



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

265967

(11) (B1)

(13)

(51) Int. Cl.⁴

C 07 H 19/06

(22) Přihlášeno 29 07 87

(21) PV 5688-87.U

(40) Zveřejněno 14 03 89

(45) Vydáno 13 06 90

(75)

Autor vynálezu

HŘEBABECKÝ HUBERT ing. CSc., HOLÝ ANTONÍN RNDr. DrSc., PRAHA

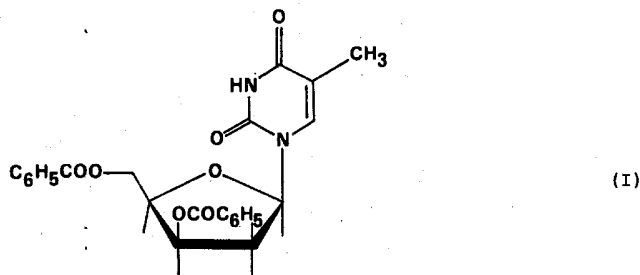
(54) 1-(3,5-Di-O-benzoyl-2-deoxy-β-D-threopentafuranosyl)thymín a způsob jeho přípravy

(57) Řešení spadá do oboru meziproduktů při výrobě léčiv. Řeší problém získání nového, ekonomicky výhodnějšího meziproduktu pro syntetickou výrobu antivirového léčiva a způsobu jeho přípravy. Podstatou řešení je nová látka 1-(3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-β-D-threo-pentafuranosyl)thymín, která je surovinou pro výrobu 3'-azido-2',3'-dideoxythymidinu. Způsob výroby předmětné látky vychází z D-xylosy, která je specificky chráněna a převedena postupně na 1-(3,5-di-O-benzoyl-β-D-xylofuranosyl)thymín, jeho 2'-chlor-2'-deoxyderivát a posléze na předmětnou látku redukcí tri-n-butylstannanem.

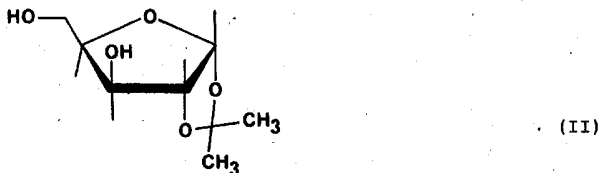
Předmětem vynálezu je 1-(3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-beta-D-threo-pentafuranosyl)thymin a způsob jeho přípravy.

1-(2-deoxy-beta-D-threo-pentafuranosyl)thymin je klíčovým meziproduktem při výrobě 3'-azido-2',3'-dideoxythymidinu (AZT, Retrovir^R, Zidovudin^R, který se používá jako léčivo při onemocněních podmíněných získaným selháním imunitního systému (AIDS)). Dosavadní metody přípravy této látky vycházejí ze specificky chráněných derivátů 2'-deoxythymidinu a spočívají v epimerizaci 3'-hydroxylové skupiny této látky např. postupným působením methansulfonylchloridu a vodně alkalického prostředí (J. P. Horwitz, J. Chua. M. Noel: J. Org. Chem. 29, 2 076 (1964); J. S. Lin, W. Prusoff: J. Med. Chem. 21, 109 (1978); R. P. Glinski, M. Khan, R. Kalamas, M. Sporn: J. Org. Chem. 38, 4 299 (1973)). Výchozí surovinou je 2'-deoxythymidin, přírodní látka, která je součástí deoxyribonukleových kyselin a získává se z nich enzymovou hydrolýzou. Vzhledem k malému zastoupení DNK v přírodních surovinách a omezenosti těchto zdrojů je výroba 2'-deoxythymidinu z DNK omezená a pro velkou spotřebu léčiva naprosto nedostačující. Syntetické postupy výroby 2'-deoxythymidinu vycházejí buď z methylace 2'-deoxyuridinu (např. A. Holý, Collection Czechoslov. Chem. Commun. 37, 4 072 (1972); C. B. Reese, Y. S. Sanghvi: J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1983, 877), nebo transformace 5-methyluridinu na 2'-deoxyribosid chemickou cestou, spočívající např. v přípravě a dehalogenaci 2'-chlor-2'-deoxythymidinu (A. Holý, D. Cech: Collection Czechoslov. Chem. Commun. 39, 3 157 (1974)) nebo reakcí s 2'-O-thiokarbonyl- resp. 2'-O-thiobenzoylderivátů, vesměs s tri-n-butylstannanem (M. J. Robins, J. S. Wilson, F. Hansske: J. Amer. Chem. Soc. 105, 4 059 (1983); C. H. Kim, V. E. Marquez, S. Broder, H. Mitsuya, J. S. Driscoll: J. Med. Chem. 30, 862 (1987)). 5-methyluridin se k tomu účelu může vyrobit methylací uridinu (K. H. Scheit, Tetrahedron Letts, 1965, 1 031), nebo ribosylací thyminu či jeho derivátů (M. Prystaš, F. Šorm: Collection Czechoslov. Chem. Commun. 31, 1 035 (1966); A. Holý, D. Cech, tamtéž 39, 3 157 (1974)). Všechny tyto metody jsou však závislé na nákladných výchozích surovinách (2'-deoxyuridinu, uridinu, D-ribose).

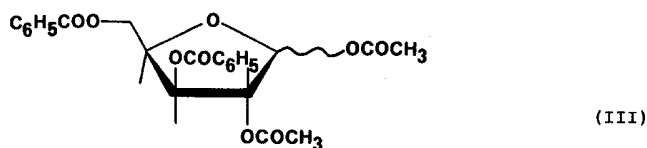
Tuto závislost výroby 3'-azido-2',3'-dideoxythymidinu resp. 1-(2-deoxy-beta-D-threo-pentafuranosyl)thyminu na 2'-deoxy-thymidinu, jakož i další nevýhody uvedených postupů odstraňuje předmětný vynález 1-(3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-beta-D-threo-pentofuranosyl)thyminu vzorce I



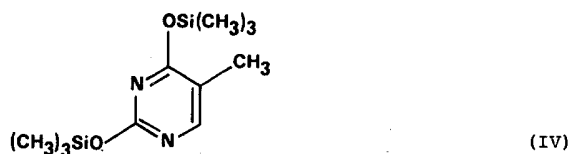
a způsobu jeho přípravy, vyznačeného tím, že se 1,2-O-isopropyliden-alfa-D-xylofuranosa vzorce II



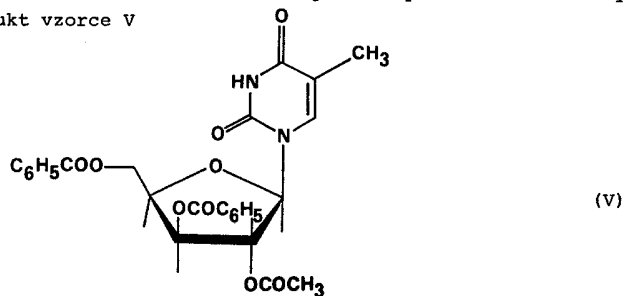
uvede do reakce postupně s 2,5 až 3 molárními ekvivalenty benzoylchloridu v pyridinu při teplotě 0 °C až 20 °C a poté s 4,5 až 5 ekvivalenty acetanhydridu v kyselině octové v přítomnosti koncentrované kyseliny sírové při teplotě 0 °C získaný meziprodukt vzorce III



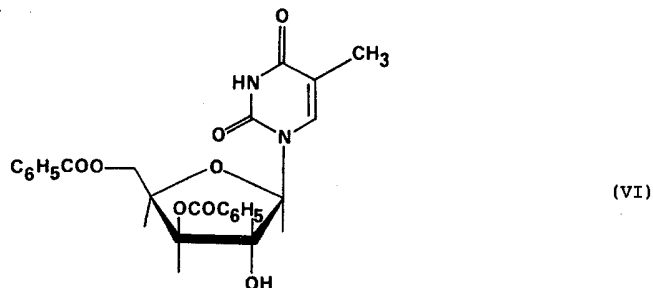
se ponechá reagovat s 1-1,2 molárními ekvivalenty 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-methylpyrimidinu vzorce IV



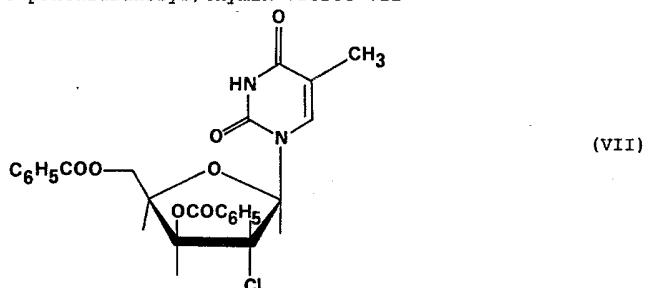
v dichlormethanu, 1,2-dichlorethanu nebo acetonitrilu jako rozpouštědla za katalýzy chloridem ciničitým, získaný meziprodukt vzorce V



se bez čištění uvede do reakce s kyselinou sírovou ve směsi vody a s vodou mísitelného organického rozpouštědla, s výhodou acetonitrilu, a to ve výsledné koncentraci 0,1 až 0,2 mol.l⁻¹ kyseliny sírové a při teplotách 70 až 80 °C, vzniklý 1-(3,5-di-O-benzoyl-beta-D-xylofuranosyl)thymín vzorce VI



se vaří s roztokem thionylchloridu v acetonitrilu, a získaný krystalický 1-(2-chlor-2-deoxy-3,5-di-O-benzoyl-beta-D-threo-pentafuranosyl)thymín vzorce VII



poskytne látku vzorce I zahříváním varem s roztokem tri-n-butylstannanu v benzenu nebo toluenu.

Podstatu předmětného způsobu výroby nové látky vzorce I tvoří původní způsob přípravy 2'-deoxy-2'-chlorderivátu vzorce VII, který vychází z derivátu 1-(beta-D-xylofuranosyl)thyminu specificky chráněného benzoylskupinami v polohách 3' a 5'. Transformace zbývajících volných hydroxylových skupin v této látce vzorce VI se provede prostým varem s thionylchloridem v acetonitrilu. Tato reakce byla dříve použita pro transformace primární hydroxylové skupiny v poloze 5' na 5'-chlor-5'-deoxyderiváty v řadě ribonukleosidů (čs. AO 199 949), její použití pro konverzi izolované sekundární hydroxylové skupiny je novým využitím uvedeného principu.

Specificky chráněný 3',5'-di-O-benzoylderivát vzorce VI se připraví ve vysokém výtěžku kondenzací derivátu thyminu s vhodně chráněným derivátem 1-O-acetyl-D-xylofuranosy, který nese v poloze 2-O-acylskupinu zajišťující stereospecifický průběh reakce. Nejvhodnější variantou této reakce je použití 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-methylpyrimidinu vzorce IV, snadno dostupného reakcí thyminu s chlortrimethylsilanem v přítomnosti terciární báze nebo výhodněji s hexamethyldisilazanem, a dále použití chloridu cínitého jako katalyzátoru této reakce (U. Niedballa, H. Vorbrüggen, J. Org. Chem. 39, 3 668 (1974)).

Dalším důležitým význakem tohoto vynálezu je volba vhodné cukerné komponenty uvedené nukleosidové kondenzace: požadované nároky zcela splňuje 1,2-di-O-acetyl-3,5-di-O-benzoyl-D-xylofuranosa, dostupná ve vysokém výtěžku z 1,2-O-isopropyliden-alfa-D-xylofuranosy vzorce II, snadno získané parciální hydrolýzou 1,2:3,5-di-O-isopropyliden-D-xylofuranosy (např. podle A. Holý, Collection Czechoslov. Chem. Commun. 42, 902 (1977)) a destilovatelné ve vakuu. Východí diisopropylidenderivát je snadno přístupný reakcí D-xylosy s acetonem v přítomnosti minerální kyseliny (P. A. Levene, A. L. Raymond, J. Biol. Chem. 102, 317 (1933)). Cukerný synthon se připraví z látky vzorce II postupně benzoylací hydroxylových skupin v polohách 3 a 5 reakcí s benzoylchloridem v pyridinu (dostatečný je slabý nadbytek činidla, ale jeho přebytek není na závadu) a následující acetolýsou 1,2-O-isopropyliden skupiny ve směsi acetanhydridu s kyselinou octovou v přítomnosti minerální kyseliny (nejlépe kyseliny sírové). Reakce se provádí bez čištění v jednotlivých stupních a poskytne ve vysokém výtěžku chráněný synthon vzorce III vhodný bez čištění pro nukleosidovou kondenzaci.

Po provedení nukleosidové kondenzace za výše uvedených podmínek s látkou vzorce IV (která probíhá s výhodou v 1,2-dichlorethanu, ale může být provedena i v methylenchloridu nebo acetonitrilu) se směs rozloží vodou a vyloučené anorganické soli se odstraní filtrací. Reakční produkt vzorce V zůstává v organické fázi a je po odpaření a vysušení dostatečně čistý pro další reakční stupeň. Tím je specifická kyselá hydrolýza acetylskupiny z polohy 2', která proběhne několikahodinovým varem látky vzorce V se zředěnými roztoky minerálních kyselin např. kyseliny sírové ve směsi vody a organického s vodou mísitelného rozpouštědla, jímž může být acetonitril, ale také dioxan, tetrahydrofuran, ethanol apod. Kontrolu průběhu reakce lze snadno provádět např. tenkovrstvou chromatografií na silikagelu. Po skončení reakce se surový produkt vzorce VI získá po neutralizaci extrakcí do organického rozpouštědla a po vysušení se může krystalovat nebo bez dalšího čištění použít pro výše uvedenou reakci s thionylchloridem na chlorderivát vzorce VII.

V posledním reakčním stupni výroby látky vzorce I se redukuje získaný chlorderivát vzorce VII. Tuto redukci vazby C-Cl lze provést katalytickou hydrogenací, ale tento postup je vzhledem k nebezpečí hydrogenace thyminového kruhu nevhodný. Danému účelu poslouží reakce látky vzorce VII s tri-n-butylstannanem, snadno dostupným reakcí chlor-tri-n-butylstannanu s tetrahydridohlinitanem lithným. Reakce se s výhodou provádí v přítomnosti radikálového katalyzátoru, např. azabis(isobutyronitrilu) v benzenu nebo toluenu při teplotě varu směsi. Přebytek redukčního činidla není na závadu, ale obvykle není zapotřebí. Z reakční směsi se ochlazením přímo vyloučí krystalický 1-(3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-beta-D-threo-pentafuranosyl)-thymin vzorce I ve vysokém výtěžku a čistotě, který může být bez dalšího čištění použit pro přípravu volného nukleosidu methanolýsou (v methanolu v přítomnosti methoxidu sodného) za obvyklých podmínek.

Důležitými přednostmi tohoto vynálezu jsou tedy:

- a) nový klíčový meziprodukt výroby významného léčiva, jehož výroba není závislá na strategických, omezeně dostupných nebo nákladných surovinách.
- b) způsob jeho výroby, který vychází z domácích surovin, především z laciné D-xylosy dostupné ve velkých množstvích,
- c) pro výrobu výchozí látky vzorce II lze použít i technické D-xylosy, protože jak její 1,2:3,4-di-O-isopropylidenderivát tak i látku vzorce II lze ve velkém měřítku a účinně čistit destilací ve vakuu,
- d) příprava předmětné látky vzorce I z D-xylosy je sice osmistupňová, ale všechny stupně probíhají s vysokými výtěžky a jednotlivé meziprodukty není třeba čistit. Prvním izolovaným meziproduktem, který se snadno čistí krystalizací, je až chlorderivát vzorce VII,
- e) způsob výroby nevyžaduje mimořádných reakčních podmínek, rozpouštědel ani nákladných, či citlivých činidel,
- f) látka vzorce I získaná uvedeným postupem je vysoce čistá a vhodná pro další použití k přípravě 3'-azido-2',3'-dideoxy-thymidinu.

V dalším je předmětná látka a způsob její přípravy osvětlen na příkladech provedení, aniž se tím jakkoli omezuje.

P ř í k l a d 1

K roztoku 244 g 1,2-O-isopropyliden-alfa-D-xylofuranosy (t.v. 150 °C/130 Pa) v 1 l pyridinu se za chlazení ledem a míchání během 1 h přidá 450 g benzoylchloridu. Roztok se ponechá stát při teplotě místnosti 16 až 20 h, zahustí při 40 °C/2 kPa na objem 0,5 l, zředí 3,5 l chloroformu a promyje postupně 0,7 l vody, 5% kyselinou sírovou do kyselé reakce extraktu, nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (0,5 l), vysuší se síranem sodným filtruje a odpaří při 40 °C/2 kPa. K roztoku tohoto odparku v 2,5 l kyseliny octové a 650 ml acetonhydridu, ochlazenému ledem, se za míchání během 30 min přidá 225 ml konc. kyseliny sírové. Směs se nechá stát přes noc při teplotě místnosti, vlije se na 20 kg ledu a směs extrahuje 3x1,5 l chloroformu. Spojené extrakty se promyjí 3x0,7 l vody, nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (do skončení uvolňování CO₂), suší síranem sodným, filtruje a odpaří při 40 °C/2 kPa. Získá se 540 g (60%) látky vzorce III. Tento produkt (1,22 mol) se rozpustí ve 2 l 1,2-dichlorethanu, přidá se 330 g (1,22 mol) látky vzorce IV a za míchání se přikape 200 ml chloridu ciničitého takovou rychlostí, aby teplota směsi nepřesáhla 45 °C. Pak se ponechá stát přes noc při teplotě místnosti, zředí 3 l chloroformu a za míchání se vlije do 24 l 5% vodného roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného. Vyloučená sraženina se odfiltruje přes vrstvu křemeliny, promyje 2x500 ml chloroformu a spojené organické vrstvy filtrátu se promyjí postupně 5% roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného (2 l), vodou (2 l) a nasyceným roztokem chloridu sodného (1 l). Po vysušení síranem sodným se filtruje a odpaří při 40 °C/2 kPa. Získá se 605 g odparku látky vzorce V.

Roztok této látky ve směsi 4 l acetonitrilu a 600 ml 1 mol.l⁻¹ kyseliny sírové se zahřívá 16 h na 75 °C, neutralizuje pevným hydrogenuhlíčitanem sodným, směs se zfiltruje a sraženina promyje 250 ml acetonitrilu. Spojené filtráty se odpaří při 40 °C/2 kPa na objem ca 600 ml, zředí se 4 l ethylacetátu a roztok se promyje 200 ml 5% hydrogenuhlíčitanu sodného, 200 ml 5% hydrogenuhlíčitanu sodného, 200 ml vody a vysuší síranem sodným. Po zfiltrování sušidla se roztok odpaří při 40 °C/2 kPa k suchu. Odparek látky vzorce VI ve 3 l acetonitrilu a 233 ml thionylchloridu se 90 min vaří pod zpětným chladičem a po ochlazení se odpaří při 40 °C/2 kPa. Zbytek se rozpustí v 6 l ethylacetátu, promyje se (po 800 ml) 5% roztokem hydrogen-

uhličitanu sodného, vodou a nasyc. roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem sodným, zfiltruje a odpaří při 40 °C/2 kPa na objem ca 1,5 l. Ochlazením vykřystaluje produkt, který se odsaje, promyje ethylacetátem, petroletherem a vysuší. Filtrát se odpaří za výše uvedených podmínek dosucha a rekrystaluje z ethanolu. Spojené podíly látky vzorce VII, t.t. 114 až 115 °C, váží 310 g, tj. 52,5 % na výchozí látku vzorce III.

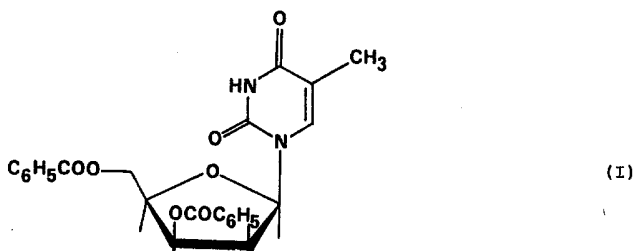
Tento produkt (0,64 mol) se rozpustí ve 2 l toluenu, přidá se 1,12 l 1 mol.l⁻¹ roztoku tri-n-butylstannanu v toluenu a 7,5 g bis(azoisobutyronitrilu). Roztok se za míchání zahřívá 2 h na 85 °C. Po ochlazení vykřystaluje produkt, který se odsaje, promyje 100 ml toluenu, petroletherem a vysuší. Filtrát se odpaří při 40 °C/2 kPa a zbytek rozmíchá s 2 l petroletheru odsaje, promyje petroletherem a rekrystaluje z ethanol-petroletherem. Celkem se získá 279 až 280 g látky vzorce I. t.t. 149 až 152 °C.

P ř í k l a d 2

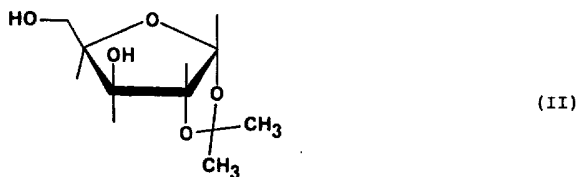
258 g látky vzorce I se rozpustí za míchání v 2,75 l 0,1 mol.l⁻¹ methoxidu sodném v methanolu (rozpustí se přibližně po 4 h). Ponechá se stát přes noc při teplotě místnosti a pak zneutralizuje katexem v H⁺-cyklu, předem promytým methanolem. Ionex se odfiltruje, promyje 1 l methanolu a spojené filtráty se odpaří při 40 °C/2 kPa. Odparek se rozmíchá s 0,75 l etheru, vyloučený krystalický produkt se odsaje, promyje etherem a vysuší. Etherový filtrát se vytřepe vodou (3x150 ml), vodné extrakty se spojí, odpaří ve vakuu a zbytek se odsaje se 150 ml etheru. Získá se druhý podíl čistého produktu. Celkový výtěžek 1-(2-deoxy-beta-D-threo-penta-furanosyl)thyminu, t.t. 170 až 172 °C, je 132 g (95%).

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

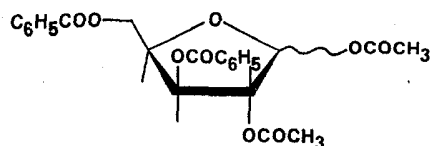
1. 1-(3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy-beta-D-threo-penta-furanosyl)thymin vzorce I



2. Způsob přípravy látky podle bodu 1 vzorce I vyznačený tím, že se 1,2-O-isopropyliden-alpha-D-xylofuranosa vzorce II

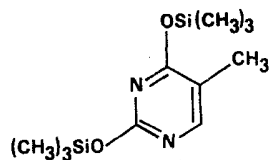


úvede do reakce postupně s 2,5 až 3 molárními ekvivalenty benzoylchloridu v pyridinu při teplotě 0 °C až 20 °C a poté s 3,5 až 5 ekvivalenty acetanhydridu v kyselině octové v přítomnosti koncentrované kyseliny sírové při teplotě 0 °C, získaný meziprodukt vzorce III



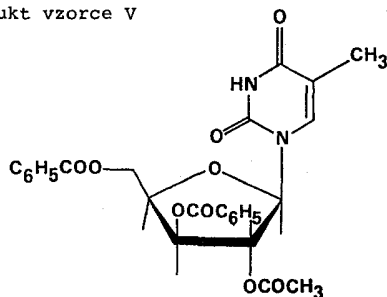
(III)

se ponechá reagovat s 1-1,2-molárními ekvivalenty 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-methylpyridinu vzorce IV



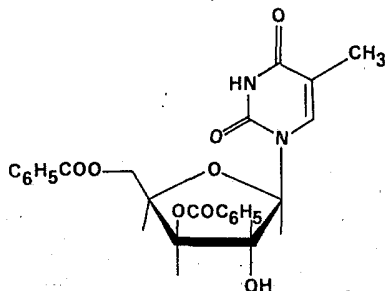
(IV)

v dichlormethanu, 1,2-dichlorethanu nebo acetonitrilu jako rozpouštědla za katalýzy chloridem ciničitým, získaný meziprodukt vzorce V



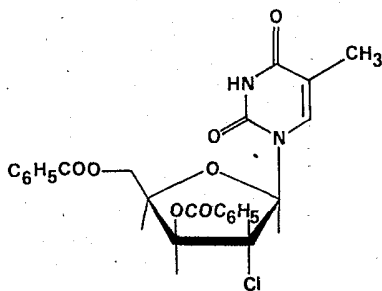
(V)

se bez čištění uvede do reakce s kyselinou sírovou ve směsi vody a s vodou mísitelného organického rozpouštědla, s výhodou acetonitrilu, a to ve výsledné koncentraci 0,1 až 0,2 mol.l⁻¹ kyseliny sírové a při teplotách 70 až 80 °C, vzniklý 1-(3,5-di-O-benzoyl-beta-D-xylofuranosyl)-thymín vzorce VI



(VI)

se vaří s roztokem thionylchloridu v acetonitrilu, a získaný krystalický 1-(2-chlor-2-deoxy-3,5-di-O-benzoyl-beta-D-threo-pentafuranosyl)thymín vzorce VII



(VII)

poskytne látku vzorce I varem s roztokem tri-n-butylstannanu v benzenu nebo toluenu.