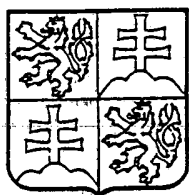


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(21) 00096-92

(13) A3

5(51) C 07 H 19/067

(22) 14.01.92

(32) 15.01.91

(31) 91/641213

(33) US

(40) 12.08.92

(71) American Cyanamid Company, Stamford, Connecticut, US

(72) D'Antuono Joseph III, Three Bridges, New Jersey, US; Boop Donald Carl, Bloomsbury, New Jersey, US; Clauss Steven L., Manville, New Jersey, US; Considine John Leo Jr., Bridgewater, New Jersey, US; Padmanathan Thurai Rajah, Piscataway, New Jersey, US; Rizzo Carl J., Whitehouse Station, New Jersey, US; Andrade John Robert, Bound Brook, New Jersey, US;

(54) Způsob přípravy 3-fluorpyrimidinových nukleosidů

(57) Zlepšený způsob syntézy 3'-fluorpyrimidinových nukleosidů vzorce I reakcí 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-2,3'-anhydropyrimidinového nukleosidu o koncentraci až 20 % s fluorovodíkem v přítomnosti vhodné hlinité sloučeniny, načež se 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorpyrimidinový nukleosidový meziprodukt získá přímou krystalizací a 5'-methansulfonylová ochranná skupina se odstraní v jednom stupni reakcí s vodným roztokem báze.

96-92

002097	00310	14. 1 92	ÚRAD PRO VÝZKUMY A OBJEVY	Příl.
--------	-------	----------	---------------------------------	-------

Způsob přípravy 3'-fluorpyrimidinových nukleosidů

Oblast techniky

Vynález se týká nového postupu syntézy 3'-fluorpyrimidinových nukleosidů, zejména 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu /FLT/, z odpovídajících pyrimidinových nukleosidů, jako je thymidin.

Dosavadní stav techniky

Syndrom získané imunodeficiency /AIDS/, uznávaný jako systemická imunosupresivní porucha, je infekční choroba, způsobovaná retrovirem, nazývaným virus lidské imunodeficiency /HIV/. Jelikož je HIV retrovirus, zdá se, že selektivním cílem pro antivirální prostředky by měla být virová reverzní transkriptáza. V důsledku toho byly popsány různé inhibitory reverzní transkriptázy, účinné proti replikaci HIV in vitro i in vivo.

Zejména u 2',3'-dideoxyribonukleosidů jako inhibitorů reverzní transkriptázy byla zaznamenána významná inhibiční aktivita proti HIV in vitro /R. Dagan, Chem. and Eng. News, 41-49, 23.11.1987, E. De Clercq, A. Van Aerschot, P. Herdewijn, M. Baba, R. Pauwels a J. Balzarini, Nucleosides and Nucleotides, 8 /5 a 6/, 659-671, 1989, A. Van Aerschot, P. Herdewijn, J. Balzarini, R. Pauwels a E. De Clercq, J. Med. Chem. 32, 1743-1749, 1989.

Z popsaných 2',3'-dideoxyribonukleosidových produktů vykazují selektivní anti-HIV aktivitu zejména 3'-azido-2',3'-dideoxythymidin /AZT/ a 3'-deoxy-3'-fluorthymidin /uváděný také jako 2',3'-dideoxy-3'-fluorthymidin, FLT/. 3'-azido-2',3'-dideoxythymidin /AZT/ je obchodně dostupný jako účinný inhibitor cytopatogenicity, vyvolané HIV. Pro 3'-deoxy-3'-fluorthymidin je však uváděna ještě vyšší aktivita než pro AZT /Bal-

zarini, J., et al., Biochem. Pharmacol. 1988, 37, 2847, P. Herdewijn, J. Med. Chem. 30, 1270-1278, 1987/. 3'-deoxy-3'-fluorthymidin /FLT/ a další 2'- nebo 3'-fluorsubstituované deoxynukleotidy jsou tedy zvláště zajímavé jako možné prostředky pro léčbu AIDS.

3'-deoxy-3'-fluorthymidin /FLT/ byl připraven Langenem et al. několika různými cestami. První z těchto syntetických cest spočívá ve vytvoření 2,3'-anhydroderivátu thymidinu a jeho reakci s HF v přítomnosti fluoridu hlinitého nebo s KHF_2 nebo NH_4F /Tetrahedron 27, 1971, str. 2463-2472, patent US 3775397/. Druhá z těchto cest zahrnuje tvorbu 3'-methansulfonylthymidinu, který pak reaguje s KHF_2 nebo NH_4F na požadovaný produkt /patent US 3775397/. Třetí metoda spočívá v tvorbě 5'-chráněného 2,3'-anhydronukleosidového derivátu thymidinu a jeho reakci s HF v přítomnosti fluoridu hlinitého s následujícím dvou nebo třístupňovým odstraněním 5'-chránicí skupiny /Nucleic Acid Chemistry, část 1, John Wiley and Sons, 1978, str. 299-302, red. Townsend a Tipson, J. Prakt. Chem. 315, str. 895-900, 1973, patent DD 103241, 12.1.1974, Etzold et al./.

Jiné blízké příbuzné sloučeniny byly fluorovány s použitím trifluoridu diethylaminosíry /DAST/ /A. Van Aerschat et al., J. Med. Chem. 32, str. 1743-1749, 1989/.

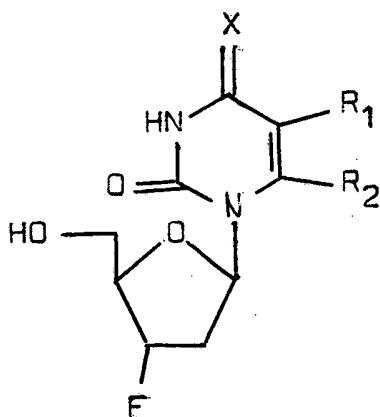
Nedávný objev účinnosti FLT jako prostředku proti HIV vyvolal potřebu nalézt způsob, umožňující tuto sloučeninu připravovat ekonomicky a efektivně ve velkém měřítku. Všechny dosavadní postupy syntézy FLT jsou však laboratorní a nevhodné pro výrobu sloučeniny ve velkém měřítku.

Langenův postup výroby FLT přímo z 2,3'-anhydroderivátu thymidinu nebo derivátu 3'-methansulfonylthymidinu poskytuje velmi špatné výtěžky s intenzivním rozkladem na thymidin. Alternativní Langenův postup pro výrobu FLT z 5'-chráněného 2,3'-anhydroderivátu nukleosidu není způsobem, popsaným Langenem, aplikovatelný pro velké měřítko. Produktivita tvorby

anhydroderivátu i fluoračních reakcí je velmi nízká, tzn. vzhledem k množství rozpouštědel a reagujících látek je nutná nízká koncentrace substrátu. Fluorace kromě toho vyžaduje pro izolaci čistého produktu chromatografii a odpaření do sucha, což není ve velkém měřítku praktické ani žádoucí. Navíc odstranění 5'-chránicí skupiny vyžaduje složitý dvou nebo tří-stupňový postup, při němž vzniká acetylderivát, a zahrnuje organická rozpouštědla, chromatografii a odpařování do sucha, což všechno není ve velkém měřítku praktické ani žádoucí.

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je zlepšený způsob výroby 2',3'-di-deoxy-3'-fluorpyrimidinových nukleosidů vzorce I



/I/

kde X je kyslík nebo síra a R₁ a R₂ mohou být stejné nebo různé a jsou vybrány ze souboru zahrnujícího vodík, nižší alkyl, halogen, substituovaný nižší alkyl a skupinu OH nebo SH, který je použitelný ve velkém měřítku a umožňuje snadno reprodukovatelným způsobem získat produkt ve vysokém výtěžku. Tento způsob umožňuje přímou krystalizaci meziproduktů z reakčního prostředí a jeho celková provozní jednoduchost jej činí velmi vhodným pro výrobu ve velkém měřítku. Výraz "nižší alkyl" označuje alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy.

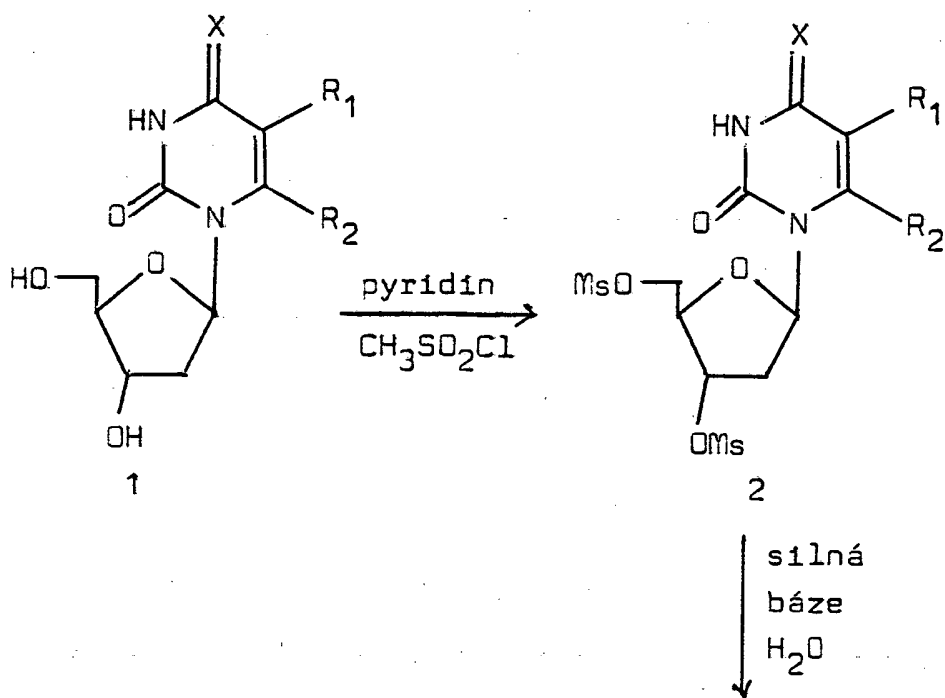
Výraz "substituovaný nižší alkyl" označuje alkylovou skupinu s 1 až 4 uhlíkovými atomy, kde substituentem je halogen nebo hydroxyskupina.

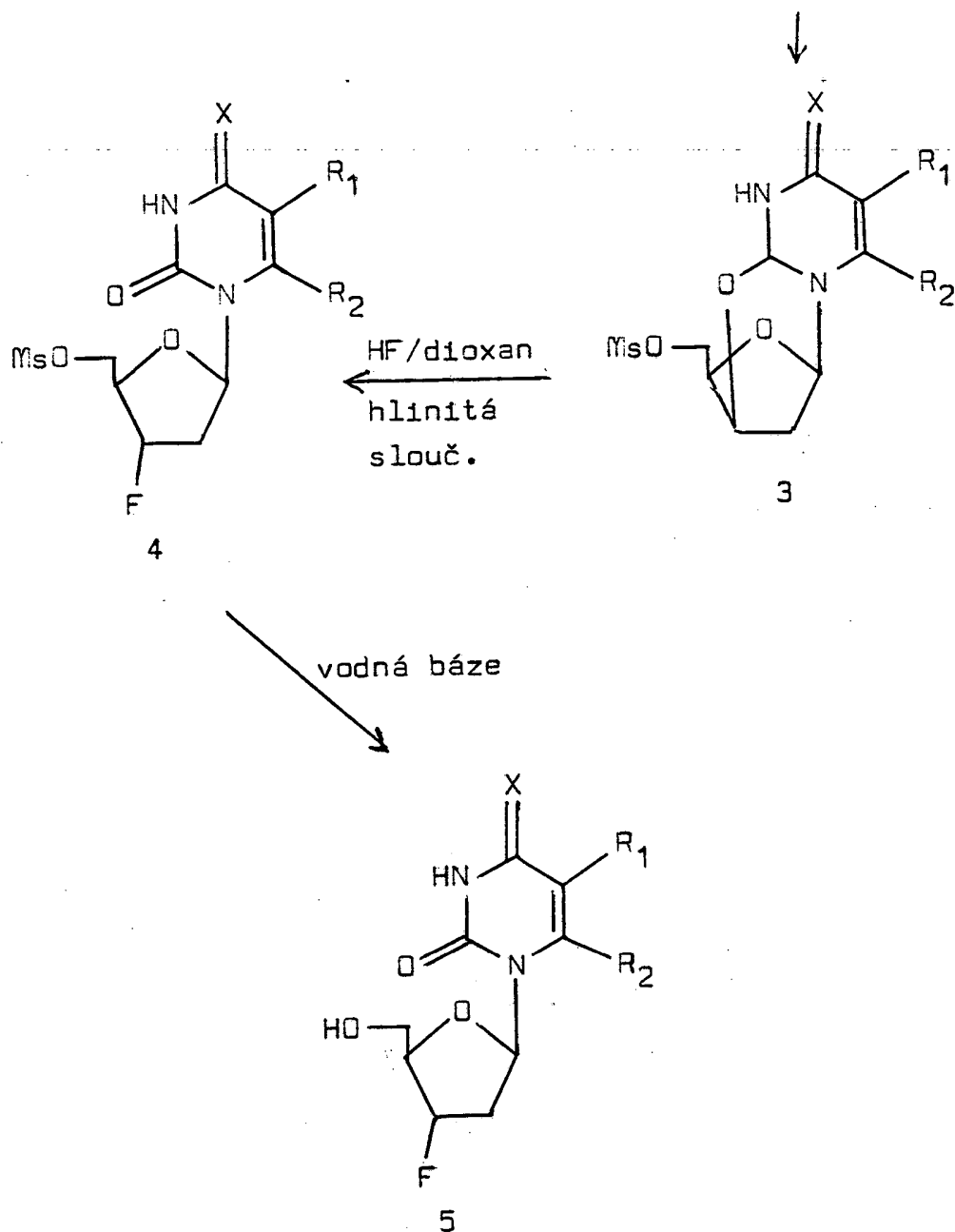
Konkrétně je jedním předmětem vynálezu zlepšený způsob převádění 5'-methansulfonyl-2'-deoxy-2,3'-anhydrothymidinu na 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorthymidinu zahříváním suspenze anhydrosloučeniny s HF v přítomnosti vhodné hlinité sloučeniny ve vhodném rozpouštědle, kde koncentrace anhydrosloučeniny je 2 až 20 %.

Předmětem vynálezu je rovněž nový jednostupňový postup pro odstraňování 5'-methansulfonylové chránicí skupiny z nukleosidu reakcí chráněného nukleosidu s vodným roztokem báze, okyselením, zahuštěním ke snížení objemu a oddělením produktu filtrací.

Způsob přípravy 3'-fluorpyrimidinových nukleosidů vzorce I je možno výhodně znázornit schematem I.

Schema I





Vynález se týká zlepšeného způsobu přípravy 3'-fluorpyrimidinových nukleosidů vzorce I z odpovídajících pyrimidinových nukleosidů. Konkrétně se vynález týká zlepšeného způsobu přípravy 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu /FLT/ /vzorec 5, kde X je O, R₁ je CH₃, R₂ je H/ z thymidinu /vzorec 1, kde X je O, R₁ je CH₃, R₂ je H/.

Další popis se vztahuje na thymidin /vzorec 1, kde R_1 je CH_3 , R_2 je H a X je O/, avšak je třeba ho chápat tak, že thymidin v reakčním schematu I může být nahrazen jakoukoli substituovanou pyrimidinovou nukleosidovou sloučeninou vzorce 1.

Podle vynálezu se 2',3'-dideoxy-3'-fluornukleosidy vzorce 5 připravují zlepšeným postupem, znázorněným na schematu I, takto:

a/ thymidinová sloučenina vzorce 1 se převede na reaktivní 3',5'-dimethansulfonylový meziprodukt vzorce 2 rozpuštěním thymidinu v pyridinu, ochlazením na 0 až 5 °C, přidavkem methansulfonylchloridu, umožněním ohřátí na 20 až 30 °C, ochlazením, přidavkem vody a izolací 3',5'-dimethansulfonylové sloučeniny filtrací,

b/ vodný roztok 3',5'-dimethansulfonylové sloučeniny o koncentraci asi 25 % se nechá reagovat s přijatelnou silnou bází, zahřeje se na teplotu asi 50 až 55 °C, ochladí a pevná 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinová sloučenina 3 se oddělí filtrací,

c/ 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinová sloučenina 3 se převede na 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinovou sloučeninu 4 tak, že se suspenze sloučeniny 3 o koncentraci 2 až 20 % zahřívá s HF v přítomnosti vhodné hlinité sloučeniny na teplotu asi 55 až 115 °C a 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinová sloučenina 4 se z reakční směsi získá bez chromatografie zchlazením reakční směsi vodou a uhličitanelem vápenatým, filtrací, zahuštěním směsi ke snížení objemu a odfiltrováním pevného produktu,

d/ a pak se 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinová sloučenina 4 nechá reagovat s vodným roztokem báze, okyselí se, zahustí ke snížení objemu a 3'-deoxy-3'-fluorthymidinová sloučenina 5 se odfiltruje.

Vynálezecká činnost ve způsobu podle vynálezu spočívá

ve volbě a zpracování reagujících složek, meziproductů a productů způsobem, který umožňuje vyrábět 3'-deoxy-3'-fluorthymidin v kilogramových množstvích s použitím velkoprovozního výrobního zařízení. Postup je jednoduchý, účinný a nevyžaduje neobvyklé nebo zvlášť nebezpečné suroviny nebo podmínky.

Zlepšení v prvním stupni, zahrnujícím konverzi thymidinu 1 na 3',5'-dimethansulfonylthymidin 2, spočívá v použitých reakčních podmínkách. Původci zjistili, že dobu reakce je možno snížit z více než 18 h na asi 1 h zvýšením reakční teploty na 20 až 40 °C oproti 5 °C, používaným v dosavadním stavu techniky. Thymidinová sloučenina 1 se výhodně rozpouští v bazickém organickém rozpouštědle, jako je pyridin, výhodně při 0 až 5 °C, a za zvýšení teploty na 20 až 40 °C se přidává methansulfonylchlorid v molárním poměru 3 : 1. Reakční směs se při asi 20 až 40 °C míchá asi 1 h. Odpovídajících vysokých výtěžků sloučeniny 2 se dosáhne ochlazením, zředěním směsi vodou, odfiltrováním produktu a vysušením získané pevné látky bez nutnosti dalšího čištění.

Způsob přípravy methansulfonylanhydroderivátu 3 ze 3',5'-dimethansulfonylthymidinové sloučeniny 2 je obecně známý. Způsob podle vynálezu je však vhodnější pro průvozní měřítko, poněvadž umožňuje použití větší koncentrace substrátu, a tedy zvýšení produktivity reakce. Tvorba anhydrosloučeniny kromě toho probíhá ve vodě a odpadá nutnost použití organických rozpouštědel. Navíc produkt krystaluje přímo z roztoku. Výhodně se sloučenina 2 rozpustí v koncentraci až 25 % ve vodném roztoku přijatelné báze, jako je 50% vodný roztok hydroxidu sodného, zahřeje na 50 až 55 °C, ochladí a sloučenina 3 se odflitruje. Případným mícháním sloučeniny 3 s methanolem v koncentraci 0,2 g/ml se dosáhne výtěžku alespoň 97 % a HPLC čistoty alespoň 99 %. Původci překvapivě zjistili, že provádí-li se reakce ve vodě při 50 až 55 °C, je možno použít vyšší koncentrace /25 % oproti 1 až 2 %/ sloučeniny 2 bez nebez-

bečí významné tvorby 3',5'-anhydrothymidinu nebo jiných vedlejších produktů.

Způsob podle vynálezu rovněž umožňuje zlepšení přípravy sloučeniny 4 ze sloučeniny 3. Způsob podle vynálezu je vhodnější pro provozní měřítko a umožňuje produkci vysokých výťažků relativně čistého produktu. Zlepšení v tomto stupni spočívá jak v podmínkách fluorace, tak v izolaci 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinového produktu. Před vynálezem se odborníci domnívali, že při použití HF jako fluoračního činidla je nutno používat velmi nízké koncentrace /0,5 %/ 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinu jako substrátu, poněvadž vyšší koncentrace substrátu by vedla k tvorbě 3',5'-dimethasulfonylthymidinu jako vedlejšího produktu. Na druhé straně se mělo za to, že zvýšení koncentrace HF by vedlo k odštěpení nukleosidu od báze a ke vzniku thymidinu jako vedlejšího produktu. Původci zjistili, že pokud se použije kritická koncentrace substrát/HF, je možno použít koncentrace substrátu 30 až 40krát vyšší než podle dosavadního stavu a dosáhnout tak úměrného zvýšení produktivity reakce. Použije-li se při reakci fluorid hlinitý, je kritický molární poměr substrátu k HF 1 : 2.

Podle vynálezu se suspenze 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinu 3 jako substrátu o koncentraci 2 až 20 % ve vhodném rozpouštědle zahřívá na teplotu 55 až 115 °C v přítomnosti vhodné hlinité sloučeniny a HF. Výhodně se HF předem rozpustí ve vhodném inertním rozpouštědle v koncentraci do 20 %.

Jako hlinitá sloučenina může být použit suchý fluorid hlinitý. Obchodně dostupný "bezvodý" fluorid hlinitý je obvykle nevhodný, poněvadž poskytuje neodpovídající výsledky. Nejlepších výsledků se dosáhne, jestliže se hydrát nebo trihydrát fluoridu hlinitého před přidáním k reakční směsi suší ve vzduchové sušárně s nuceným oběhem při teplotě 120 až 180 °C do úbytku hmotnosti 25 až 35 %.

Výhodně se jako hlinitá sloučenina použije substituovaná organohlinitá sloučenina, například aluminiumisopropoxid, trihexylaluminium, diethylaluminiumfluorid a aluminiumacetylacetonát. Přednostně se používá aluminiumacetylacetonát v molárním poměru 1,0 až 3,0, vztaženo na substrát. V případě, že se v reakční směsi použije substituovaná organohlinitá sloučenina, jako je aluminiumacetylacetonát, zvýší se koncentrace HF tak, aby na každý mol substrátu bylo přítomno 4 až 6 mol fluoridových iontů.

Ve výhodném provedení se do reakční směsi přidává anorganický hydrofluorid alkalického kovu vzorce MHF_2 , kde M je NH_4 , K, Na nebo Li. Například se použije výše popsaná substituovaná organohlinitá sloučenina, jako je aluminiumacetylacetonát, v molárním poměru 1,0 až 3,0 k substrátu a 0,2 až 4 molární díly hydrofluoridu alkalického kovu v poměru 4 až 6 molárních dílů fluorovodíku. V konkrétním provedení je hydrofluoridem alkalického kovu hydrogendifluorid amonný v množství 0,5 až 1,0 molárního ekvivalentu.

Jak výše uvedeno, provádí se fluorační reakce v inertním rozpouštědle. Vhodnými inertními rozpouštědly jsou tetrahydrofuran, aceton, dioxan, chloroform, dichlormethan, ether, nitrobenzen, dimethylsulfoxid, 1,2-dichlorethan, 1,2-dimethoxyethan, toluen a acetonitril a/nebo jakákoli jejich kombinace. Výhodně se jako rozpouštědlo použije dioxan.

Zlepšení způsobu přípravy 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinové sloučeniny 4 spočívá rovněž v izolaci fluorovaného chráněného nukleosidu. Podle zlepšeného postupu se izoluje čistý produkt jako filtrovatelná pevná látka, poněvadž krystaluje přímo z roztoku a k dosažení vysoké čistoty není nutno používat chromatografii. Postup navíc nevyžaduje odpařování do sucha, které není v průmyslovém měřítku praktické ani žádoucí.

Po reakci 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinové

sloučeniny 3 s fluorační směsí HF/hlinitá sloučenina při 55 až 115 °C se reakční směs ochladí na teplotu místnosti a přelije suspenzí vody a uhličitanu vápenatého. Suspenze se míchá, pak přefiltruje, promyje acetonem nebo vodou a spojené filtry se zahustí ke snížení objemu. Čistý 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinový produkt 4 se pak získá z reakční směsi filtrací. Získává se tak vysoce čistý produkt /podle HPLC $\geq$ 95 %/ bez nutnosti chromatografie, poněvadž produkt krystaluje přímo z roztoku.

V konečném stupni reakce, v němž se ze 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinové sloučeniny 4 odstraňuje 5'-methansulfonylová chránicí skupina za vzniku finálního 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu 5, poskytuje zlepšení podle vynálezu jednoduchý jednostupňový postup odstranění chránicí skupiny. V dosažitelném stavu techniky je popsán pouze složitý dvoustupňový postup, při němž je nejprve sloučenina 4 acylována acetanhydridem a produkt pak štěpen směsí alkohol/amoniak. Produkt se čistí chromatografií. Naproti tomu zlepšený postup podle vynálezu je vhodnější pro provozní měřítko a pro dosažení vysokého výtěžku relativně čistého produktu. Přeměna se uskutečňuje v jednom stupni bez potřeby organických rozpouštědel a chromatografie k čištění. Přímá konverze sloučeniny 4 na sloučeninu 5 je unikátní a překvapivě nevede k nezanedbatelným množstvím eliminačních nebo jiných vedlejších produktů. Navíc jednostupňový postup vede k lepšímu výtěžku izolovaného produktu, vyššímu než 70 %, oproti asi 40% výtěžku produktu, izolovaného po vícestupňových známých postupech. Odstraňování methansulfonylové chránicí skupiny se nejlépe provádí jednoduše a přímo bez použití organických rozpouštědel mícháním sloučeniny 4 s roztoky vodných bází, jako je hydroxid nebo uhličitan alkalického kovu, okyselením, zahuštěním ke snížení objemu a oddělením produktu filtrací. Sloučenina 4 může například reagovat s hydroxidem draselným nebo draselným po dobu 1,5 až 5 h při 55 až 95 °C, výhodně 60 až 70 °C. Úpravou pH vodnou ky-

selinou octovou na 4 až 5, částečným zahuštěním, ochlazením a filtrací se získá 3'-deoxy-3'-fluorthymidin /FLT, 5/ ve výtěžku až 77 % a s čistotou podle HPLC alespoň 98 %. Jak potvrzuje HPLC analýza, probíhá demesy lace s konverzí vyšší než 90 %. Mezi vhodné vodné roztoky bází patří vodné hydroxidy alkalických kovů, jako je hydroxid sodný, hydroxid draselný, hydroxid amonný, hydroxid lithný, hydroxid tetraalkylamonný apod. Vhodné jsou rovněž odpovídající uhličitany.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

3',5'-dimethansulfonylthymidin

Míchaná směs 4,13 kg thymidinu a 19,2 l pyridinu se ochladí na 0 až 5 °C a přidá se 5,9 kg methansulfonylchloridu rychlostí, umožňující vzestup teploty na 20 až 30 °C. Po další hodině míchání se směs ochladí na 0 až 5 °C a přidá se 29,4 l vody, přičemž se teplota nechá stoupnout na 20 až 30 °C. Směs se pak ochladí na 0 až 5 °C a míchá 15 až 30 min. Získaná pevná látka se odfiltruje a koláč se promyje 17 l vody. Pevná látka se suší při teplotě místnosti v sušárně s nuceným oběhem vzduchu a získá se 6,526 kg požadovaného produktu ve formě pevné látky o teplotě tání 162,2 až 164,9 °C.

^1H NMR / d_6 -DMSO/ δ 11,40/s,1H/, 7,52/s,1H/, 6,23/t,J=7,07Hz,1H/, 5,31/m,1H/, 4,46/m,2H/, 4,38/m,1H/, 3,33/s,3H/, 3,26/s,3H/, 2,52/m,2H/, 1,79/s,3H/, FTIR /NUJOL/ 3156, 3091, 1712, 1674, 1347, 1170, 956, 936, 838 cm^{-1} . Čistota podle HPLC 98,6 %.

Příklad 2

5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidin

Míchaná směs 9,165 kg 3',5'-dimethansulfonylthymidinu,

45,7 l vody a 18,36 kg hydroxidu sodného o koncentraci 50 % se zahřeje na 50 až 55 °C. Přidá se dalších 184 g 50% hydroxidu sodného a zahřívá se další hodinu při 50 až 55 °C. Pak se směs ochladí na 0 až 5 °C a míchá se ještě 15 až 30 min. Získaná pevná látka se odfiltruje, koláč se promyje 4,6 l alkoholu a vysuší na 6,222 kg požadovaného produktu o teplotě tání 167,9-169,4 °C. Čistota podle HPLC 98,9 %.

^1H NMR / d_6 -DMSO/ δ 7,60/s,1H/, 5,91/m,1H/, 5,36/m,1H/, 4,49/m,2H/, 4,22/m,1H/, 3,20/s,3H/, 2,60/m,2H/, 1,76/s,3H/, FTIR /NUJOL/ 1664, 1610, 1525, 1465, 1356, 1180, 1163, 980, 851 cm^{-1} .

Suspenze 5,68 kg produktu v 28,4 l methylalkoholu se 1 h míchá. Pevná látka se odfiltruje a koláč se promyje 5,6 l methylalkoholu. Pak se koláč suší při 40 až 50 °C v sušárně s nuceným oběhem vzduchu a získá se 5,488 kg produktu o čistotě 99 % podle HPLC.

Příklad 3

3'-fluor-5'-methansulfonylthymidin

Do míchaného autoklávu se předloží 8 g 5'-methansulfonyl-2'-deoxy-2,3'-anhydrothymidinu, 90 ml dioxanu, 32 g trihydrátu fluoridu hlinitého /sušeného při 120 až 180 °C v sušárně s nuceným oběhem vzduchu do ztráty hmotnosti 30 %/ a 10 ml 10% HF v dioxanu. Autokláv se uzavře a zahřívá 3 h při 88 až 90 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti se směs přelije suspenzí 30 g uhličitanu vápenatého v 75 ml vody a 25 min míchá. Suspenze se přefiltruje a koláč se promyje acetonem /5 x 25 ml/. Odpařením spojených filtrátů se získá 8,22 g požadovaného produktu o čistotě podle HPLC 73 % a teplotě tání 144,9-151,9 °C.

^1H NMR / CDCl_3 / δ 11,40/s,1H/, 7,52/s,1H/, 6,24/dd, $J=8,9\text{Hz}, 6,0\text{Hz}$, 1H/, 5,37/dd, $J=53,3\text{Hz}, 4,2\text{Hz}$, 1H/, 4,44/s,2H/,

4,42/m,1H/, 3,26/s,3H/, 2,40/m,2H/, 1,78/s,3H/.

Příklad 4

3'-fluor-5'-methansulfonylthymidin

Do míchaného autoklávu se předloží 15 l dioxanu, 600 g 5'-methansulfonyl-2'-deoxy-2,3'-anhydrothymidinu, 1200 g trihydrátu fluoridu hlinitého /sušeného při 120 až 180 °C v sušárně s nuceným oběhem vzduchu do ztráty hmotnosti 30 %/ a 760 ml 10% HF v dioxanu. Autokláv se uzavře a 3 h zahřívá na 85 až 95 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti se směs přelije suspenzí 470 g uhličitanu vápenatého a 6 l vody. Suspenze se 15 až 30 min míchá a pak se přefiltruje přes lože rozsivkové zeminy. Koláč se promyje 6 l acetonu a spojené filtráty a promývací roztoky se zahustí ve vakuu na 5 až 10 l, načež se přidají 2 l vody a směs se znovu zahustí na přibližně 2,5 l. Pak se směs ochladí na 5 až 10 °C a odfiltruje se vzniklá pevná látka. Koláč se promyje 1 l chladné vody a suší do konstantní hmotnosti na 450 g požadovaného produktu. Čistota podle HPLC 96,5 %.

Příklad 5

3'-fluor-5'-methansulfonylthymidin

Do míchaného autoklávu se předloží 25 g 5'-methansulfonyl-2'-deoxy-2,3'-anhydrothymidinu, 83 ml 2M trihexylaluminia v dioxanu, 98 ml dioxanu a 19 ml směsi 70% fluorovodíku a 30 % pyridinu. Autokláv se uzavře, zahřeje na 85 až 90 °C a míchá 3 h při přibližně 90 °C. Směs se ochladí na teplotu místnosti a přelije směsí 40 g uhličitanu vápenatého a 100 ml vody. Pak se směs míchá asi 15 min, vyčiří a koláč se promyje acetonem /4 x 25 ml/. Roztok se částečně zahustí ve vakuu, přidá se 200 ml vody a roztok se znovu zahustí. Směs se ochladí na 0 až 5 °C, přefiltruje, promyje studenou vodou /asi 45 ml/ a

vysuší na 22,2 g produktu.

Příklad 6

3'-fluor-5'-methansulfonylthymidin

Do míchaného autoklávu se předloží 1000 g 5'-methansulfonyl-2'-deoxy-2,3'-anhydrothymidinu, 6000 ml 1,4-dioxanu, 1180 g acetylacetonátu hliníku, 100 g hydrogendifluoridu amonného a 4000 ml 10% roztoku fluorovodíku v dioxanu. Autokláv se uzavře a zahřívá 3 h na 85 až 90 °C. Směs se ochladí na 20 až 30 °C a přelije suspenzí 2000 g uhličitanu vápenatého v 10000 ml vody. Suspenze se míchá 15 až 30 min a pak se odfiltruje pevná látka. Filtrační koláč se promyje 7500 ml acetonu a filtrát, spojený s promývacím roztokem, se zahustí za sníženého tlaku na objem 6 až 7,5 l. Pak se přidá 2000 ml vody a roztok se dále zahustí na 7 až 7,5 l. Směs se ochladí na 0 až 5 °C a při této teplotě míchá 30 až 60 min. Produkt se odfiltruje, promyje studenou vodou /1500 ml/ a vysuší na 762 g 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorthymidinu.

Příklad 7

3'-deoxy-3'-fluorthymidin

Do reakční baňky s mícháním se předloží 31,84 l vody, 1496 g pelet 85% hydroxidu draselného a 3184 g 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorthymidinu. Roztok se 3 h zahřívá na 63 až 67 °C. Hodnota pH se 50% vodnou kyselinou octovou upraví na 4,2 až 4,7 a přidá se 318 g aktivního uhlí a 318 g rozsivkové zeminy, načež se ještě 1 h míchá při 63 až 67 °C. Směs se přefiltruje přes vrstvu 318 g rozsivkové zeminy a koláč se promyje 6,4 l horké vody. Spojené filtráty se odpaří ve vakuu na 9,5 l a získaná suspenze se ochladí na 0 až 5 °C. Pevný podíl se odfiltruje a koláč se promyje 6,4 l studené vody. Vlhký koláč se v sušárně vysuší na 1,526 kg požadované-

ho produktu o teplotě tání 173,3-177,7 °C. Čistota podle HPLC 99,5 %.

^1H NMR / d_6 -DMSO/ δ 11,35/s,1H/, 7,7/s,1H/, 6,22/dd,J=9,1Hz,5,6Hz,1H/, 5,32/dd,J=53,9Hz,4,1Hz,1H/, 5,21/s,1H/, 4,15/dt,J=28,0Hz,3,8Hz,1H/, 3,68-3,55/m,2H/, 2,5-2,2/m,2H/, hmotnostní spektrum $M^+=244$, FTIR /NUJOL/ 3425, 3100, 1283, 1109, 995, 870, 850 cm^{-1} .

Příklad 8

3'-deoxy-3'-fluorthymidin

Do reakční baňky se za míchání předloží 100 ml vody, 2,85 g pelet hydroxidu sodného a 10,0 g 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorthymidinu. Reakční směs se zahřeje a míchá se 3 h při 63 až 67 °C. Přídavkem 50% vodné kyseliny octové se pH upraví na 4,4, přidá se 1 g aktivního uhlí a 1 g rozsivkové zeminy a míchá se ještě 1 h při 63 až 67 °C. Směs se přefiltruje a koláč se promyje 20 ml horké vody. Spojené filtráty se ve vakuu zahustí na 30 ml a získaná suspenze se ochladí na 0 až 5 °C. Pevný podíl se odfiltruje a koláč se promyje 20 ml studené vody. Vlhký koláč se suší při 45 až 50 °C ve vakuové sušárně na 5,87 g 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu. Čistota podle HPLC 98,3 %.

Příklad 9

3'-deoxy-3'-fluorthymidin

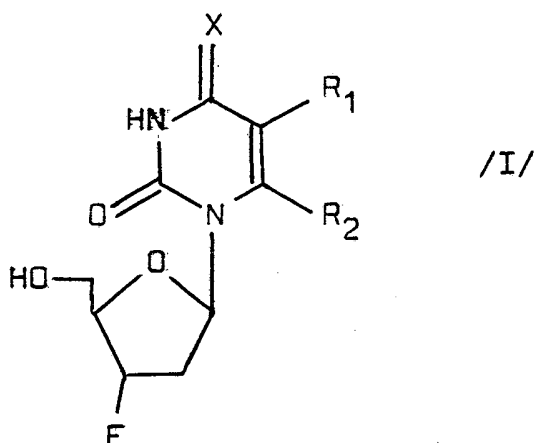
Do reakční baňky se za míchání předloží 100 ml vody, 4,70 g pelet 85% hydroxidu draselného a 10,0 g 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorthymidinu. Roztok se zahřívá 3 h na 63 až 67 °C. Přídavkem 12,8 g 50% vodné kyseliny octové se pH upraví na 4,2 až 4,7 a přidá se 1 g aktivního uhlí a 1 g rozsivkové zeminy, načež se ještě 1 h míchá při 63 až 67 °C. Směs se přefiltruje přes vrstvu 1 g rozsivkové zeminy a koláč

se promyje 20 ml horké vody. Spojené filtráty se odpaří ve vakuu na 30 ml a získaná suspenze se ochladí na 0 až 5 °C. Pevný podíl se odfiltruje a koláč se promyje 20 ml studené vody. Vlhký koláč se suší v sušárně na 5,62 g požadovaného produktu o teplotě tání 173,3-177,7 °C. Čistota podle HPLC 98,0 %.

Pril.	ÚŘAD PROVNÍMALEZY A OBJEVY	14. 1. 92	002097	č.
-------	----------------------------------	-----------	--------	----

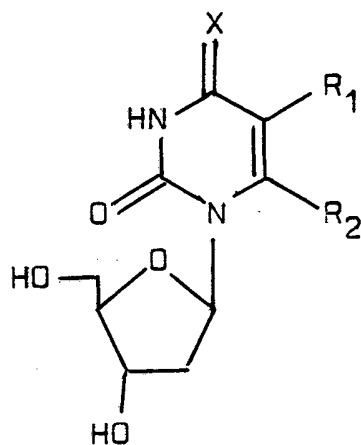
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob výroby 2',3'-dideoxy-3'-fluorpyrimidinových nukleosidů vzorce I



kde X je kyslík nebo síra, R_1 a R_2 mohou být stejné nebo různé a jsou vybrány ze souboru zahrnujícího vodík, nižší alkyl / C_1-C_4 /, substituovaný nižší alkyl / C_1-C_4 , kde substituenty jsou halogen nebo hydroxyskupina/, halogen, skupinu OH a SH, vyznačující se tím, že

a/ pyrimidinový nukleosid vzorce



se rozpustí v pyridinu, ochladí se na 0 až 5 °C, přidá se

methansulfonylchlorid v molárním poměru k nukleosidu 3 : 1, přičemž se teplota nechá stoupnout na 20 až 40 °C, směs se ochladí, přidá se voda a 3',5'-dimethansulfonylpyrimidinová nukleosidová sloučenina se izoluje filtrací,

b/ vodný roztok 3',5'-dimethansulfonylpyrimidinové nukleosidové sloučeniny o koncentraci až 25 % se nechá reagovat s přijatelnou silnou bází a reakční směs se ohřeje na teplotu asi 50 až 55 °C, načež se ochladí a pevná 5'-methansulfonyl-2'-dideoxy-2,3'-anhydropyrimidinová nukleosidová sloučenina se odfiltruje,

c/ suspenze 5'-methansulfonyl-2'-dideoxy-2,3'-anhydropyrimidinové nukleosidové sloučeniny o koncentraci 2 až 20 % se zahřívá s fluorovodíkem v přítomnosti vhodné hlinité sloučeniny o koncentraci, poskytující 2 až 6 mol fluoridu na mol anhydropyrimidinového nukleosidu, při teplotě asi 55 až 115 °C a získaná 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorpyrimidinová nukleosidová sloučenina se z reakční směsi získá přidávkou vody a uhličitanu vápenatého, přefiltrováním, zahuštěním směsi ke snížení objemu a odfiltrováním pevného produktu, načež

d/ se 5'-methansulfonyl-2',3'-dideoxy-3'-fluorpyrimidinová nukleosidová sloučenina se nechá reagovat s vodnou bází, reakční směs se okyselí na pH 4 až 5, zahustí se ke snížení objemu a 3'-deoxy-3'-fluorpyrimidinová nukleosidová sloučenina se získá filtrací.

2. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že 2',3'-dideoxy-3'-fluorpyrimidinovou nukleosidovou sloučeninou je 3'-deoxy-3'-fluorthymidin.

3. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že přijatelnou silnou bází ve stupni b/ je hydroxid sodný nebo hydroxid draselný.

4. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že vhodnou hlinitou sloučeninou ve stupni c/ je tepelně zpracovaný trihydrát fluoridu hlinitého.

5. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že vhodnou hlinitou sloučeninou ve stupni c/ je substituovaná organohlinitá sloučenina, zvolená ze souboru zahrnujícího aluminiumacetylacetonát, trihexylaluminium a aluminiumisopropoxid.

6. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že se ve stupni c/ k reakční směsi přidává anorganický hydrofluorid alkalického kovu vzorce MHF_2 , kde M je skupina NH_4 , draslík, sodík nebo lithium.

7. Způsob výroby 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu /FLT/, při němž se 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidin jako meziprodukt připravuje z 3',5'-dimethansulfonylthymidinu, vyznačující se tím, že se 3',5'-dimethansulfonylthymidin v koncentraci až 25 % nechá reagovat ve vodném hydroxidu sodném 1 h při 50 až 55 °C, směs se ochladí na 0 až 5 °C, načež se míchá a pevná látka se odfiltruje.

8. Způsob výroby 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu, při němž se 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidin jako meziprodukt vytváří z 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinu reakcí s fluorovodíkem v přítomnosti vysušeného hydrátu fluoridu hlinitého, vyznačující se tím, že se suspenze 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinu zahřívá v přítomnosti vysušeného fluoridu hlinitého ve vhodném rozpouštědle, přičemž poměr koncentrace fluorovodíku k 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinu je molarně asi 2 : 1, po dobu asi 3 h při 80 až 115 °C a meziprodukt se izoluje.

9. Způsob výroby 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu, při němž se

3'-fluor-5'-methansulfonylthymidin jako meziprodukt připravuje z 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinu, vyznačující se tím, že se vyčištěný meziprodukt izoluje z reakční směsi, získané reakcí 5'-methansulfonyl-2,3'-anhydrothymidinu s fluorovodíkem v přítomnosti vhodné hlinité sloučeniny, přičemž se reakční směs míchá s vodou a uhličitanem vápenatým, filtruje, zahustí ke snížení objemu a pevný produkt se izoluje filtrací.

10. Způsob výroby 3'-deoxy-3'-fluorthymidinu /FLT/ z 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidinu jako meziproduktu, vyznačující se tím, že se 3'-fluor-5'-methansulfonylthymidin nechá reagovat s vodnou bází, směs se okyslí, zahustí ke snížení objemu a produkt se izoluje filtrací.