 60 % und einer Reinheit von mindestens 98 % (HPLC-Area) erhalten wird.
10. Verfahren nach Anspruch 1 bis 9, *dadurch gekennzeichnet*, dass zur Herstellung von 2-Fluoradenin mit einem Reinheitsgrad von mindestens 98 % (HPLC-Area) keine Aufreinigungsschritte wie präparative Flüssigkeits Chromatographie, Aktivkohlefiltration oder Umkristallisation verwendet werden.

Keine Zeichnung