

DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

PATENTSCHRIFT

(19) **DD** (11) **268 475 A1**

4(51) C 07 H 19/073

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	WP C 07 H / 312 399 3	(22)	22.01.88	(44)	31.05.89
------	-----------------------	------	----------	------	----------

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Otto-Nuschke-Straße 22/23, Berlin, 1060, DD

(72) Gaertner, Klaus; Lehmann, Christine; Schildt, Jürgen; Matthes, Eckart, Dr. med.; v. Janta-Lipinski, Martin, Dr. rer. nat., Dipl.-Chem.; Langen, Peter, Prof. Dr. habil. Dipl.-Biol. DD

(54) **Verfahren zur Herstellung von 3'-Desoxy-3'-fluor-Nucleosiden**

(55) Verfahren, Herstellung, 3'-Desoxy-3'-fluor-Nucleoside, virostatisch, chemische, pharmazeutische Industrie

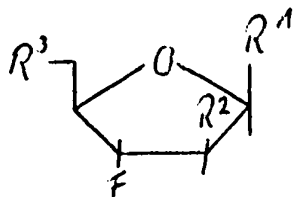
(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 3'-Desoxy-3'-fluor-Nucleosiden. Diese Verbindungen sind virostatisch wirksam. Anwendungsgebiet ist die chemische oder pharmazeutische Industrie.

ISSN 0433-6461

5 Seiten

Patentanspruch:

Verfahren zur Herstellung von 3'-Desoxy-3'-fluor-Nucleosiden der allgemeinen Formel I,



in der

R^1 = Uracil, 5-substituiertes Uracil, Cytosin, 5-substituiertes Cytosin, 2-Fluoradenin, 2,6-Diaminopurin, 2-Aminopurin, 6-Thioguanin oder 7-Deazaadenin

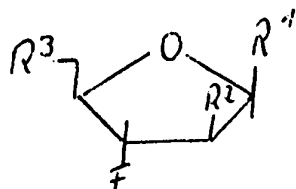
R^2 = H oder OH

R^3 = OH, O-Acetyl, O-Palmitoyl, Triphosphat (als freie Säure, bzw. deren Alkali-, Ammonium- bzw. Alkylammoniumsalze) oder eine Prekursor-Gruppe für die Hydroxygruppe

bedeuten, **gekennzeichnet dadurch**, daß man 2,3'-Anhydropyrimidinnucleoside, die am C-5-Atom des Heterocyclus einen aliphatischen Alkylrest mit 1-6 Kohlenstoffatomen tragen bzw. durch Brom substituiert sind, in einem geeigneten inerten Lösungsmittel mit Fluorwasserstoff unter der katalytischen Wirkung von Aluminiumtrifluorid behandelt, oder daß man die Methylgruppe in 5'-O-Acetyl-3'-desoxy-3'-fluorthymidin unter radikalischen Bedingungen bromiert und anschließend den Bromsubstituenten nucleophil austauscht, oder daß man Nucleoside mit 2'-Desoxy- β -D-threo-pentofuranosyl-Konfiguration, deren C-5'-Position mit einer Schutzgruppe versehen ist, in einem Lösungsmittel mit Dialkylaminoschwefeltrifluoriden, vorzugsweise mit Diethylaminoschwefeltrifluorid, fluoriert, oder daß man in einer Transglykosidierungsreaktion den Fluorzuckerrest von 5'-O-Acetyl-3'-desoxy-3'-fluorthymidin mittels Katalysatoren, vorzugsweise mittels Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester, auf silylierte 2- bzw. 2,6-substituierte Purine überträgt, oder daß man 3'-fluorierte 5-substituierte Uracilnucleoside über die jeweilige Triazolympyrimidinon-Zwischenstufe in entsprechende 3'-fluorierte-5-substituierte Cytosinnucleoside überführt.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 3'-Desoxy-3'-fluor-Nucleosiden der allgemeinen Formel I,



in der

R^1 = Uracil, 5-substituiertes Uracil, Cytosin, 5-substituiertes Cytosin, 2-Fluoradenin, 2,6-Diaminopurin, 2-Aminopurin, 6-Thioguanin oder 7-Deazaadenin

R^2 = H oder OH

R^3 = OH, O-Acetyl, O-Palmitoyl, Triphosphat (als freie Säure, bzw. deren Alkali-, Ammonium- bzw. Alkylammoniumsalze) oder eine Prekursor-Gruppe für die Hydroxygruppe

bedeuten.

Das Verfahren ist in der chemischen bzw. pharmazeutischen Industrie anwendbar.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Nucleoside mit einem am C-3-Atom fluorierten 2,3-Didesoxy- β -D-erythro-pentofuranoiden-Zuckerrest können durch die Abwandlung der Hydroxylgruppe am C-3'-Atom von entsprechenden intakten Nucleosiden erhalten werden. 3'-fluorierte Pyrimidinnucleoside werden aus den jeweiligen 2,3'-Anhydroverbindungen durch Einwirkung von Fluorwasserstoff in einem geeigneten Lösungsmittel gewonnen. Nach dieser Methode wurden 2',3'-Didesoxy-3'-fluoruridin (G. KOWOLLIK, G. ETZOLD, M. von JANTA-LIPINSKI, K. GAERTNER und P. LANGEN, J. prakt. Chem. 315, 895 [1973]), 3'-Desoxy-3'-fluorthymidin (G. ETZOLD, R. HINTSCHE, G. KOWOLLIK und P. LANGEN, Tetrahedron /London/ 27, 2463 [1971]) und 2',3'-Didesoxy-3',5'-difluoruridin (S. AJMERA, A. R. BAPAT, K. DANENBERG and P. V. DANENBERG, J. Med. Chem. 27, 11 [1984]) erhalten. Die Anwendung dieser Darstellungsmethode auf Nucleoside mit länger-kettigen Alkylgruppen in der 5-Position des Heterocyclus wurde bisher nicht beschrieben, ebenso nicht die Möglichkeit, dieses Verfahren auf Nucleoside mit alkaliempfindlichen

Substituenten zu übertragen. Kernproblem ist, solche Substituenten während der Cyclisierungsreaktion unter alkalischen Bedingungen zu schützen, um erwünschte Substitutionen bzw. Eliminierungen zu vermeiden.

Ebenfalls bekannt ist, daß die 5-Methylgruppe in Thyminnucleosiden radikalisch bromiert und daran anschließend der zuvor eingeführten Bromsubstanz nucleophil ersetzt werden kann (D. BÄRWOLFF und D. MURAWSKI, DD-WP 113361, 1973).

Die Verwendung von Dialkylaminoschwefeltrifluoriden, insbesondere von Diethylaminoschwefeltrifluorid zum Ersatz sowohl von primären als auch sekundären Hydroxylgruppen (W. J. MIDDLETON, J. Org. Chem., 40, 574-578 [1975]; V. J. MIDDLETON, Synthesis, 787 [1975]) wurde auf verschiedene Pyrimidin- und Purinnucleoside übertragen. Die Fluorierung von 6-Thiopurin-, 2-Aminopurin-2,6-Diaminopurin- und 2-Fluoradeninnucleosiden ist bisher nicht berichtet worden.

Eine Übertragung des 2',3'-Didesoxy-3'-fluor- β -D-erythropentofuranosyl-Restes von Pyrimidinnucleosiden auf Purinbasen ist bisher lediglich für Adenin (G. KOWOLLIK, P. LANGEN, E. I. KVASJUK und I. A. MIKHAILOPULO, DD-WP 158903, 18.5.1981) und Guanin (S. SAIZEWA, G. KOWOLLIK, P. LANGEN, I. A. MIKHAILOPULO und E. I. KVASJUK, DD-WP 209197, 21.7.1984) bekannt.

Außerdem wurde dieses Verfahren der Transglykosidierung des Fluorzuckerrestes auf Benzimidazol angewendet (N. B. DYATKINA, L. A. ALEXANDROVA, M. von JANTA-LIPINSKI und P. LANGEN, Z. Chem., 25, 180 [1984]).

Die Umwandlung von Uracilnucleosiden in Cytosinderivate über die entsprechenden Triazolympyrimidinon-Zwischenstufen wurde erstmals von W. L. SUNG (J. Chem. Soc., Chem. Commun., 1089 [1981]) vorgenommen. Eine Anwendung dieser Methode auf Fluorzuckernucleoside ist bisher nicht bekannt.

Nucleoside, deren 3'-OH-Gruppe substituiert ist, können wie 3'-Azido-thymidin (MITSUYA et al., Nature, 327, 773 [1987])

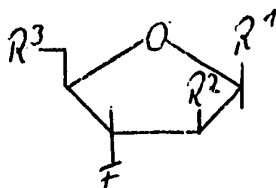
Hemmstoffe der HIV-Revertase darstellen und somit eine Verwendung bei der Behandlung oder Prophylaxe der HIV-induzierten AIDS-Krankheit beim Menschen besitzen.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung hat das Ziel, ein geeignetes, technisch anwendbares Verfahren zur Herstellung von 2',3'-Dideoxy-3'-fluornucleosiden der allgemeinen Formel I zu entwickeln.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Erfindungsgemäß erfolgt die Herstellung von 3'-Desoxy-3'-fluor-Nucleosiden der allgemeinen Formel I,



in der

R^1 = Uracil, 5-substituiertes Uracil, Cytosin, 5-substituiertes Cytosin, 2-Fluoradenin, 2,6-Diaminopurin, 2-Aminopurin, 6-Thioguanin oder 7-Deazaadenin

R^2 = H oder OH

R^3 = OH, O-Acetyl, O-Palmitoyl, Triphosphat (als freie Säure, bzw. deren Alkali-, Ammonium- bzw. Alkylammoniumsalze) oder eine Prekursor-Gruppe für die Hydroxygruppe

bedeuten, wie folgt:

1. 2,3'-Anhydronucleoside, die in der 5-Position des Heterocyclus mit einem aliphatischen Alkylrest mit 1-6 Kohlenstoffatomen bzw. durch Brom substituiert sind, werden in einem inerten Lösungsmittel mit Fluorwasserstoff unter der katalytischen Wirkung von Aluminiumtrifluorid behandelt.
2. Die Methylgruppe in 5'-O-Acetyl-3'-desoxy-3'-fluorthymidin wird radikalisch bromiert. Anschließend wird der Bromsubstituent nucleophil ausgetauscht.
3. Die entsprechenden 2'-Desoxy- β -D-threo-pentofuranosyl-Nucleoside, die in der 5'-Position mit einer Schutzgruppe versehen sind, werden mit Dialkylaminoschwefeltrifluoriden, insbesondere mit Diethylaminoschwefeltrifluorid in einem geeigneten Lösungsmittel fluoriert.
4. Durch eine Transglykosidierungsreaktion wird der Fluorzuckerrest von 5'-O-Acetyl-3'-desoxy-3'-fluorthymidin auf silylierte 2- bzw. 2,6-substituierte Purinbasen in Gegenwart von Katalysatoren übertragen.
5. 3'-fluorierte 5-substituierte Uracilnucleoside werden über die jeweilige Triazolympyrimidinon-Zwischenstufe in entsprechende 3'-fluorierte-5-substituierte Cytosinnucleoside umgewandelt.

Neue Verbindungen sind:

2',3'-Dideoxy-3'-fluor-5-bromuridin, 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-6-thioguanosin, 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-2-fluoradenosin, 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-2,6-diaminopurinribosid, 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-2-aminopurinribosid, 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-5-aminomethyluridin, 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-5-azidomethyluridin, 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-5-hydroxy-methyluridin.

Diese Verbindungen sind virostatisch wirksam. So sind sie u. a. Terminatoren der DNS-Synthese. Mitentscheidend für die Wirksamkeit ist die Fähigkeit der infizierten Zelle, die nur als Nucleoside anwendbaren Substanzen zu den Triphosphaten zu phosphorylieren.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Herstellung von 5-substituierten 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-uridinen durch radikalische Bromierung der 5-Methylgruppe von 3'-Fluorthymidin und nachfolgendem nucleophilem Austausch des Bromsubstituenten

- a) **5-(Brommethyl)-1-(5-O-acetyl-2,3-didesoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)uracil**
 2,86 g (10 mMol 5'-O-Acetyl-3'-fluorthymidin werden in 250 ml 1,2-Dichlorethan unter Erhitzen gelöst. Anschließend werden mittels eines Stickstoffstromes 12 mMol elementares Brom in die Lösung eingeleitet, die mit einer 500 W Photolampe (NARVA) bestrahlt wird. Die Reaktion ist nach 2–3 Stunden beendet. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt, und es resultiert ein Rückstand, der die Titelverbindung in solcher Reinheit enthält, wie sie für die nachfolgenden Reaktionsschritte erforderlich ist.
- b) **1-(2,3-Didesoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)-5-(hydroxymethyl)uracil**
 Das aus 2,86 g (10 mMol) 5'-O-Acetyl-3'-fluorthymidin gemäß a) erhaltene Reaktionsprodukt wird in 50 ml 1,4-Dioxan gelöst und für eine Stunde bei Raumtemperatur mit 30 ml einer gesättigten Natriumhydrogencarbonat-Lösung behandelt. Anschließend wird die Reaktionslösung mit 5 x 30 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformextrakte werden mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und i. Vak. zu einem sirupösen Rückstand eingeeengt, der in 10 ml Methanol gelöst und mit 50 ml Methanol/Ammoniak (gesätt. bei 0°C) versetzt wird. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels wird die Titelverbindung aus Ethanol in kristalliner Form erhalten. F. 184°C.
 MS: m/z 260 (M⁺, C₁₀H₁₃O₅N₂F).
- c) **5-Aminomethyl-1-(2,3-didesoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)uracil**
 Das Bromierungsprodukt aus 10 mMol 5'-O-Acetyl-3'-fluorthymidin gemäß a) wurde in 50 ml 1,4-Dioxan gelöst und auf 0°C abgekühlt. Unter Rühren wird gasförmiges Ammoniak in die Lösung geleitet. Nach 40 min wird die Lösung filtriert und unter vermindertem Druck zu einem sirupösen Rückstand eingeeengt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an 100 g Kieselgel mit Chloroform (5% Methanol) als Elutionsmittel gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen, die das gewünschte Produkt enthalten, werden vereinigt und zur Trockne eingeeengt. Der so erhaltene Rückstand wird mit 5 ml Methanol/Ethylacetat (1/1) behandelt und ergibt ein kristallines Produkt.
 MS: m/z 259 (M⁺, C₁₀H₁₄N₃O₄F).
- d) **5-Azidomethyl-1-(2,3-didesoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)uracil**
 Eine aus dem Bromierungsprodukt von 10 mMol 5'-O-Acetyl-3'-fluorthymidin und 3,25 g (50 mMol) Natriumazid in 100 ml 1,4-Dioxan bestehende Suspension wird für 3 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Lösung filtriert und zu einem festen Rückstand konzentriert. Das so erhaltene Rohprodukt wird mit 50 ml Wasser versetzt und mit 5 x 30 ml Chloroform extrahiert. Die vereinigten Chloroformphasen werden i. Vak. zu einem braunen Rückstand eingeeengt. Die O-Acetylenschutzgruppe wird gemäß Standardbedingungen mittels Methanol/Ammoniak entfernt. Aus dem Rohprodukt wird nach säulenchromatographischer Reinigung an 150 g Kieselgel mit Chloroform (3% Methanol) als Elutionsmittel die Titelverbindung als ein blaßgelbes kristallines Material isoliert.
 MS: m/z 285 (M⁺, C₁₀H₂N₅O₄F).

Beispiel 2

Darstellung von 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-β-D-ribofuranosyl-Nucleosiden durch Fluorierung der entsprechenden β-D-xylofuranosyl-Derivate mittels Dialkylaminoschwefeltrifluorid

- 9-(2,3-Dideoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)-2-fluoradenin**
 10 mMol 9-(5-O-Acetyl-2-desoxy-β-D-xylofuranosyl)-2-fluoradenin werden in 10 ml Chloroform gelöst und zu einer Lösung von 11 mMol Diethylaminoschwefeltrifluorid in 50 ml Chloroform gegeben, die vorher auf -78°C gekühlt wurde. Die Reaktionslösung wird langsam auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend in 100 ml Eiswasser geschüttet. Die organische Phase wird abgetrennt, mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung und Wasser gewaschen und i. Vak. zu einem festen Rückstand eingeeengt. Die O-Acetylgruppe wird gemäß Standardbedingungen mit Methanol/Ammoniak entfernt. Aus dem Rohprodukt wird nach säulenchromatographischer Trennung an Kieselgel mit Chloroform (5% Methanol) als Elutionsmittel 9-(2,3-Dideoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)-2-fluoradenin erhalten.
 MS: m/z 271 (M⁺, C₁₀H₁₁O₂N₆F₂).

Beispiel 3

Gewinnung von 2- bzw. 2,6-substituierten 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-Purinnucleosiden durch Transglycosidierung

9-(2,3-Dideoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)-2-fluoradenin

Ein Gemisch von 2,86 g (10 mMol) 1-(5-O-Acetyl-2,3-dideoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)thymidin, 4,6 g (30 mMol) 2-Fluoradenin, 7,4 ml N-Bis(trimethylsilyl)acetamid und 250 ml Acetonitril wird 25 Minuten am Rückfluß erhitzt. Anschließend werden 6,5 ml (33 mMol) Trifluormethansulfonsäuretrimethylsilylester hinzugefügt, und das Gemisch wird für 8 Stunden zum Sieden am Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird in 100 ml Chloroform suspendiert und mit Natriumhydrogencarbonat-Lösung neutralisiert. Die organische Phase wird abgetrennt, mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Chloroform i. Vak. entfernt. Der Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit Chloroform (5% n-Hexan, 1 l; 2,5% n-Hexan, 1,9 l; 1% n-Hexan, 1 l) als Fließmittel gereinigt. Das so erhaltene Anomerengemisch wird mit Methanol/Ammoniak entacetyliert und erneut einer säulenchromatographischen Trennung an Kieselgel unterworfen. Mit Chloroform (1% Methanol) als Elutionsmittel werden 0,51 g des β-Anomeren, der Titelverbindung, erhalten. Weitere Mengen dieser Verbindung befinden sich im Gemisch mit dem α-Anomeren.

Beispiel 4

Darstellung von 5-substituierten 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-cytidinen aus den entsprechenden Uridinderivaten

1-(2,3-Didesoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)-5-methylcytidin

1,5 g (5,2 mMol) 5'-O-Acetyl-3'-fluoruridin werden in 25 ml Pyridin gelöst und mit 760 mg (11 mMol) Triazol und 1,96 g (8 mMol) p-Chlorphenoxyphosphorsäuredichlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch verbleibt 5 Tagen bei Raumtemperatur. Anschließend werden 30 ml 1,4-Dioxan/Ammoniaklösung (3/1) hinzugefügt, und die Lösung wird i. Vak. zur Trockne konzentriert. Der verbleibende Rückstand wird in Wasser gelöst und auf eine Säule mit 70 ml DOWEX 50WX8, H⁺-Form (DOWEX-Ionenaustauscherharz, DOW Chemical Laboratories) gegeben, die zunächst mit 800 ml Wasser und darauf folgend mit 600 ml 3% Ammoniaklösung eluiert wird. Aus den entsprechenden Fraktionen werden nach dem Vertreiben des Lösungsmittels und Kristallisation aus Methanol, das mit HCl auf pH = 2 gebracht wurde, 0,8 g 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytosin als Hydrochlorid erhalten. F. 177°C (Zers.); MS: m/z 243 (M⁺, C₁₀H₁₄O₃N₃F).

Beispiel 5

Darstellung von 3'-Desoxy-3'-fluor-arabinosylcytosin aus 3'-Desoxy-3'-fluor-arabinosyluracil

Ein Gemisch von 2,45 g (10 mMol) 3'-Desoxy-3'-fluorarabinosyluracil, 1,52 g (12 mMol) Triazol und 4,0 g (16 mMol) p-Chlorphenoxyphosphorsäuredichlorid in 50 ml Pyridin werden wie in Beispiel 4 behandelt. Nach der Trennung an DOWEX 50WX8 (H⁺-Form) werden 1,53 g 1-(3-Desoxy-3-fluor-β-D-arabinosyl)cytosin aus Methanol/HCl (pH = 2) als Hydrochlorid erhalten.

MS: m/z 246 (M⁺, C₉H₁₁O₃N₂F).

Beispiel 6

Darstellung von 5-substituierten, insbesondere von länger-kettigen 5-substituierten 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-uridinen durch Spaltung der 2',3'-Anhydrobindung

a) 1-(2,3-Didesoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)-5-ethyluracil

Ein Gemisch von 2,3 g 2,3'-Anhydro-1-(5-O-acetyl-2-desoxy-β-D-xylofuranosyl)-5-ethyluracil, 2,5 g Aluminiumtrifluorid und 300 ml 1,4-Dioxan (0,5% Fluorwasserstoff) wird in einem Stahlcontainer für 1,5 Stunden auf 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlen werden 100 ml Wasser und 20 g Calciumcarbonat zur Reaktionslösung gegeben. Die Lösung wird filtriert und i. Vak. zu einem Sirup konzentriert, der zum Zweck des Entfernens der O-Acetylgruppe in 50 ml Methanol/Ammoniak (gesättigt bei 0°C) gelöst wird. Die Lösung verbleibt 24 Stunden bei Raumtemperatur und wird dann zu einem sirupösen Rückstand eingeengt, der an Kieselgel mit Chloroform (10% Methanol) als Elutionsmittel säulenchromatographisch getrennt wird. Aus den entsprechenden Elutionsvolumina wird die Titelverbindung erhalten. F. 183–184°C. MS: m/z 258 (M⁺, C₁₁H₁₆N₂O₄F).

b) 5-Brom-1-(2,3-didesoxy-3-fluor-β-D-ribofuranosyl)uracil

Ein Gemisch von 5,31 g (10 mMol) 2,3'-Anhydro-5-brom-1-(2-desoxy-5-O-trityl-β-D-ribofuranosyl)uracil, 5,5 g Aluminiumtrifluorid und 400 ml 1,4-Dioxan (0,2% Fluorwasserstoff) wird in einem Stahlgefäß für 1 Stunde auf 110°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das Reaktionsgemisch in üblicher Weise behandelt und an Kieselgel säulenchromatographisch getrennt. Es wird ein schwach gelbliches kristallines Material erhalten.

MS: m/z 309 (M⁺, C₉H₁₀N₂O₄BrF).