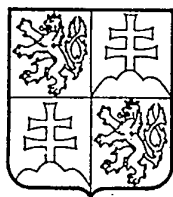


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

274 486

(11)

(13) B2

(51) Int. Cl.⁵
C 07 F 19/06
C 07 D 239/22

(21) PV 7475-88.U
(22) Přihlášeno 15 11 88
(30) Právo přednosti od 17 11 87
EP (87116926.4)

(40) Zveřejněno 12 09 90
(45) Vydáno 30 09 92

(72) Autor vynálezu

FUJII MORIO, CHIGASAKI, ISHITSUKA HIDEO, YOKOHAMA,
MIWA MASANORI, KAMAKURA, UMEDA ISAO, YOKOHAMA,
YOKOSE KAZUTERU, URAYASU
(JP)

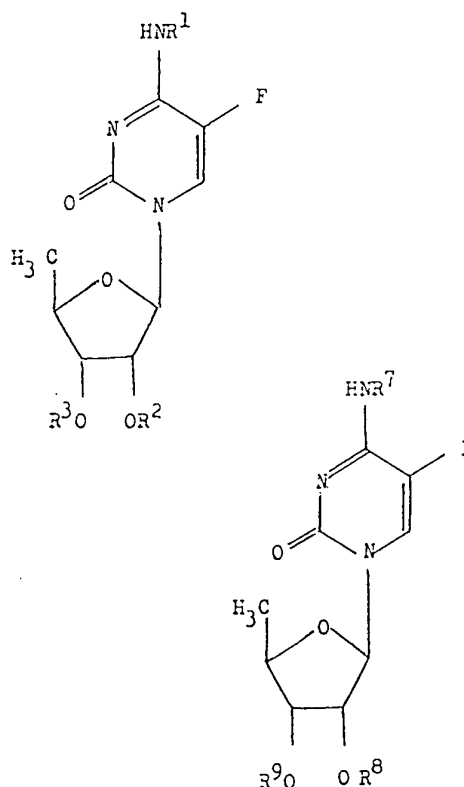
(73) Majitel patentu

F. HOFFMANN - LA ROCHE AG, BASILEJ (CH)

(54)

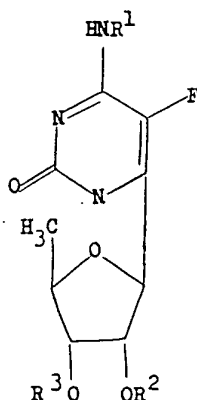
Způsob výroby nových derivátů 5'-deoxy-5-
-fluorcytidinu

(57) Deriváty 5'-deoxy-5-fluorcytidinu obecného vzorce I, ve kterém, R^1 , R^2 a R^3 znamenají nezávisle na sobě vodík nebo skupinu, která je za fyziologických podmínek snadno hydrolyzovatelná, přičemž tuto skupinu představuje alespoň jeden z těchto substituentů a je představována zbytky R^4CO- , R^5OCO- nebo R^6SCO- , kde R^4 znamená vodík, C_1-17 -alkyl, C_3-10 -cykloalkyl, C_2-8 -alkenyl, C_7-9 -aralkyl nebo C_6-10 -aryl a R^5 a R^6 znamenají C_1-8 -alkyl nebo C_7 -aralkyl, jakož i hydráty nebo solváty těchto sloučenin se připravují tím, že se na sloučeninu vzorce II, ve kterém R^7 znamená vodík nebo chránicí skupinu aminoskupiny, R^8 a R^9 znamenají vodík nebo chránicí skupinu hydroxylové skupiny nebo R^8 a R^9 tvoří společně chránicí skupinu hydroxylových skupin, působí sloučeninou $X-CO-R^4$, kde X znamená odštěpitelnou skupinu a R^4 je R^4 , nebo X znamená halogen a R^4 znamená skupinu R^5O- nebo R^6S . Ze získaného produktu se popřípadě odštěpí chránicí skupina aminoskupiny nebo hydroxyskupiny a sloučenina vzorce I se izoluje jako taková nebo ve formě hydrátu nebo solvátu. Vyráběné sloučeniny se používají jako léčiva, zvláště jako protinádorové prostředky.



Předložený vynález se týká způsobu výroby nových derivátů 5'-deoxy-5-fluorcytidinu, které mají cenné farmakologické vlastnosti a mohou se používat jako protinádorové prostředky.

Byly nalezeny nové deriváty 5'-deoxy-5-fluorcytidinu obecného vzorce I

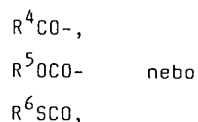


(I),

ve kterém

R^1 , R^2 a R^3 znamenají nezávisle na sobě atom vodíku nebo skupinu, která je za fyziologických podmínek snadno hydrolyzovatelná s tím, že alespoň jeden ze substituentů R^1 , R^2 a R^3 znamená skupinu, která je za fyziologických podmínek snadno hydrolyzovatelná,

přičemž se "skupinou, která je snadno hydrolyzovatelná za fyziologických podmínek" ve významu symbolu R^1 , R^2 a R^3 v obecném vzorci I rozumí skupina



kde

R^4 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 17 atomy uhlíku, cykloalkylovou skupinu s až 10 atomy uhlíku, alkenylovou skupinu s až 8 atomy uhlíku, aralkylovou skupinu s až 9 atomy uhlíku nebo arylovou skupinu s až 10 atomy uhlíku, a

R^5 a R^6 znamenají alkylové skupiny s až 8 atomy uhlíku nebo aralkylovou skupinu s až 7 atomy uhlíku,

jakož i hydráty nebo solváty sloučenin obecného vzorce I, které se mohou používat jako účinné složky protinádorových prostředků.

Výraz "alkylová skupina" používaný v tomto popisu označuje přímé nebo rozvětvené alkylové skupiny s 1 až 17 atomy uhlíku, jako je například methylová skupina, ethylová skupina, propylová skupina, isopropylová skupina, butylová skupina, isobutylová skupina, sek. butylová skupina, terc.butylová skupina, pentylová skupina, isopentylová skupina, neopentylová skupina, hexylová skupina, isohexylová skupina, heptylová skupina, oktylová

skupina, nonylová skupina, decylová skupina, undecylová skupina, dodecylová skupina, tri-decylová skupina, tetradecylová skupina, pentadecylová skupina, hexadecylová skupina a heptadecylová skupina.

Výraz "cykloalkylová skupina", používaný v tomto popise, označuje například cyklopropylovou skupinu, cyklobutylovou skupinu, cyklopentylovou skupinu, cyklohexylovou skupinu a adamantylovou skupinu.

Výraz "alkenylová skupina" označuje nesubstituovaný nebo substituovaný alkenylový radikál, jako je allylová skupina, butenylová skupina, 3-methyl-2-butenylová skupina, 1-methyl-2-propenylová skupina, hexenylová skupina a 2-fenylvinylová skupina.

Výraz "aralkylová skupina" označuje nesubstituovanou nebo substituovanou aralkylovou skupinu, jako je benzylová skupina, 1-fenylethylová skupina, methylbenzylová skupina, fluorbenzylová skupina, chlorbenzylová skupina, methoxybenzylová skupina, dimethoxybenzylová skupina, nitrobenzylová skupina, fenethyllová skupina, pikolylová skupina a 3-indolymethyllová skupina.

Výraz "arylová skupina" označuje nesubstituovanou nebo substituovanou arylovou skupinu, jako je fenylová skupina, tolylová skupina, xylylová skupina, mesitylová skupina, kumenylová skupina, ethylfenylová skupina, fluorfenylová skupina, chlorfenylová skupina, bromfenylová skupina, jodfenylová skupina, difluorfenylová skupina, dichlorfenylová skupina, methoxyfenylová skupina, dimethoxyfenylová skupina, tri-methoxyfenylová skupina, ethoxyfenylová skupina, diethoxyfenylová skupina, triethoxyfenylová skupina, propoxyfenylová skupina, **methylenedioxyfenylová** skupina, (methylthio)fenylová skupina, nitrofenylová skupina, kyanfenylová skupina, acetylfenylová skupina, karbamoylfenylová skupina, methoxykarbonylfenylová skupina, naftylová skupina, bifenylylová skupina, thienylová skupina, methylthienylová skupina, furylová skupina, nitrofurylová skupina, pyrrolylová skupina, methylpyrrolylová skupina, imidazolylová skupina, pyrazolylová skupina, pyridylová skupina, methylpyridylová skupina a pyrazinylová skupina.

Zvláště vhodnými deriváty 5'-deoxy-5-fluorcytidinu, které se získávají podle tohoto vynálezu, jsou následující sloučeniny:

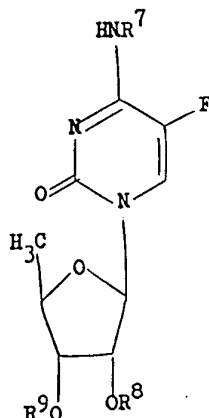
N⁴-acetyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-propionylcytidin,
 N⁴-butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-isobutyrylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-methylbutyryl)cytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(2-ethylbutyryl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(3,3-dimethylbutyryl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-pivaloylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-valerylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-isovalerylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-methylvaleryl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-methylvaleryl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-methylvaleryl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-hexanoylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-heptanoylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-oktanoylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-nonanoylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-hexadekanoylcytidin,
 N⁴-benzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-methylbenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-methylbenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-methylbenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(4-ethylbenzoyl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(3,4-dimethylbenzoyl)-5-fluorcytidin,

5'-deoxy-N⁴-(3,5-dimethylbenzoyl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-methoxybenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(3,4-dimethoxybenzoyl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(3,5-dimethoxybenzoyl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3,4,5-triethoxybenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(4-ethoxybenzoyl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-propoxybenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(3,5-diethoxybenzoyl)-5-fluorcytidin,
 N⁴-(4-chlorbenzoyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(3,4-dichlorbenzoyl)-4-fluorcytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(3,5-dichlorbenzoyl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-nitrobenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-methoxykarbonylbenzoyl)cytidin,
 N⁴-(4-acetylbenzoyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(fenylacetyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-methoxyfenylacetyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-nikotinoylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-isonikotinoylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-pikolinoylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-furoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(5-nitro-2-furoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-thenoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(5-methyl-2-thenoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(1-methyl-2-pyrrolkarbonyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-indolylacetyl)cytidin,
 N⁴-(3-butenoyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 3'-O-benzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 N⁴,3'-O-dibenzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin a
 5'-deoxy-N⁴-(ethylthio)karbonyl-5-fluorcytidin.

Dalšími výhodnými deriváty 5'-deoxy-5-fluorcytidinu, připravovanými postupem podle tohoto vynálezu, jsou následující sloučeniny:

5'-deoxy-5-fluor-N⁴-oktadekanoylcytidin,
 N⁴-cyklopropankarbonyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 N⁴-cyklohexankarbonyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 N⁴-(1-adamantankarbonyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-methoxybenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-N⁴-(2,4-dimethoxybenzoyl)-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-piperonyloylcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-fluorbenzoyl)cytidin,
 N⁴-(2-chlorbenzoyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 N⁴-(3-chlorbenzoyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-nitrobenzoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-[4-(methylthio)benzoyl]cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-naftoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-furoyl)cytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-fenylpropionyl)cytidin,
 N⁴-cinnamoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 2',3'-di-O-benzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 N⁴-2'-O,3'-tribenzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidin,
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(oktyloxykarbonyl)cytidin,
 N⁴-(benzoyloxykarbonyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidin a
 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-formylcytidin.

Předmětem předloženého vynálezu je způsob výroby nových derivátů 5'-deoxy-5-fluorcytidinu shora uvedeného a definovaného obecného vzorce I, jakož i hydrátů nebo solvátů sloučenin obecného vzorce I, který spočívá v tom, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



(II),

ve kterém

R^7 znamená atom vodíku nebo chránicí skupinu aminoskupiny,

R^8 a R^9 znamenají nezávisle na sobě atom vodíku nebo chránicí skupinu hydroxylové skupiny nebo

R^8 a R^9 mohou také společně tvořit cyklickou chránicí skupinu hydroxylových skupin,

se sloučeninou obecného vzorce III



(III),

ve kterém

X znamená buď odštěpitelnou skupinu a

$R^{4'}$ má stejný význam jako shora uvedený substituent R^4 nebo

X znamená atom halogenu a

$R^{4'}$ znamená skupinu vzorce R^5O- nebo R^6S- , ve kterých R^5 a R^6 mají shora uvedený význam,

načež se popřípadě odstraní chránicí skupina aminoskupiny a hydroxyskupiny a získaná sloučenina vzorce I se izoluje jako taková nebo ve formě hydrátu nebo solvátu.

Výraz "chránicí skupina aminoskupiny" označuje například benzyloxykarbonylovou skupinu, fenoxycarbonylovou skupinu, 2,2,2-trichlorethoxykarbonylovou skupinu, ethoxykarbonylovou skupinu, terc.butoxykarbonylovou skupinu a trifluoracetylovou skupinu.

Výraz "chránicí skupina hydroxyskupiny" označuje například benzylovou skupinu, methoxybenzylovou skupinu, trimethylsilylovou skupinu, triethylsilylovou skupinu, isopropylidimethylsilylovou skupinu, terc.butylidimethylsilylovou skupinu, terc.butylidifenylsilylovou skupinu, terc.hexylidimethylsilylovou skupinu, allylovou skupinu, methoxymethyllovou skupinu,

(2-methoxyethoxy)methylovou skupinu a tetrahydropryranyllovou skupinu.

Výraz "cyklická chránicí skupina hydroxyskupiny" označuje například zbytek cyklického acetalu, cyklického ketalu, cyklického karbonátu, cyklického orthoesteru a cyklický 1,3-(1,1,3,3-tetraisopropyl)disiloxandiyl.

Výrazem "odštěpitelná skupina" se rozumí například atom halogenu, acyloxyskupina, alkyloxykarbonyloxyskupina, sukcinimidoxyskupina, ftalimidoxyskupina, 4-nitrofenylová skupina, azidoskupina, 2,4,6-triisopropylbenzensulfonylová skupina a diethyloxyfosforyloxyskupina.

Výrazem "atom halogenu", tak jak je zde používán, se rozumí atom chloru, bromu nebo jodu.

Ze sloučenin obecného vzorce II je 5'-deoxy-5-fluorcytidin známou sloučeninou (srov. J. Med. Chem., 22, 1330 (1979)) a ostatní sloučeniny definované obecným vzorcem II lze připravit z 5'-deoxy-5-fluorcytidinu o sobě známými postupy, nebo z 5'-deoxy-5-fluoruridinu postupy popsány v literatuře (srov. Chem. Pharm. Bull., 33, 2575 (1985)).

Sloučeninami obecného vzorce III, ve kterém X znamená odštěpitelnou skupinu a které se používají při shora uvedené reakci, jsou halogenidy kyseliny, anhydridy kyseliny, smíšené anhydridy (připravované reakcí R^4CO_2H a 2,4,6-triisopropylbenzensulfonylchloridem nebo diethylchlorfosfátem (příčímž R^4 má shora uvedený význam)), aktivované estery (jako N-hydroxysukcinimid-estery, N-hydroxyftalimid-estery, 4-nitrofenylestery apod.), acylazidy nebo smíšené anhydridy kyseliny uhlíčitě.

Sloučeninami obecného vzorce III, ve kterém X znamená atom halogenu, používanými při reakci podle vynálezu, jsou alkyloxykarbonylhalogenidy, aralkyloxykarbonylhalogenidy, (alkylthio)karbonylhalogenidy nebo (aralkylthio)karbonylhalogenidy.

Reakce sloučeniny obecného vzorce II se sloučeninou obecného vzorce III se může provádět v rozpouštědle, jako v pyridinu, dioxanu, tetrahydrofuranu, acetonitrilu, chloroformu, dichlormethanu, methanolu, ethanolu nebo ve vodě. Používat se může také směs dvou nebo více rozpouštědel. Reakce se může provádět v přítomnosti činidla vázajícího kyselinu, jako triethylaminu, pyridinu, pikolinu, dimethylaminopyridinu, lutidinu, N,N-dimethylanilinu nebo hydroxidu, uhlíčitanu nebo fosforečnanu alkalického kovu. Reakční teplota při shora uvedené reakci se může pohybovat v relativně širokém rozsahu. Obecně se reakce provádí při teplotách mezi asi 0 a 120 °C, výhodně mezi 0 a 50 °C.

Při provádění reakce podle vynálezu se používá 1, 2 nebo 3 mol nebo ještě vyšší nadbytek sloučeniny vzorce III na 1 mol sloučeniny vzorce II.

Chránicí skupina aminskupiny nebo hydroxyskupiny se může, pokud je to žádoucí, odstranit po reakci postupy o sobě známými pro odborníky v daném oboru.

Sloučeniny vyrobené postupem podle předloženého vynálezu se mohou izolovat a čistit obvyklými postupy, jako odpařením, filtrací, extrakcí, srážením, chromatografováním, překrystalováním a jejich kombinací.

Sloučeniny obecného vzorce I mohou existovat v nesolvatované, jakož i v solvatované formě, včetně hydratované formě. Hydratace se může uskutečnit v průběhu výrobního postupu nebo k ní může dojít postupně jakožto následek hygroskopických vlastností původně bezvodého produktu. K řízené přípravě hydrátů se úplně nebo částečně bezvodý produkt může vystavit vlhké atmosféře (například při teplotě asi +10 °C až 40 °C). Solváty s farmaceuticky vhodnými rozpouštědly, jako je ethanol, se mohou získat například během krystalizace.

5'-Deoxy-5-fluorcytidinové deriváty obecného vzorce I, jakož i hydráty nebo solváty sloučenin obecného vzorce I, připravované postupem podle předloženého vynálezu, vykazují účinnost proti sarkomu 180, fibrosarkomu Meth A a Lewisovu karcinomu plic při pokusu na myši v širokém rozsahu dávek při orální i parenterální aplikaci a jsou použitelné jako protinádorové prostředky. 5-Fluoruracil a jeho deriváty jsou zpravidla příčinou intestinální toxicity a imunosupresivní toxicity, které jsou jejich hlavními toxicitami limitu-

jíacími dávkou. Deriváty 5'-deoxy-5-fluorcytidinu podle předloženého vynálezu jsou mnohem bezpečnější. Jsou-li aplikovány perorálně způsobují daleko méně toxicitu intestinálního traktu a imunologického systému než 5-fluoruracil (J. Am. Chem. Soc., 79, 4559, (1957) a jeho typičtí předchůdci, tj. UFT (tagafur : uracil = 1 : 4) a 5'-deoxy-5-fluoruracil (srov. US patentový spis č. 4 071 680). Sloučeniny podle předloženého vynálezu se mohou účinněji používat pro léčení různých nádorů u lidí.

Předložený vynález se dále týká farmaceutických přípravků, které obsahují jednu nebo několik sloučenin podle předloženého vynálezu.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu se mohou aplikovat perorálně nebo jiným než orálním způsobem lidem různými obvyklými aplikačními metodami. Sloučeniny podle předloženého vynálezu se mohou používat samotné nebo ve směsi s farmaceuticky inertní nosnou látkou. Takovou nosnou látkou může být organická nebo anorganická inertní nosná látka vhodná pro enterální, perkutánní neb parenterální aplikaci, jako je voda, želatina, arabská guma, mléčný cukr, škrob, hořečnatá sůl kyseliny stearové, mastek, rostlinné oleje, polyalkylenglykoly nebo vazelina. Farmaceutické přípravky se mohou zhotovovat v pevné formě (například ve formě tablet, dražé, entericky povlékaných tablet, granulí, entericky povlékaných granulí, čípků, kapslí nebo enterických kapslí), v polopevné formě (například ve formě mastí) nebo v kapalné formě (například ve formě roztoků, suspenzí nebo emulzí). Farmaceutické přípravky se mohou sterilizovat nebo/a mohou obsahovat další pomocné látky, jako konzervační prostředky, stabilizátory, ztužovací prostředky nebo emulgátory, prostředky ke zlepšení chuti, soli ke změně osmotického tlaku nebo pufrů. Farmaceutické přípravky se mohou připravovat obvyklým způsobem.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu se mohou používat samotné nebo ve formě směsi dvou nebo několika různých sloučenin, přičemž množství sloučenin se pohybuje od asi 0,1 do 99,5 %, výhodně od 0,5 do 95 % hmotnostních, vztaheno na hmotnost farmaceutického přípravku.

Farmaceutický přípravek podle předloženého vynálezu se může formulovat v kombinaci sloučeniny nebo sloučenin podle předloženého vynálezu a dalšími obvyklými sloučeninami, které jsou farmaceuticky účinné.

Denní dávka nového derivátu 5'-deoxy-5-fluorcytidinu podle předloženého vynálezu, aplikovaná pacientovi, se může měnit v závislosti na hmotnosti a stavu pacienta, avšak obecně se pohybuje v rozmezí od 0,5 do 700 mg na 1 kg tělesné hmotnosti, výhodně v rozmezí od asi 3 do 500 mg.

Protinádorové účinky sloučenin podle předloženého vynálezu jsou blíže ilustrovány následujícími testy.

Test na protinádorový účinek vůči sarkomu 180

Buňky sarkomu 180 (2 x 10⁶ buněk) se subkutánně aplikují myši (o hmotnosti 20 až 22 g) v den 0. Sloučeniny podle předloženého vynálezu se aplikují perorálně denně ode dne 1 do dne 7. Ve 14. den se zvířata usmrtí, nádory se vyjmou a stanoví hmotnost. Procentuální inhibice růstu nádoru, které jsou uvedeny v tabulce 1, se vypočtou podle následujícího vzorce:

$$\% \text{ inhibice} = (1 - T/C) \times 100$$

T = hmotnost nádorů z ošetřené skupiny zvířat

C = hmotnost nádorů z kontrolní skupiny zvířat

T a b u l k a 1

Test na protinádorový účinek vůči sarkomu 180 na myši

sloučenina (příklad č.)	dávka x 7 (mmol/kg/d)	inhibice (%)
1	1,1	56
	2,2	83
2	1,5	84
	3,0	91
5	1,1	62
	2,2	82
6	0,5	28
	1,5	76
7	1,4	57
	2,7	84
8	1,4	20
	2,7	77
9	1,4	76
	2,7	96
10	1,5	74
	3,0	97
11	0,8	69
	1,5	90
12	0,8	40
	1,5	73
13	0,8	28
	1,5	66
15	0,8	47
	1,5	62

T a b u l k a 1 - pokračování

sloučenina (příklad č.)	dávka x 7 (mmol/kg/d)	inhibice (%)
17	1,3	75
	2,6	92
24	1,5	63
	3,0	94
41	0,5	-18
	1,5	36
42	0,5	0
	1,5	36

Test na protinádorový účinek fibrosarkomu Meth A

Buňky fibrosarkomu Meth A (2 x 10⁵ buněk) se subkutánně implantují myši (o hmotnosti 21 až 22 g). Jinak se při testu postupuje a procento inhibice růstu nádoru se vypočítá analogicky jako v případě testu na protinádorový účinek vůči sarkomu 100. Výsledky testu jsou shrnuty v níže uvedené tabulce 2.

T a b u l k a 2

Protinádorová účinnost vůči fibrosarkomu Meth A na myši

sloučenina (příklad č.)	dávka x 7 (mmol/kg/d)	inhibice (%)
1	1,5	50
	3,0	72
3	1,5	86
	3,0	79
14	1,5	66
	3,0	94
16	0,8	38
	1,5	58
18	1,5	51
	3,0	91

T a b u l k a 2 - pokračování

sloučenina (příklad č.)	dávka x 7 (mmol/kg/d)	inhibice (%)
19	1,5	3
	3,0	64
20	1,5	53
	3,0	84
21	0,8	17
	1,5	60
22	1,5	42
	3,0	42
23	0,8	56
	1,5	64
25	1,5	-6
	3,0	34
26	1,5	37
	3,0	58
27	1,5	58
	3,0	91
28	1,5	-13
	3,0	-13
29	1,5	49
	3,0	92
30	1,5	55
	3,0	58
31	1,5	55
	3,0	84
34	1,3	75
	2,6	92
36	1,5	53
	3,0	92

T a b u l k a 2 - pokračování

sloučenina (příklad č.)	dávka x 7 (mmol/kg/d)	inhibice (%)
37	1,5	59
	3,0	86
40	0,8	41
	1,5	57
44	1,5	38
	3,0	66
45	1,5	49
	3,0	71
46	1,5	51
	3,0	66
47	1,5	29
	3,0	59
48	0,8	42
	1,5	72
49	1,5	58
	3,0	76
52	0,8	41
	1,5	51
53	1,5	48
	3,0	85
54	1,5	55
	3,0	85
57	1,5	28
	3,0	56
59	1,5	23
	3,0	80

Srovnávací test protinádorové účinnosti

Srovnávací studie protinádorového účinku vybrané sloučeniny podle předloženého vynálezu (sloučeniny z příkladu 3) a 5'-deoxy-5-fluoruridinu se provádí analogickým postupem jako testy protinádorového účinku proti fibrosarkomu Meth A. Výsledky tohoto pokusu jakož i pozorování trusu v 8. den pokusu jsou shrnuty v tabulce 3.

T a b u l k a 3

Protinádorový účinek proti fibrosarkomu Meth A na myši a výsledky pozorování trusu v 8. den pokusu

sloučenina (příklad č.)	dávka x 7 (mmol/kg/d)	inhibice (%)	výsledky pozorování trusu *)
3	0,4	-27	N
	0,8	20	N
	1,5	86	N
	3,0	79	N
5'-deoxy-5-fluoruridin	0,4	34	N
	0,8	31	N
	1,5	66	L - D
	3,0	produkt toxický	D

Vysvětlivky k tabulce 3:

*) pozorování trusu

N: normální trus

L: řídký trus

D: průjem

Výsledky v tabulce 3 ukazují, že sloučenina z příkladu 3 je účinnější proti nádorům a je přitom méně jedovatá než 5'-deoxy-5-fluoruridin. Při tomto pokusu nezpůsobuje sloučenina z příkladu 3 průjmy, které jsou limitujícím faktorem dávky 5'-deoxy-5-fluoruridinu.

Srovnávací test protinádorové účinnosti vůči Lewisovu plicnímu karcinomu

Protinádorová účinnost vybrané sloučeniny podle vynálezu (sloučenina z příkladu 1) se srovnává s protinádorovou účinností 5'-deoxy-5-fluoruridinu a kombinovaného přípravku UFT (tegafur : uracil = 1 : 4). Myši se inokulují subkutánně Lewisovým plicním karcinomem (106 buněk) v nultý den pokusu.

Sloučeniny se podávají perorálně denně 14-krát od 1. dne. Zjišťuje se účinná dávka (ED₅₀), tj. dávka způsobující 50% inhibici růstu nádoru, jakož i toxická dávka. V níže uvedené tabulce 4 jsou uvedeny hodnoty terapeutického indexu (toxická dávka/ED₅₀) získané při těchto testech. Jak je patrné z tabule 4, má sloučenina podle předloženého vynálezu vyšší terapeutický index než typická léčiva 5-fluoruracilu, tj. 5'-deoxy-5-fluoruridin a UFT. Způsobuje rovněž menší toxicitu intestinálního traktu (průjem) a orgánů zajišťujících imunologickou odpověď (brzlíku a kostní dřeně). Z uvedených výsledků je patrné, že sloučenina podle předloženého vynálezu je mnohem bezpečnější.

T a b u l k a 4

Srovnávací test protinádorové účinnosti vůči Lewisovu plicnímu karcinomu

sloučenina (příklad č.)	terapeutický index - toxická dávka/ED ₅₀ *			
	nejvyšší dávka nezpůsobující průjem (A)**	přírůstek tělesné hmotnosti: 10% snížení (B)**	50% úbytek brzlíku (C)**	50% snížení počtu buněk kostní dřeně (D)**
1	> 13	> 13	11,3	10,7
5'-deoxy- fluoruridin	5	6,4	5 - 10	5 - 10
UFT	1,5	2,5	1,1	1,5 - 2,9

* hodnoty ED₅₀ sloučeniny z příkladu 1, 5'-deoxy-5-fluoruridinu a UFT naměřené 15. den po inokulaci nádoru činí 0,15 - 0,20 a 0,086 mmol/kg/d

** hodnoty toxicity byly měřeny 10. den (A), 7. den (B), 14. den (C) a 14. den (D)

Srovnávací test protinádorové účinnosti vůči sarkomu 180, fibrosarkomu Meth A a fibrosarkomu UV 2237

Při tomto modelu testu se srovnává protinádorový účinek vybrané sloučeniny podle předloženého vynálezu (sloučenina z příkladu 1) s účinkem 5'-deoxy-5-fluoruridinu a 5'-deoxy-5-fluorocytidinu na třech druzích nádorů na myši. Myš se subkutánně inokuluje sarkomem 180, fibrosarkomem Meth A a fibrosarkomem UV 2237 v nultý den pokusu. Ode dne 1 se myším perorálně aplikují jednou denně testované sloučeniny po dobu 7 dnů. Účinnost se vyjadřuje jako terapeutický index (ED_{max}/ED₅₀) naměřený 14. den po inokulaci nádoru. Hodnota ED_{max} představuje dávku, při které dochází k maximální inhibici růstu nádoru. Výsledky dosažené při těchto pokusech jsou shrnuty v tabulce 5.

T a b u l k a 5

Srovnávací test protinádorové účinnosti vůči sarkomu 180, fibrosarkomu Meth A a fibrosarkomu UV 2237

sloučenina (příklad č.)	terapeutický index		
	sarkom 180	fibrosarkom Meth A	fibrosarkom UV 2237
1	2,3	2,0	4,8

T a b u l k a 5 - pokračování

sloučenina (příklad č.)	terapeutický index		
	sarkom 180	fibrosarkom Meth A	fibrosarkom UV 2237
5'-deoxy-5-fluorcytidin	2,0	1,2	1,0
5'-deoxy-5-fluoruridin	2,4	1,1	1,6

Akutní toxicita

Akutní toxicita (LD_{50}) vybraných sloučenin podle předloženého vynálezu (sloučeniny z příkladu č. 1, 5, 9, 24, 34, 46 a 47) se testuje při perorální aplikaci myši. Jednotlivé hodnoty LD_{50} získané při tomto testu jsou vyšší než 2 000 mg/kg.

Následující příklady ilustrují výhodné metody přípravy sloučenin podle předloženého vynálezu. Tyto příklady však rozsah vynálezu nikterak neomezuji.

Srovnávací příklad:

a) 245 mg 5'-deoxy-5-fluorcytidinu, 354 mg terc.butyldimethylsilylchloridu a 284 mg imidazolu se rozpustí v 1,5 ml dimethylformamidu. Směs se míchá 18 hodin při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku. Reakční směs se potom vylije do vody a provede se extrakce ethylacetátem. Ethylacetátový extrakt se promyje vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a zahustí se za sníženého tlaku. Získá se 431 mg 2',3'-bis-O-(terc.butyldimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinu.

Hmotové spektrum (MS): 473 (M^+).

b) Roztok 490 mg 5'-deoxy-5-fluorcytidinu, 418 mg monohydrátu p-toluensulfonové kyseliny a 984 μ l 2,2-dimethoxypropanu v 10 ml acetonu se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti. K získanému roztoku se přidá 900 mg hydrogenuhličitanu sodného a směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Sraženina se odfiltruje a promyje se acetonem. Spojené filtry se zahustí za sníženého tlaku. Zbytek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu jako elučního činidla. Získá se 570 mg 5'-deoxy-5-fluor-2',3'-O-isopropylidencytidinu.

MS 286 (MH^+); teplota tání pikrátu 169 až 171 °C.

Příklad 1

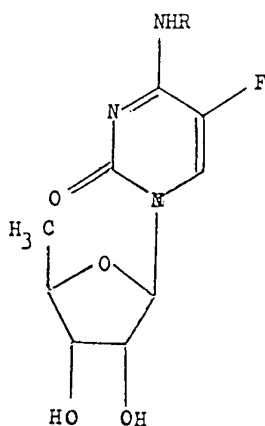
1(a) 9,46 g 2', 3'-bis-O-(terc.butyldimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinu, získaného postupem popsaným ve srovnávacím příkladu a), 3,48 g anhydridu kyseliny máslé a 2,93 g 4-dimethylaminopyridinu se rozpustí ve 150 ml methylenchloridu. Reakční směs se míchá přes noc, potom se promyje vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a zahustí se za sníženého tlaku. Získá se 9,75 g N⁴-butyryl-2',3'-bis-O-(terc.butyldimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinu.

Hmotové spektrum (MS): 544 (MH^+).

1(b) 9,75 produktu z příkladu 1(a) se rozpustí v 80 ml tetrahydrofuranu, který obsahuje 80 mmol tetrabutylamoniumfluoridu. Reakční směs se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se zbytek čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu, za použití směsi ethylacetátu a methanolu jako elučního činidla a produkt se překrystaluje z methanolu. Získá se 4,5 g N⁴-butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidinu o teplotě tání 156 až 157 °C.

Hmotové spektrum (MS): 316 (MH⁺).

Následující sloučeniny se získají analogickým způsobem jako v příkladu 1:



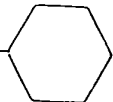
příklad č.	R	teplota tání (°C)	po překrystalo- vání z	MS
2	-COCH ₃	157-159	EtOH	288 (MH ⁺)
3		170-171	EtOAc-Et ₂ O	440 (MH ⁺)

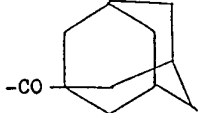
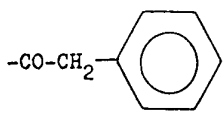
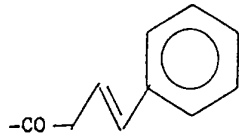
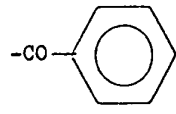
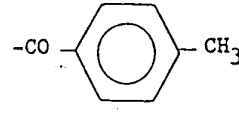
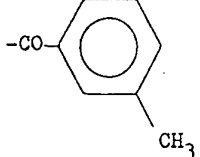
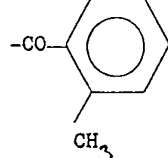
Příklad 4

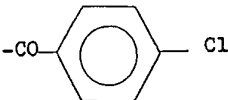
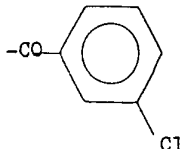
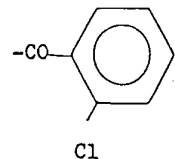
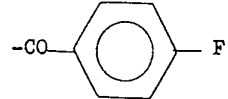
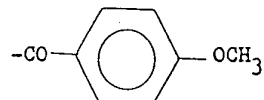
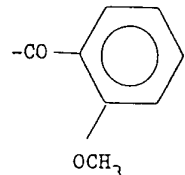
4(a) 14,19 g 2',3'-bis-O-(terc.butylidimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinu, získaného postupem popsaným ve srovnávacím příkladu a), se rozpustí ve 150 ml pyridinu. K získanému roztoku se po kapkách přidá 3,84 g n-butyrylchloridu. Potom se reakční směs míchá přes noc. Pyridin se odstraní za sníženého tlaku a zbytek se rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Ethylacetátová vrstva se promyje vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a zahustí se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí chromatografickým na sloupci silikagelu za použití směsi n-hexanu a ethylacetátu jako elučního činidla. Získá se 15,32 g N⁴-butyryl-2',3'-bis-O-(terc.butylidimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinu.

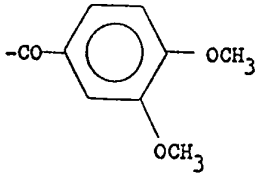
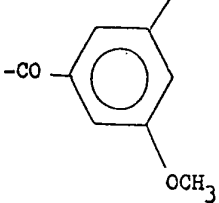
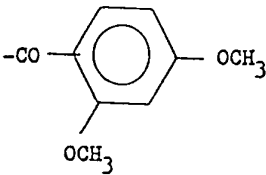
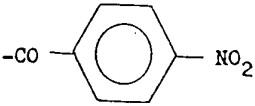
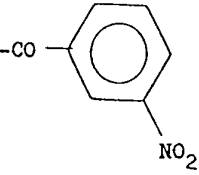
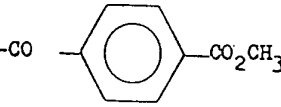
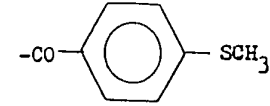
4(b) Produkt z příkladu 4(a) se nechá reagovat analogickým způsobem jako je popsán v příkladu 1(b), přičemž se získají bezbarvé krystaly n⁴-butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidinu.

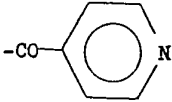
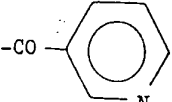
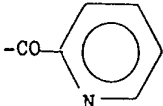
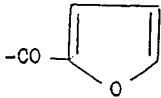
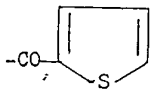
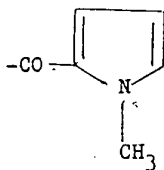
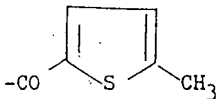
Analogickým způsobem jako v příkladu 4 se získají následující sloučeniny:

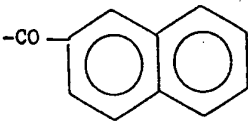
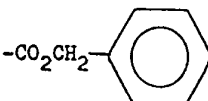
příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
5	-CO(CH ₂) ₆ CH ₃	106-107	Et ₂ O-MeOH	372 (MH ⁺)
6	-CO(CH ₂) ₇ CH ₃	produkt získán ve formě amorfního prášku		386 (MH ⁺)
7	-CO(CH ₂) ₁₄ CH ₃	65-66	MeOH	484 (MH ⁺)
8	-CO(CH ₂) ₁₆ CH ₃	65-66	MeOH	512 (MH ⁺)
9	-COCH(CH ₃) ₂	produkt získán ve formě amorfního prášku		316 (MH ⁺)
10	-COC(CH ₃) ₃	produkt získán ve formě amorfního prášku		330 (MH ⁺)
11	-CO- 	168-170	EtOAc-MeOH	314 (MH ⁺)
12	-CO- 	produkt získán ve formě amorfního prášku		356 (MH ⁺)

příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
13		produkt získán ve formě amorfního prášku		408 (MH ⁺)
14		produkt získán ve formě amorfního prášku		364 (MH ⁺)
15		169-171	EtOAc	376 (MH ⁺)
16		165-166	EtOAc	350 (MH ⁺)
17		158-159	MeOH	363 (M ⁺)
18		140-142	EtOH	364 (MH ⁺)
19		187-190	EtOH	364 (MH ⁺)

příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
20		143-145	EtOAc	386 (MH ⁺)
21		164-166	EtOAc	384 (MH ⁺)
22		182-184 (rozklad)	MeOH	384 (MH ⁺)
23		161-163	MeOH	368 (MH ⁺)
24		166-167	EtOAc	379 (M ⁺)
25		161-163	CH ₂ Cl ₂	380 (MH ⁺)

příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
26		153-156	MeOH	410 (MH ⁺)
27		159-161	CH ₂ Cl ₂ -MeOH	410 (MH ⁺)
28		207-210 (rozklad)	EtOH	410 (MH ⁺)
29		177-179	CH ₂ Cl ₂	395 (MH ⁺)
30		177-178	EtOAc	395 (MH ⁺)
31		193-194	MeOH	408 (MH ⁺)
32		155-158	MeOH	396 (MH ⁺)

příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
33		170-172	EtOH	351 (MH ⁺)
34		155-157	MeOH	351 (MH ⁺)
35		176-178	EtOH	351 (MH ⁺)
36		177-179	EtOH	340 (MH ⁺)
37		181-183	EtOH	356 (MH ⁺)
38		155-156	EtOAc	353 (MH ⁺)
39		171-175	MeOH	370 (MH ⁺)

příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
40		167-168	CH ₂ Cl ₂	400 (MH ⁺)
41	-CO ₂ (CH ₂) ₇ CH ₃	107-109	Et ₂ O	402 (MH ⁺)
42		150-151	MeOH	380 (MH ⁺)

Vysvětlivky k tabulkám:

Me: CH₃

Et: C₂H₅

Ac: CH₃CO

Příklad 43

735 mg 5'-deoxy-5-fluorcytidinu a 1,04 g anhydridu kyseliny máselné se rozpustí ve 20 ml 75% vodného dioxanu. Reakční směs se míchá 18 hodin při teplotě místnosti. Po odstranění rozpouštědla se zbytek čistí sloupcovou chromatografií za vzniku 420 mg bezbarvých krystalů N⁴-butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidinu o teplotě tání 156 až 157 °C.

Hmotové spektrum (MS): 316 (MH⁺).

Příklad 44

(1) 4,9 g 5'-deoxy-5-fluorcytidinu a 5,58 ml trimethylsilylchloridu se rozpustí v 50 ml absolutního pyridinu. Reakční směs se míchá 2 hodiny. K reakční směsi se potom přidá 2,09 ml ethylchlorothioformiátu. Po míchání směsi po dobu 2,5 hodiny se pyridin odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se potom rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Organická vrstva se promyje

vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a zahustí se za sníženého tlaku. Ke zbytku se přidá 5 g citronové kyseliny a 80 ml methanolu. Směs se míchá 1 hodinu. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se zbytek čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi methanolu a dichlormethanu jako elučního činidla. Po překrystalování z dichlormethanu se získá 2,66 g 5'-deoxy-N⁴-[(ethylthio)karbonyl]-5-fluorcytidinu o teplotě tání 138 až 139 °C (rozklad).

Hmotové spektrum (MS): 334 (MH⁺).

(2)(a) K míchanému roztoku 1 g 5'-deoxy-5-fluor-2',3'-O-isopropylidencytidinu, který byl získán postupem popsaným se srovnávacím příkladem b), v 8 ml pyridinu se přidá 365 μ l ethylesteru kyseliny chlorthiomravenčí při teplotě 0 °C a směs se míchá při teplotě místnosti přes noc. Reakční směs se zahustí za sníženého tlaku a zbytek se rozdělí mezi ethylacetát a vodu. Organická vrstva se promyje roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a vodou a vysuší se bezvodým síranem sodným. Po odstranění rozpouštědla se zbytek čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití chloroformu jako elučního činidla, přičemž se získá 510 mg 5'-deoxy-N⁴-[(ethylthio)karbonyl]-5-fluor-2',3'-O-isopropylidencytidinu.

Hmotové spektrum (MS): 347 (MH⁺).

(b) K roztoku 150 mg produktu z příkladu 44(2)(a) v 50% vodném ethanolu se přidá 150 mg iontoměničové pryskyřice (Dowex 50) v H⁺-cyklu a směs se za míchání zahřívá po dobu 4 hodin na teplotu 50 až 60 °C. Iontoměničová pryskyřice se odfiltruje a filtrát se zahustí k suchu za sníženého tlaku. Zbytek se čistí chromatografickým sloupcem silikagelu za použití směsi chloroformu a acetonu jako elučního činidla. Překrystalováním z dichlormethanu se získá 5'-deoxy-N⁴-[(ethylthio)karbonyl]-5-fluorcytidin o teplotě tání 138 až 139 °C (rozklad).

Hmotové spektrum (MS): 335 (MH⁺).

Analogickým postupem jako je popsán v příkladu 44 (1) se získají následující součiny:

příklad č.	R	teplota tání (°C)	po překrystalování z	MS
45	-COCH ₂ CH ₃	119-120	EtOAc-Et ₂ O	302 (MH ⁺)
46	-CO(CH ₂) ₃ CH ₃	150-151	EtOAc	330 (MH ⁺)
47	-COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	142-143	EtOAc	330 (MH ⁺)

Příklad 48

Roztok 0,42 g piperonylové kyseliny v 5 ml absolutního acetonu, který obsahuje 0,36 ml triethylaminu, se nechá reagovat po dobu 1 hodiny s 0,37 ml diethylchlorfosfátu. K reakční směsi se přidá 1,0 g bis-O-(terc.butyl(dimethylsilyl))-5'-deoxy-5-fluorcytidinu, získaného postupem popsaným ve srovnávacím příkladu a), 0,36 ml triethylaminu a 0,05 g 4-dimethylaminopyridinu. Reakční směs se míchá 12 hodin při teplotě místnosti, acetonitril se odpaří za sníženého tlaku a zbytek se rozdělí mezi vodu a ether. Organická vrstva se promyje vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a zahustí se za sníženého tlaku. Získaný prášek se rozpustí v 6,3 ml tetrahydrofuranu obsahujícím 1,65 g tetrabutylamoniumfluoridu a reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku

se zbytek čistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi isopropylalkoholu a dichlormethanu. Po překrystalování z ethylacetátu se získá 0,5 g 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-piperonyloylcytidinu o teplotě tání 124 až 125 °C.

Hmotové spektrum (MS): 394 (MH⁺).

Analogickým způsobem jako je popsán v příkladu 48 se získá následující sloučenina:

příklad č.	R	teplota tání (°C)	po překrys- talování z	MS
49	-COCH ₂ CH=CH ₂	137-138	EtOAc	314 (MH ⁺)

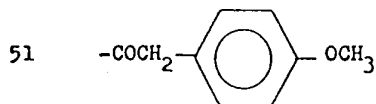
Příklad 50

0,355 g kyseliny α -furankarboxylové a 0,96 g 2,4,6-triisopropylbenzensulfonylchloridu se rozpustí v 5 ml absolutního pyridinu. Reakční směs se míchá po dobu 1 hodiny. Ke směsi se pak přidá 1,0 g 2',3'-bis-O-(terc.butyl dimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinu, získaného podle srovnávacího příkladu a), a 0,80 g 4-dimethylaminopyridinu. Reakční směs se míchá 12 hodin při teplotě místnosti a potom se pyridin odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se potom zpracuje stejně jako v příkladu 48, přičemž se získá 0,55 g 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-furoyl)cytidinu o teplotě tání 173 až 174 °C (z ethanolu).

Hmotnostní spektrum (MS): 340 (MH⁺).

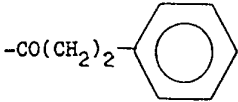
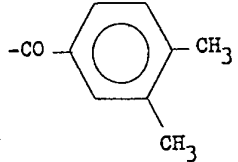
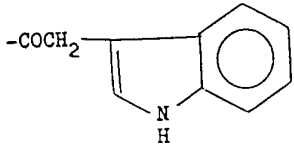
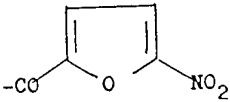
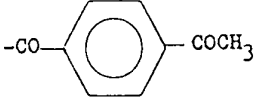
Analogickým způsobem jako je popsán v příkladu 50 se získají následující sloučeniny.

příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
------------------	---	----------------------	----------------------------------	---------------------



produkt získán ve formě
amorfního prášku

394 (MH⁺)

příklad číslo	R	teplota tání (°C)	překrystalován z rozpouštědla	hmotové spektrum
52		146-148	EtOH	378 (MH ⁺)
53		161-162	EtOH	378 (MH ⁺)
54		produkt získán ve formě amorfního prášku		403 (MH ⁺)
55		162-163	EtOH	385 (MH ⁺)
56		176-178	EtOAc	392 (MH ⁺)

Příklad 57

(a) K míchanému roztoku 24,6 g 5'-deoxy-5-fluoruridinu ve 150 ml absolutního pyridinu se během 10 minut přikape 24,5 ml benzoylchloridu při teplotě 0 °C a směs se míchá po dobu 5 hodin při teplotě místnosti. Po odpaření pyridinu za sníženého tlaku se zbytek rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Organická vrstva se promyje nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a zahustí se za sníženého tlaku. Zbytek se překrystaluje ze směsi ethylacetátu a n-hexanu. Získá se 38,9 g 2',3'-di-O-benzoyl-5'-deoxy-5-fluoruridinu.

MS: 455 (MH⁺).

(b) Ke směsi 0,8 ml N-methylimidazolu a 0,28 ml fosforylchloridu ve 20 ml acetonitrilu se přidá 500 mg 2',3'-di-O-benzoyl-5'-deoxy-5-fluoruridinu, získaného podle odstavce (a)), při teplotě 0 °C. Reakční směs se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti a potom se ke směsi při teplotě 0 °C přidá 2,5 ml 28% hydroxidu amonného, a směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti. Acetonitril a amoniak se odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se okyslí 1N roztokem chlorovodíkové kyseliny a potom se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, vysuší se bezvodým síranem sodným a zahustí se za sníženého tlaku. Zbytek se překrystaluje z ethylacetátu, přičemž se získá 155 mg 2',3'-di-O-benzoyl-5'-deoxy-5-fluorocytidinu o teplotě tání 192 až 194 °C.

MS: 476 (M + Na)⁺.

Příklad 58

(a) K 0,57 ml acetanhydridu, který byl ochlazen ledem, se přikape 286 µl 99% mravenčí kyseliny. Roztok se míchá 15 minut při teplotě 0 °C a 50 minut při teplotě 50 °C, načež se ochladí na teplotu 0 °C. K roztoku se pak přidá 473 mg 2',3'-bis-O-(terc.butyl-dimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluorocytidinu, který byl získán podle srovnávacího příkladu a), v 5 ml absolutního pyridinu při teplotě 0 °C. Reakční směs se míchá 10 minut při teplotě 0 °C a potom 26 hodin při teplotě místnosti. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se zbytek rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Organická vrstva se promyje nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a vodou a vysuší se bezvodým síranem sodným. Ethylacetát se odpaří za sníženého tlaku a zbytek se čistí sloupcovou chromatografií za použití směsi n-hexanu a ethylacetátu jako elučního činidla. Po překrystalování ze směsi n-hexanu a ethylacetátu se získá 144 g 2',3'-bis-O-(terc.butyl-dimethylsilyl)-5'-deoxy-5-fluor-N⁴-formylcytidinu o teplotě tání 188 °C (rozklad).

MS: 502 (MH⁺).

(b) Produkt z příkladu 58(a) se nechá reagovat analogickým způsobem jako v příkladu 1 (b), přičemž se získá amorfní prášek 5'-deoxy-5-fluor-N⁴-formylcytidinu.

MS: 274 (MH⁺).

Příklad 59

245 mg 5'-deoxy-5-fluorocytidinu se rozpustí v 5 ml absolutního pyridinu. K získanému roztoku se za míchání při teplotě 0 °C přidá 130 µl benzoylchloridu. Reakční směs se míchá 1 hodinu při teplotě 0 °C. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se zbytek čistí chromatografickým na sloupci silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu jako elučního činidla. Po překrystalování z ethylacetátu se získají bezbarvé krystaly 3'-O-benzoyl-5'-deoxy-5-fluorocytidinu. Výtěžek 51 mg.

Teplota tání 127 až 129 °C.

MS: 350 (MH⁺).

Příklad 60

35 mg produktu z příkladu 59 se rozpustí v 0,5 ml absolutního pyridinu. K získanému roztoku se přidá 13,8 µl trimethylsilylchloridu. Reakční směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti a pak se k ní přidá 12,6 µl benzoylchloridu. Reakční směs se míchá 1 hodinu.

Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se zbytek rozpustí v 0,5 ml absolutního methanolu. K roztoku se přidá 15 mg uhličitanu draselného a reakční směs se míchá 30 minut při teplotě 0 °C. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se zbytek rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Organická vrstva se vysuší bezvodým síranem hořečnatým a zahustí se za sníženého tlaku. Zbytek se čistí chromatografickým na sloupci silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu. Získá se 15 mg amorfního prášku N⁴,3'-O-dibenzyl-5'-deoxy-5-fluorcytidinu.

MS: 454 (MH⁺).

Příklad 61

245 mg 5'-deoxy-5-fluorcytidinu, 400 µl benzoylchloridu a 122 mg 4-dimethylamino-pyridinu se rozpustí v 5 ml absolutního pyridinu. Reakční směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti a potom se pyridin odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se rozdělí mezi ethylacetát a vodu. Ethylacetátová vrstva se vysuší síranem hořečnatým a zahustí se za sníženého tlaku. Zbytek se překrystaluje z methanolu. Získá se 280 mg N⁴,2'-O,3'-O-tri-benzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidinu o teplotě tání 158 až 160 °C.

MS: 558 (MH⁺).

Následující příklady ilustrují farmaceutické přípravky obsahující sloučeninu získanou podle předloženého vynálezu.

Příklad A

Želatinové kapsle, z nichž každá obsahuje dále uvedené složky, se připravují o sobě známým způsobem z těchto složek:

N ⁴ -butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidin	100 mg
kukuřičný škrob	20 mg
oxid titaničitý	385 mg
hořečnatá sůl kyseliny stearové	5 mg
filmotvorná složka	20 mg
polyethylenglykol (PEG 6000)	3 mg
mastek	10 mg
celková hmotnost	543 mg

Příklad B

Tablety, z nichž každá obsahuje dále uvedené složky, se připravují o sobě známým způsobem z těchto složek:

N ⁴ -butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidin	100 mg
laktóza	25 mg
kukuřičný škrob	20,2 mg
hydroxypropylmethylcelulosa	4 mg
hořečnatá sůl kyseliny stearové	0,8 mg
filmotvorná složka	10 mg
PEG 6000	1,5 mg
mastek	4,5 mg
celková hmotnost	166 mg

Příklad C

Suché dávkovací formy určené pro parenterální aplikaci se připravují o sobě známým způsobem:

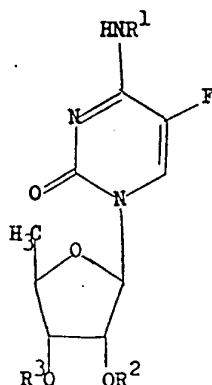
(1) Celkem 5 g N^4 -butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidinu se rozpustí v 75 ml destilované vody, načež se roztok podrobí bakteriologické filtraci a potom se rozdělí za aseptických podmínek do 10 sterilních ampulí. Roztok se pak vysuší vymrazením, přičemž každá ampule obsahuje 500 mg sterilní suché pevné látky.

(2) 500 mg čistého N^4 -butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidinu na 1 lahvičku nebo ampuli se pevně uzavře do ochranného obalu a za horka se steriluje.

Shora uvedené suché dávkovací formy se rekonstituují před použitím přidáním vodného sterilního rozpouštědla, jako vody pro injekční účely nebo isotonického chloridu sodného nebo 5% dextrosy za účelem parenterální aplikace.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby nových derivátů 5'-deoxy-5-fluorcytidinu obecného vzorce I

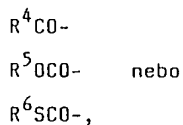


(I),

ve kterém

R^1 , R^2 a R^3 znamenají nezávisle na sobě atom vodíku nebo skupinu, která je za fyziologických podmínek snadno hydrolyzovatelná s tím, že alespoň jeden ze substituentů R^1 , R^2 a R^3 znamená skupinu, která je za fyziologických podmínek snadno hydrolyzovatelná,

přičemž se "skupinou, která je snadno hydrolyzovatelná za fyziologických podmínek" ve významu symbolu R^1 , R^2 a R^3 v obecném vzorci I rozumí skupina

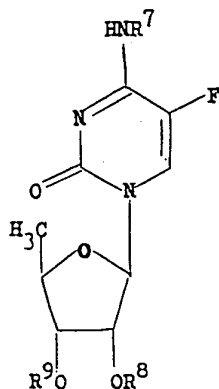


kde

R^4 znamená atom vodíku,
 alkylovou skupinu s 1 až 17 atomy uhlíku,
 cykloalkylovou skupinu s až 10 atomy uhlíku,
 alkenylovou skupinu s až 8 atomy uhlíku,
 aralkylovou skupinu s až 9 atomy uhlíku nebo
 arylovou skupinu s až 10 atomy uhlíku, a

R^5 a R^6 znamenají alkylové skupiny s až 8 atomy uhlíku
 nebo aralkylovou skupinu s až 7 atomy uhlíku,

jakož i hydrátů nebo solvátů sloučenin obecného vzorce I, vyznačující se tím, že se na
 sloučeninu obecného vzorce II



(II),

ve kterém

R^7 znamená atom vodíku nebo chránicí skupinu aminoskupiny,

R^8 a R^9 znamenají nezávisle na sobě atom vodíku nebo chránicí skupinu hydroxylové
 skupiny, nebo

R^8 a R^9 mohou také společně tvořit cyklickou chránicí skupinu hydroxylových skupin,
 působí sloučeninou obecného vzorce III



(III),

ve kterém

X znamená buď odštěpitelnou skupinu a

R^4 má stejný význam jako substituent R^4 uvedený shora nebo

X znamená atom halogenu a

R^4 znamená skupinu vzorce

R^5O- nebo R^6S- ,

příčemž

R^5 a R^6 mají shora uvedené významy,

načež se popřípadě odštěpí chránicí skupina aminoskupiny nebo hydroxyskupiny a získaná sloučenina vzorce I se izoluje jako taková nebo ve formě hydrátu nebo solvátu.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky používají odpovídající sloučeniny obecných vzorců II a III za vzniku derivátů 5'-deoxy-5-fluorcytidinu zvolených ze skupiny, která je tvořena

N⁴-butyryl-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-isovalerylcytidinem a
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3,4,5-trimethoxybenzoyl)cytidinem.

3. Způsob podle bodu 1 nebo 2, vyznačující se tím, že se jako výchozí látky používají odpovídající sloučeniny obecného vzorce II a III za vzniku derivátů 5'-deoxy-5-fluorcytidinu zvolených ze skupiny, která je tvořena

5'-deoxy-5-fluor-N⁴-oktadekanoylcytidinem,
N⁴-cyklopropankarbonyl-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
N⁴-cyklohexankarbonyl-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
N⁴-(1-adamantankarbonyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-methoxybenzoyl)cytidinem,
5'-deoxy-N⁴-(2,4-dimethoxybenzoyl)-5-fluorcytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-piperonyloylcytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(4-fluorbenzoyl)cytidinem,
N⁴-(2-chlorbenzoyl)-5-deoxy-5-fluorcytidinem,
N⁴-(3-chlorbenzoyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-nitrobenzoyl)cytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-[4-(methylthio)benzoyl]cytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(2-naftoyl)cytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-furoyl)cytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(3-fenylpropionyl)cytidinem,
N⁴-cinnamoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
2',3'-di-O-benzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
N⁴,2'-O,3'-O-tribenzoyl-5'-deoxy-5-fluorcytidinem,
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-(oktyloxykarbonyl)cytidinem,
N⁴-(benzyloxykarbonyl)-5'-deoxy-5-fluorcytidinem a
5'-deoxy-5-fluor-N⁴-formylcytidinem.