



SUOMI – FINLAND (FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN

(12) PATENTTIJULKAISU PATENTSKRIFT



F1000115971B

(10) FI 115971 B

(45) Patentti myönnetty - Patent beviljats

31.08.2005

(51) Kv.lk.7 - Int.kl.7

C07H 19/06, C07D 405/04

(21) Patentihakemus - Patentansökning

945323

(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag

11.11.1994

(24) Alkuperä - Löpdrag

11.11.1994

(41) Tullit julkiseksi - Blivit offentlig

16.05.1995

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet

15.11.1993 US 152778 P
23.09.1994 US 309637 P

15.11.1993 US 153058 P

(73) Haltija - Innehavare

1 •Bristol-Myers Squibb Company, Lawrenceville-Princeton Road, Princeton, NJ 08543-4000, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1 •Chen,Bang-Chi, 221 Deerfield Road, Apartement 2, E. Syracuse, NY 13057, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

2 •Stark,Derron Ray, 671 Scoville Avenue, Syracuse, NY 13203, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

3 •Baker,Stephen R., Box 1267, Cicero, NY 13039, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

4 •Quinlan,Sandra L., 4635 Glenclyffe Road, Manlius, NY 13104, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Kolster Oy Ab
Iso Roobertinkatu 23, 00120 Helsinki

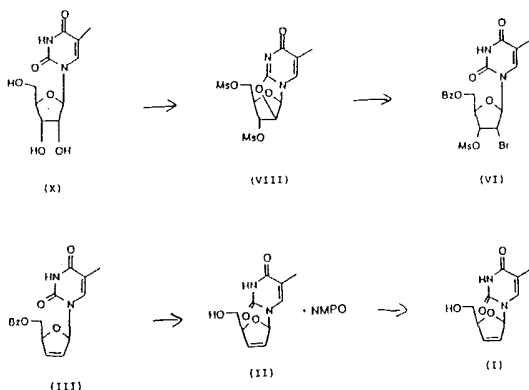
(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

5-metyyliuridiinimenetelmä 2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiinin (d4T) laajamittaista valmistusta varten
5-metylyridinförfarande för framställning av 2',3'-didehydro-3'-deoxitymidin (d4T) i stor skala

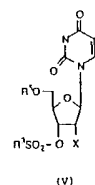
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee menetelmää 2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiinin (d4T) (I) valmistamiseksi 5-metyyliuridiinista seuraavan reaktiokaavion mukaan:



Keksintö koskee lisäksi välituotetta (V):



jossa R⁵ on vety tai hydroksyyllisuojarahmä; R³ on alkyyl, alkoksi, aryyli tai aryylioksi; ja X on kloori, bromi tai jodi.

Uppfinningen avser ett förfarande för framställning av 2',3'-didehydro-3'-deoxitymidin (d4T) (I) från 5-metylyridin enligt följande reaktionsschema (X) - (I). Uppfinningen avser dessutom en mellanprodukt (V), vari R⁵ är väte eller en hydroxylskyddsgrupp; R³ är alkyl, alkoxi, aryl eller aryloxi; och X är klor, brom eller jod.

5-metyyliuridiinimenetelmä 2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiinin (d4T) laajamittaista valmistusta varten

Keksinnön tausta

5 Tämä keksintö koskee menetelmää, joka on sopiva HI-virusta vastustavan aineen, d4T:n, laajamittaista valmistusta varten. Tässä menetelmässä käytetään 5-metyyliuridiinia lähtöaineena.

Yhdiste d4T (2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiini) on
10 hyväksytty käytettäväksi AIDS:n hoidossa. USAN on nimennyt lääkkeen stavudiiniksi ja sitä markkinoidaan nimellä ZERIT™. Tähän saakka d4T on valmistettu kalliista lähtöaineesta, tymidiinista. Vaihtoehtoisia menetelmiä tämän antiviraalisen aineen valmistamiseksi on tutkittu kustannustehokkuudeltaan paremman menetelmän löytämiseksi, joka johtaisi taloudellisempaan menetelmään kaupallista lääketä varten tarvittavien d4T:n suurten määrien valmistamiseksi. Tässä mielessä täytyy ottaa huomioon lähtöaine- ja reagenssikulujen lisäksi myös menetelmän vaiheet, menetelmän vaatima aika, aineiden käsittely sekä ekologinen vaikutus ja terveys- ja turvallisuuskohdat.

Aikaisemmin on käytetty neljää tärkeintä menetelmää halvemman ribonukleosidin, 5-metyyliuridiinin (5-MU), muuttamiseksi d4T:ksi:

25 (1) 5-MU:n syklisen tionokarbonaattijohdannaisen Corey-Winter-lämpöhajotusta trialkyylifosfiitin avulla. Katso julkaisu L. Dudycz, Nucleosides and Nucleotides, 8 (1), 35 - 41 (1989);

30 (2) Eastwood-reaktiota, jossa käytetään 5-MU-fragmenttien syklistä ortoesteriä vastaavien d4T-johdannaisten tuottamiseksi. Katso julkaisu H. Shiragamai et al., J. Org. Chem., 1988, 53, 5170 - 5173;

(3) 5-MU:n 2',3'-bis-ksantaattijohdannaisen pelkistävää eliminointia, jossa käytetään tributyyliitinahydri-

diä. Katso julkaisu C. K. Chu et al., J. Org. Chem., 1989, 54, 2217 - 2225 ja

(4) cis-2'-halo-3'-karboksyyliestereiden eliminointia sinkkipelkistyksen avulla 2',3'-olefiininukleosidien
5 tuottamiseksi. Katso julkaisu M. Mansuri et al., J. Org. Chem., 1989, 54, 4780 - 4785.

Näillä menetelmillä on tiettyjä haittapuolia. Menetelmiin (2) ja (4) liittyvä suurin ongelma on nukleosidoksen merkitsevä pilkkoutuminen, joka johtaa tymiinin
10 muodostumiseen hankalasti poistettavana sivutuotteena. Muiden puutteiden muassa menetelmät (1) ja (3) vaativat molemmat valikoivaa 5'-OH-ryhmän esisuojausta.

Vierekkäisten bromitosylaattien sinkkipelkistys olefiineiksi on julkaistu julkaisussa Cristol & Rademacher, J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, 1600 - 1602.
15

2'-bromi-3'-metaanisulfonyyliesterin sinkkipelkistystä on käytetty 2',3'-dideoksi-2',3'-didehydrouridiini-johdannaisten valmistamiseksi. Katso julkaisu Ishida et al., Kokai No. JP 05 097 847-A, 5 (1993).

20 Furukawa et al., kuvaavat 2',3'-dideoksiuridiinin tuotannon 2'-bromi-2'-deoksi-3'-mesyyliuridiinijohdannaisen Pd-hydrauksen kautta julkaisussa Chem. Pharm. Bull., 18, 554 (1970). Tämä menetelmä ei kuitenkaan tuota tulokseksi 2',3'-kaksoissidoksen omaavan tuotteen, kuten
25 d4T:n, eristämistä.

Vähemmän merkitystä on Wilsonin julkaisulla US-patentissa 4 921 950, joka kattaa AZT:n valmistuksen lähtien D-ksyloosista. Lähtöaine, välituotteet ja tuote eivät ole samoja kuin tämän patenttihakemuksen menetelmässä.

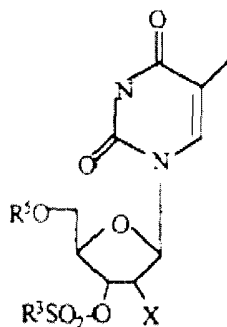
30 Yhteenvetona mikään edellä esitetyistä viitteistä ei opeta tai tee ilmeiseksi tämän keksinnön taloudellista d4T-menetelmää, joka tuottaa d4T:n tehokkaan ja vähemmän kustannuksia vaativan tuotannon suuressa mittakaavassa.

Keksinnön yhteenveto

Tämä menetelmä on aikaisempia taloudellisempi menetelmä d4T:n tuottamiseksi lähtien 5-metyyliuridiinista kalliimman lähtöaineen, tymidiinin, sijasta. Tämä menetelmä sisältää myös erilaisia muunnelmia reaktiojärjestyksen ja lähtöaineiden ja tuotteiden käsittelyn, prosessoinnin ja puhdistamisen valinnassa tuottaen tulokseksi menetelmän, joka on erityisen käyttökelpoinen sopeutettavaksi laajamittaista valmistusta varten. Erityisen käyttökelpoinen välituote, tymidiinin cis-2' α -halo-3' α -sulfonaattiesteri johdannainen, julkaistaan myös käytettäväksi tässä menetelmässä.

Keksinnön yksityiskohtainen kuvaus

Laajimmassa merkityksessään keksintö on aikaisempia halvempi menetelmä, joka on sopeutettavissa laajamittaiseen tuotantoon, d4T:n tuottamiseksi. Menetelmä aloitetaan 4-metyyliuridiinista (5-MU) ja se etenee 5-MU:n uuden cis-2' α -halo-2'-deoksi-3' α -sulfonaattiesteri johdannaisen kautta, jolla on yleinen kaava (V).



V

Kaavassa V R^5 voi olla vety tai hydroksyyliä suojaava ryhmä; R^3 voi olla C_{1-6} -alkyyli, C_{6-30} -aryyli, C_{1-6} -alkoksi tai C_{6-30} -aryylioksi; ja X voi olla Cl, Br tai I. "Hydroksyyliä suojaavalla ryhmällä" tarkoitetaan osuutta, joka suojaa 5'-happea ottamasta osaa tiettyihin reaktioihin, joissa toivotaan eristämistä reaktiosta, ja sitten happeen sitoutunut suojaryhmäosuus voidaan muuttaa helposti

takaisin hydroksyyli-ryhmäksi. Edullisia hydroksyyliä suo-
jaavia ryhmiä, joita voidaan käyttää, ovat trialkyylisilyy-
li- ja alkoksikarbonyyli-ryhmät sekä alkyyli- tai aryylikar-
boksyyliesteriryhmät, joilla on C₁₋₆-alkyyli- tai C₆₋₃₀-aryy-
5 lijäännökset. Yhdisteen (V) käyttämiseksi tässä menetelmäs-
sä bentsoyyli on edullinen R⁵-osuus, R³ on metyyli ja X on
bromi.

Suppeammassa merkityksessään keksintö käsittelee
d4T:n tuotantoa käytännöllisen taloudellisen menetelmän
10 avulla, joka voidaan sopeuttaa d4T:n laajamittaiseen val-
mistukseen. Kokonaisuudessaan menetelmä aloitetaan 5-MU:sta
(kaava X) ja se etenee kaaviossa 1 esitettyjen reaktioiden
mukaisesti.

Kuten kaaviossa 1 on esitetty, d4T-menetelmä käsit-
15 tää seuraavat kemialliset reaktiot:

(a) 2',3',5'-tri-O-mesyyli-5-metyyliuridiinin (IX)
tuotannon 5-MU:sta; parannukset tässä vaiheessa koskevat
polaarisen liuottimen, kuten asetonin, käyttöä ja orgaani-
sen emäksen noin 2 - 4 ekvivalentin käyttöä, jolloin mai-
20 nittu orgaaninen emäs on vahvempi kuin pyridiini, mutta
heikompi kuin trietyyliamiini. Käyttökelpoisia orgaanisia
emäksiä ovat emäkset, kuten pikoliinit, lutidiinit ja edul-
lisesti N-metyylimorfoliini; itse asiassa emäkset, joiden
pk-arvo on 5,5 - 8,0. Reaktio etenee lämpötiloissa, jotka
25 ovat esimerkiksi huoneenlämpötilasta noin 65 °C:seen, ja on
tapahtunut täydellisesti noin 0,5 - 2,0 tunnin kuluessa.

(b) Di-mesyloidun 2,2'-anhydro-5-metyyliuridiinin
(VIII) tuotannon käsittelemällä yhdiste (IX) vahvalla hyd-
roksidiliuoksella, kuten 6 N NaOH:lla.

30 (c) 5'-mesyyli-ryhmän syrjäyttämisen saattamalla yh-
diste (VIII) reagoimaan bentsoaattianionin kanssa DMF:ssa,
jolloin saadaan 5'-bentsoaattiesteri välituote (VII). Kali-
um- ja natriumbentsoaatti ovat edullisia reagensseja.

(d) Halogenoinnin käyttäen asetyylihalidia metanolissa tai hydrohalogeenihappoa etikkahapossa, jolloin saadaan välituote, jolla on yleinen rakenne (V). Erityisesti yhdisteen (VII) käsittely HBr/HOAc:lla tuottaa uuden cis-2' α -bromi-3'- α -mesyyli välituotteen (VI).

(e) Yhdisteen (VI) pelkistävän eliminoinnin metallisen pelkistävän aineen, edullisesti sinkin tai sinkkiparin, kuten Zn-Cu:n, avulla, jolloin saadaan d4T:n (III) 5-bentsoaattiesteri. Tämän spesifisen pelkistävän eliminoinnin etu on, että se etenee puhtaasti tuottaen suuren saannon, samalla kun hankalasti tuotteesta erotettavaa tyymiä muodostuu pilkkoutumisen tuloksena vain vähän tai ei ollenkaan.

(f) 5'-bentsoaattiesteri välituotteesta (III) poistetaan suojaus puhtaasti helpossa reaktiossa n-butyylimiinin kanssa. N-metyylipyrrolidinonin (NMPO) lisääminen butyyliasetaatissa tekee mahdolliseksi d4T·NMPO-solvaatin (II) eristämisen reaktioseoksesta. Tämä eristäminen NMPO-solvaatin kautta eliminoi tehokkaasti saasteet, jotka on vaikea erottaa tuotteesta, erityisesti suurtuotannossa.

(g) Solvaatti (II) hajotetaan kuumentamalla isopropanolissa, jolloin saadaan suuri saanto puhdasta d4T:a.

Tämä keksintö ei käsitä vain kokonaista reaktiojärjestystä, kuten kaaviossa 1 on esitetty, vaan myös d4T:n tuotannon uudesta kaavan (VI) välituotteesta ja tuotteen eristämisen/puhdistamisen d4T·NMPO-solvaatin II kautta erotettavina ja erillisinä menetelminä sinänsä.

d4T:n kaupallista laajamittaista tuotantoa varten 5-MU:sta edullista on reaktiojärjestys, joka on vähennettävissä minimimäärään prosessivaiheita ja välituotteen eristämisiä ja/tai puhdistamisia. Tässä mielessä kaavion I perusreaktiot voidaan järjestää moneen järjestykseen johtaen d4T-tuotteeseen, kuten on esitetty kaaviossa 2. Tämän keksinnön toinen näkökohta on synteettisen järjestyksen valinta, joka maksimoi tehokkuuden suurtuotannossa tehden

mahdolliseksi reaktioiden yhdistelmän sekä välituotteiden minimaalisen eristämisen ja/tai puhdistamisen menetelmän vaiheissa. Tutkimuksen ja kokeilun jälkeen on kehitetty seuraava uusi menetelmä ja siitä esitetään yhteenveto kaaviossa 3.

Kaavion 3 menetelmä käsittää seuraavat vaiheet:

(a) 5-MU:n 2',3'- ja 5'-hydroksiryhmien mesyloinnin saattamalla ne reagoimaan mesyylikloridin kanssa orgaanisen emäksen, kuten lutidiinien, pikoliinien tai edullisesti N-metyylimorfoliinin, läsnä ollessa; sen jälkeen käsittelyn vesipitoisella hydroksidilla 2,2'-anhydrotymidiini johdannaisen (VIII) saamiseksi.

(b) 5'-mesyyli-ryhmän syrjäyttämisen bentsoaatti-anionin avulla ja sen jälkeen hydrobromauksen 5'-bentsoyyli-2' α -bromi-3' α -mesyyli-tymidiiniyhdisteen (VI) saamiseksi ja sen jälkeen yhdisteen (VI) pelkistävän eliminoinnin pelkistävien metallien, edullisesti sinkin tai sinkki-kupari-parin, avulla d4T:n (III) 5-bentsoaattiesterin tuottamiseksi.

(c) Suojauksen poiston yhdisteen (III) 5'-hydroksiasemasta saattamalla se reagoimaan butyyliamiinin kanssa ja sen jälkeen käsittelemällä N-metyylipyrrolidinonilla butyyliasetaatissa d4T·N-metyylipyrrolidinonisolvaatin (II) saostamiseksi, joka eristetään suodattamalla reaktioseoksesta.

(d) Erittäin puhtaan d4T:n (I) muodostamisen saannon ollessa suuri desolvatoimalla d4T·NMPO-solvaatti (II) lämmittämällä sitä alkoholiväliaineessa, edullisesti isopropanolissa.

Tässä menetelmässä bentsoyylin (tai muun asyyli-ryhmän) poistaminen 5'-asemasta toteutetaan n-butyliamiinin avulla. Tällaista amiinin reaktiota esterin kanssa ei käytetä usein, koska tarvittavat reaktio-olosuhteet ovat yleensä äärimmäisiä (erityisesti lämpötila ja reaktioai-

ka). Reaktion sivutuotteet ovat myös ongelmallisia, koska ne ovat usein hankalia erottaa tuotteesta.

5 Toinen ongelma, joka mutkistaa 5'-asyyliryhmän poistamista d4T:sta on d4T:n suuri liuokoisuus veteen ja alkoholeihin. Vesi ja alkoholi tai näiden seokset ovat
10 tyypilliset liuottimet, joita käytetään 5'-suojuksenpoistoreaktioissa. Aikaisemman tekniikan d4T-synteeseissä käytetään natriummetoksidia metanolissa 5'-suojuksenpoiston saavuttamiseksi. Koska uutot vesipitoisilla liuottimilla
15 eivät erota sivutuotenaatriumsuoloja vesiliukoisesta tuotteesta, niin käytetään tavallisesti vahvoja happohartseja suojuksenpoistoreaktiossa syntyvien natriumsuolojen poistamiseksi. Tätä seuraa metanolin poistaminen ja sen jälkeen d4T:n eristäminen metyleenikloridiseoksesta.

15 Laajamittaista tuotantoa varten vahvojen happohartsien käyttö ja metanoliväliaineen korvaaminen metyleenikloridilla ovat epämieluisia toimenpiteitä sinänsä ottamatta huomioon näiden eristämisen ja puhdistamistoimenpiteiden muita epäsuotuisia näkökohtia.

20 Sitä vastoin tämän keksinnön uusi suojuksenpoisto/eristämisen/puhdistamismenetelmä käsittää seuraavat vaiheet:

- sekoitetaan 5'-asyyli-d4T-välituotetta butyyliamiinissa noin 70 °C:n lämpötilassa noin 6 tunnin ajan;
- 25 - lisätään NMPO ja butyyliasetaatti;
- poistetaan ylimääräinen butyyliamiini (ja jonkin verran butyyliasetaattia) tyhjässä;
- jäähdytetään noin -10 °C:seen ja suodatetaan sakka, joka pestään kylmällä butyyliasetaatilla ja haluttaessa uunikuivataan tyhjässä noin 50 °C:n lämpötilassa.
- 30

Tämä menetelmä ei ole vain tehokkaampi, vaan se eliminoi ongelman, jonka aiheuttaa vesiliukoisen d4T:n saastuminen vaikeasti poistettavilla epäorgaanisilla suoloilla.

Tämä tehokkaampi menetelmä d4T:n valmistamiseksi 5-MU:sta tarjoaa etuja, jotka eivät koske vain tuotteen saantoa ja puhtautta, vaan myös sopeutettavuutta laajamittaiseen tuotantoon johtuen sovitettavista menetelmän vaiheista ja reagensseista ja reaktio-olosuhteista, joita menetelmän vaiheissa käytetään.

Yhteenvetona aikaisempaa vähemmän kustannuksia vaativa menetelmä d4T:n ja siihen läheisesti liittyvien analogien valmistamiseksi on mukautettavissa laajamittaiseen käyttöön valitsemalla menetelmän vaiheet ja reagenssit, reaktio-olosuhteet ja eristämis/puhdistamistoimenpiteet, jotka tuottavat tehokkaan menetelmän minimoiden hankalat epäpuhtaudet ja tuotteen hajoamisen sekä tuottaen suuren saannon puhdasta tuotetta muodostamatta jätteitä, jotka ovat joko myrkyllisiä tai niiden määrä on suuri.

Spesifisten suoritusmuotojen kuvaus

Tämän keksinnön parannettua menetelmää kuvataan yksityiskohtaisemmin seuraavien esimerkkien avulla, jotka on kohdistettu edellä kuvattujen menetelmän vaiheiden edullisiin suoritusmuotoihin. Näitä esimerkkejä ei pitäisi tulkita tämän keksinnön piiriä rajoittaviksi millään tavoin. Joitakin esimerkkeinä esitettyjä yhdisteitä ei ole itse asiassa eristetty, mutta ne on toimitettu tämän keksinnön menetelmän vaiheisiin. Muut seuraavassa esitetyt esimerkit osoittavat aikaisemmin käytetyn menettelyn vertailun vuoksi menettelyn kanssa, joka on suunniteltu käytettäväksi tässä menetelmässä.

A. Yhdiste IX

Esimerkki 1

2',3',5'-tris(metaanisulfonyyli)-5-metyyliuridiini
a. Pyridiinimenetelmä

Sekoitettavaan seokseen, jossa oli 5-metyyliuridiinia (12,8 g, 50 mmol) pyridiinissa (75 ml) 0 °C:n lämpötilassa, lisättiin metaanisulfonyylikloridia (17,4 ml, 225 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin 0 °C:n lämpötilassa vii-

den tunnin ajan, sitten se kaadettiin jääveteen (500 ml) sekoittaen. Tris(metaanisulfonyyli)-5-metyyliuridiini (IX) saostui ja seosta sekoitettiin 5 minuutin ajan. Kiinteä tuote kerättiin talteen suodattamalla ja pestiin vedellä (3 x 200 ml) ja kuivattiin. Saanto 21,6 g, 89 %.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,77 (s, 3H), 3,24 (s, 3H), 3,34 (s, 3H), 3,36 (s, 3H), 4,47 - 4,60 (m, 2H), 5,33 (m, 1H), 5,54 (m, 1H), 5,97 (d, J = 4,5 Hz, 1H), 7,56 (s, 1H), 11,56 (s, 1H).

10 b. N-metyylimorfoliinimenettely

N-metyylimorfoliini (29,6 ml, 266 mmol) lisättiin lietteeseen, jossa oli 5-metyyliuridiinihemihydraattia (15,64 g, 58,5 mmol) asetonissa (68 ml), ja tulokseksi saatu seos jäähdytettiin 5 °C:n lämpötilaan. Siihen lisättiin liuos, jossa oli metaanisulfonyylikloridia (20,1 ml, 255 mmol) asetonissa (30 ml), 45 minuutin kuluessa, mikä aiheutti reaktiolämpötilan nousemisen 45 - 50 °C:seen. Seosta sekoitettiin vielä 1,4 tunnin ajan, minkä jälkeen N-metyylimorfoliinihydrokloridi poistettiin suodattamalla ja kakku pestiin asetonilla (2 x 30 ml). Suodos ja pesunesteet yhdistettiin ja lisättiin veteen (1 l) 10 - 15 °C:n lämpötilassa. Seosta sekoitettiin 1,1 tunnin ajan, minkä jälkeen valkoinen sakka suodatettiin, pestiin vedellä (2 x 75 ml) ja kuivattiin tyhjässä. Saanto 27,95 g, (97 %).

25 B. Yhdiste VIII

Esimerkki 2

3',5'-di-O-metaanisulfonyyli-2,2'-anhydro-5-metyyliuridiini

30 Sekoitettavaan seokseen, jossa oli 5-metyyliuridiinia (200 g, 0,748 mol) asetonissa (400 ml) 5 °C:n lämpötilassa, lisättiin N-metyylimorfoliinia (NMM, 380 ml, 3,46 mol). Saatuun seokseen lisättiin liuos, jossa oli mesyylikloridia (256 ml, 3,31 mol) asetonissa (40 ml), antaen
35 reaktiolämpötilan saavuttaa 65 °C kymmenessä minuutissa.

Astian lämpötilaa pidettiin 60 - 65 °C:ssa enimmäkseen lisäyksen ajan. Sitten reaktioseosta sekoitettiin kahden tunnin ajan, kunnes vähitellen saavutettiin 25 °C:n lämpötila. NMM-HCl-suola suodatettiin ja kakku pestiin asetonilla (3 x 350 ml). Suodos ja asetonihuuhtelu yhdistettiin ja lisättiin vettä (400 ml). Reaktioseoksen pH säädettiin arvoon 8,8 - 9,0 6 N NaOH:n avulla käyttäen automaattista titrauslaitetta, samalla nostaen lämpötila 50 - 55 °C:seen. Astiaa sekoitettiin yhden tunnin ajan 50 °C:n lämpötilassa, sen jälkeen kun pH-arvo 9 oli säilynyt suunnilleen 30 minuutin ajan. Tulokseksi saatu paksu liete jäädytettiin sitten 2 - 5 °C:n lämpötilaan ja suodatettiin. Kakku pestiin 3 x 600 ml:lla vettä ja kuivattiin, jolloin saatiin välituote (VIII), 266 g (89,7 %).

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,80 (s, 3H), 3,16 (s, 3H), 3,41 (s, 3H), 4,16 (m, 1H), 4,34 (m, 1H), 4,70 (m, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,62 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 6,40 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H).

C. Yhdiste VII

Esimerkki 3

5'-bentsoyyli-3'-metaanisulfonyyli-2,2'-anhydro-5-metyyliuridiini

Sekoittettavaan lietteeseen, jossa oli natriumbentsoaattia (10 g, 69,3 mmol) asetamidissa (50 g) 115 °C:n lämpötilassa, lisättiin 2',3',5'-tris(metaanisulfonyyli)-5-metyyliuridiinia (IX, 10 g, 20,3 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin 115 °C:n lämpötilassa 65 minuutin ajan ja sitten se kaadettiin jääveteen (2 l). Seosta sekoitettiin 0 °C:n lämpötilassa 15 minuutin ajan. Valkoinen kiinteä aine suodatettiin, pestiin vedellä (2 x 50 ml) ja kuivattiin, jolloin saatiin yhdiste (VII), 7,76 g (90 %).

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,74 (s, 3H), 3,44 (s, 3H), 4,16 - 4,33 (m, 2H), 4,78 (m, 1H), 5,63 (s, 1H), 5,68 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 6,45 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,47 - 7,89 (m, 5H).

D. Yhdiste VI**Esimerkki 4****5'-bentsoyyli-3'-metaanisulfonyyli-2'-bromitymi-
diini****5 a. 5'-bentsoyyli-3'-metaanisulfonyyli-2,2'-anhydro-
5-metyyliuridiinista (VIII)**

Sekoitettavaan seokseen, jossa oli 5'-bentsoyyli-3'-metaanisulfonyyli-2,2'-anhydro-5-metyyliuridiinia (VIII) (4,0 g, 9,5 mmol) etyyliasetaatissa (100 ml) ja metanolissa (10 ml), lisättiin asetyylibromidia (5 ml, 67,7 mmol). Reaktioseosta palautusjäähdytettiin yhden tunnin ajan ja sitten se jäähdytettiin. Reaktioseos siirrettiin erotussuppiloon. Lisättiin etyyliasetaattia (150 ml). Liuos pestiin kyllästetyllä natriumbikarbonaatilla (100 ml) ja sen jälkeen kyllästetyllä suolaliuoksella (100 ml). Orgaaninen kerros erotettiin ja kuivattiin MgSO₄:lla. Liuottimen poistaminen tuotti kiinteän tuotteen (VI). Saanto 4,86 g, 100 %.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,63 (s, 3H), 3,37 (s, 3H), 4,50 - 4,55 (m, 1H), 4,60 - 4,64 (m, 2H), 5,09 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 5,47 (m, 1H), 6,14 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,50 - 8,04 (m, 5H), 11,56 (s, 1H).

b. 2',3',5'-tris(metaanisulfonyyli)-5-metyyliuridiinista (IX)

Lietteeseen, jossa oli jauhettua natriumbentsoaattia (3,5 g, 24,3 mmol) DMAc:ssa (25 ml) 90 °C:n lämpötilassa, lisättiin tris(metaanisulfonyyli)-5-metyyliuridiinia (IX, 5,0 g, 10,2 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin 5,5 tunnin ajan 90 °C:n lämpötilassa. Lisättiin HBr/HOAc:a (30 - 32 %, 5 ml, 25,1 mmol) ja reaktioseosta sekoitettiin yhden tunnin ajan. Jäähdyttämisen jälkeen reaktioseos laimennettiin 500 ml:lla etyyliasetaattia ja 100 ml:lla vettä. Faasit erotettiin ja orgaaninen faasi pestiin 100 ml:lla vettä, 50 ml:lla kyllästettyä suolaliuosta ja kui-

vattiin MgSO_4 :lla. Liuottimen poistaminen tuotti yhdisteen (VIa), 5,01 g (98 %).

E. Yhdiste III

Esimerkki 5

5 5'-bentsoyyli-2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiini
 (5'-bentsoyyli-d4T)

a. 5'-bentsoyyli-3' α -metaanisulfonyyli-2' α -bromity-
 midiinista (VI)

5'-bentsoyyli-3'-metaanisulfonyyli-2'-bromi-5-me-
10 tyyliuridiini (VI, 6,0 g, 11,9 mmol) suspendoitiin etyy-
 liasetaatin (112,5 ml) ja metanolin (37,5 mmol) seokseen.
 Tähän lietteeseen lisättiin etikkahappoa (0,68 ml) ja
 sinkkipölyä (1,36 g) 18 °C:n lämpötilassa. Sitten 3,5 tun-
 nin kuluttua ylimääräinen sinkki poistettiin suodattamalla
15 ja kakku pestiin etyyliasetaatin ja metanolin 3 : 1 -seok-
 sella (2 x 30 ml). Liuotin poistettiin tyhjössä ja lisät-
 tiin vielä etyyliasetaatin ja metanolin 3 : 1 -seosta
 (20 ml). Sitten tähän lietteeseen lisättiin vettä
 (225 ml). Tulokseksi saatu liete suodatettiin ja tuote
20 pestiin vedellä ja kuivattiin. Saanto 3,8 g (97 %) väli-
 tuotetta (III).

^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$): δ 1,35 (s, 3H), 4,41 - 4,48 (m,
2H), 5,10 (m, 1H), 6,04 (d, J = 5,8 Hz, 1H), 6,53 (d, J =
5,8 Hz, 1H), 6,80 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,51 - 7,95 (m,
25 5H), 11,37 (s, 1H).

b. 3',5'-bis(metaanisulfonyyli)-2,2'-anhydro-5-
 metyyliuridiinista (VIII)

Sekoitettavaan seokseen, jossa oli 3',5'-bis(metaa-
nisulfonyyli)-2,2'-anhydro-5-metyyliuridiinia (VIII,
30 200 g, 0,505 mol) DMF:ssä (600 ml) 95 - 97 °C:n lämpöti-
 lassa, lisättiin jauhattua natriumbentsoaattia (79,56 g,
 0,552 mol) annoksittain yhden tunnin kuluessa. Tulokseksi
 saatua seosta sekoitettiin vielä viiden tunnin ajan 95 -
 97 °C:n lämpötilassa. Seos jäädytettiin 80 °C:n lämpöti-
35 laan, minkä jälkeen siihen lisättiin asetyylibromidia

(3,8 ml) ja HBr/HOAc:a (30 - 32 %, 120 ml, 0,605 mol). Reaktioseosta sekoitettiin 90 °C:n lämpötilassa 1 - 2 tunnin ajan, sitten se jäähdytettiin 0 - 5 °C:n lämpötilaan. Sinkkipölyä (42,8 g, 0,655 mol) lisättiin annoksittain ja reaktioseoksen annettiin reagoida eksotermisesti 50 - 55 °C:n lämpötilaan. Sitten reaktioseosta sekoitettiin 18 - 25 °C:n lämpötilassa yhden tunnin ajan. Lisättiin bromietikkahappoa (21,0 g) ja seosta sekoitettiin 2 - 3 tuntia ylimääräisen sinkkimetallin kuluttamiseksi. Tulokseksi saatuun kirkkaaseen liuokseen lisättiin seuraavaksi vettä (1,5 - 2,0 l) ja astia jäähdytettiin 2 °C:n lämpötilaan. Liete suodatettiin ja kakku pestiin jäävedellä (6 x 600 ml) ja sitten kylmällä IPA:lla (-10 °C, 400 ml). Kakku kuivattiin vakiopainoon, 136,9 g (87,9 %).

15 c. 2',3',5'-tris(metaanisulfonyyli)-5-metyyliuridiinista (IX)

 Lietteeseen, jossa oli jauhattua natriumbentsoaattia (3,5 g, 24,3 mmol) DMF:ssa (25 ml) 90 °C:n lämpötilassa, lisättiin tris(metaanisulfonyyli)-5-metyyliuridiinia (IX, 5,0 g, 10,2 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin 5,5 tunnin ajan 90 °C:n lämpötilassa. Lisättiin HBr/HOAc:a (30 - 32 %, 5 ml, 25,1 mmol) ja reaktioseosta sekoitettiin yhden tunnin ajan. Reaktioseos jäähdytettiin 25 °C:n lämpötilaan ja siihen lisättiin sinkkipölyä (2,0 g, 30,6 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin 30 minuutin ajan. Ylimääräinen sinkki poistettiin suodattamalla ja pestiin 2 x 100 ml:lla metanolia. Suodokseen lisättiin 100 ml jääkylmää vettä. Tulokseksi saatua lietettä sekoitettiin 0 °C:n lämpötilassa 30 minuutin ajan ja sitten se suodatettiin ja kuivattiin, jolloin saatiin 5'-bentsoyyli-d4T, 2,34 g (71 %).

F. Yhdiste II**Esimerkki 6****2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiini-N-metyylipyrrolidinonisolvaatti**

5 n-butyylimamiiniin (133 ml) lisättiin 5'-bentsoyylid4T:a (III, 70,0 g). Reaktioseosta kuumennettiin 70 °C:n lämpötilassa kuuden tunnin ajan. Se jäähdytettiin 20 - 25 °C:n lämpötilaan, minkä jälkeen siihen lisättiin N-metyylipyrrolidinonia (NMPO, 41,3 ml) ja n-butyliasetaattia (350 ml). Ylimääräinen n-butyylimamiini ($\approx$ 112,4 ml) yhdessä 175 ml:n kanssa n-butyliasetaattia poistettiin tyhjö-

10 tislamalla 50 °C:n lämpötilassa. Tulokseksi saatu liete jäähdytettiin 20 - 25 °C:n lämpötilaan yhden tunnin kuluessa ja sitä sekoitettiin 30 minuutin ajan. Sitten liete

15 jäähdytettiin -10 - -15 °C:n lämpötilaan ja sitä sekoitettiin 1,5 tunnin ajan. Kakku suodatettiin ja pestiin 2 x 50 ml:lla kylmää (-10 - -15 °C) n-butyliasetaattia ja kuivattiin, jolloin saatiin d4T·NMPO-solvaatti (II), 59,0 g (85,6 %).

20 G. Yhdiste I**Esimerkki 7****2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiini (d4T)****a. Metoksidimenetelmä**

Sekoitettavaan lietteeseen, jossa oli 5'-bentsoyylid4T:a (III) (2,4 g, 7,31 mmol) metanolissa (24 ml), lisättiin natriummetoksidiliuosta (4,8 ml, 25-%:inen, 21 mmol). Tulokseksi saatua liuosta sekoitettiin huoneen-

25 lämpötilassa 3 tunnin ajan. Reaktioseos neutraloitiin vahvalla happohartsilla (Dowex 50 x 8 - 200, esipesty metanolilla) pH-arvoon 4. Hartsia suodatettiin ja kakku pestiin metanolilla (2 x 10 ml). Metanolin poistaminen tuotti määrän kiinteän aineen, johon lisättiin metyleenikloridia (10 ml). Tulokseksi saatua seosta sekoitettiin 30 minuutin ajan ja sitten d4T-tuote (I) kerättiin talteen suodatta-

30

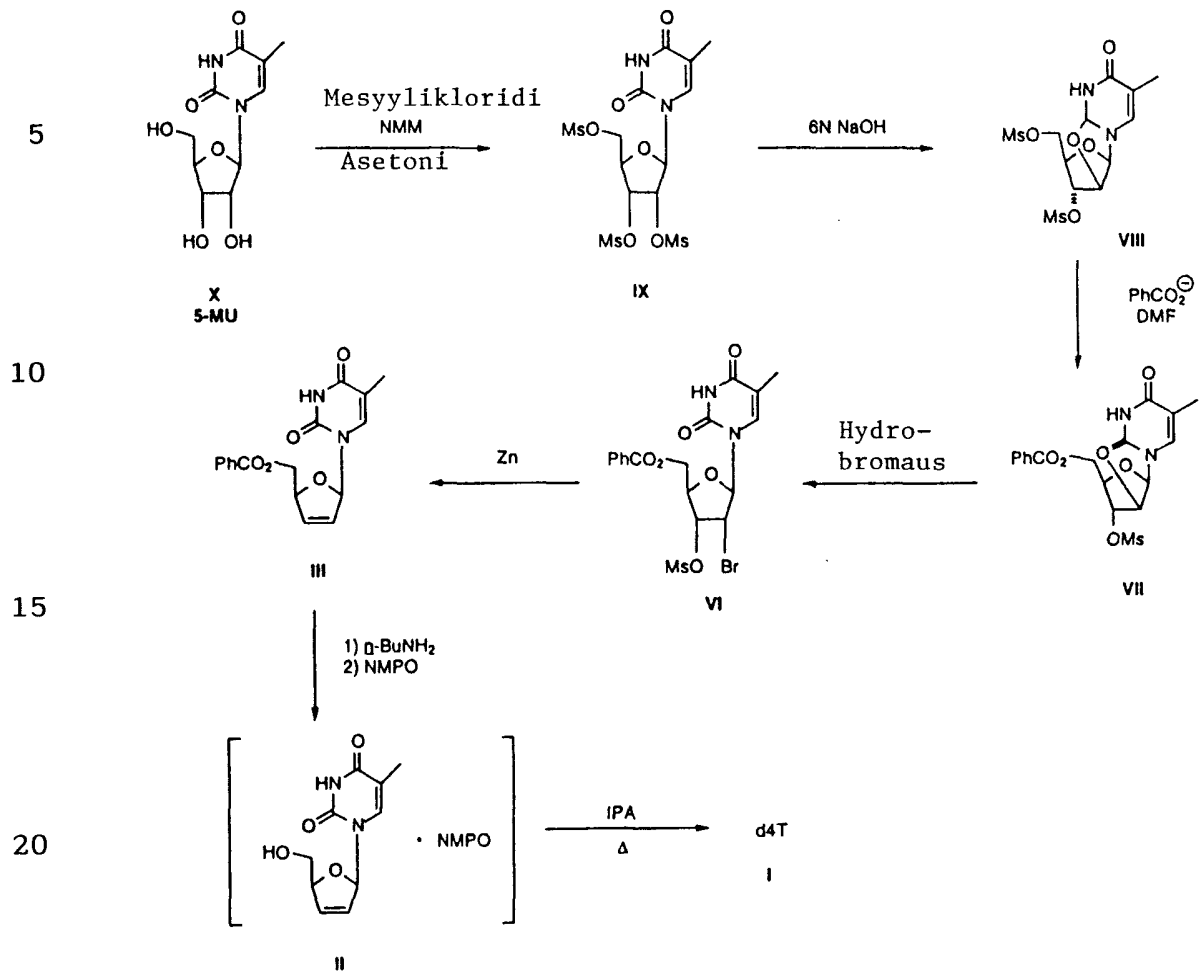
malla, pestiin metyleenikloridilla (2 x 5 ml) ja kuivat-
tiin. Saanto 1,29 g, 79 %.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 1,71 (s, 3H), 3,59 (m, 4,76),
(m, 1H), 4,76 (m, 1H), 5,02 (s, 1H), 5,89 (d, J = 5,7 Hz,
5 1H), 6,38 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 6,80 (s, 1H), 7,63 (s, 1H),
11,27 (s, 1H).

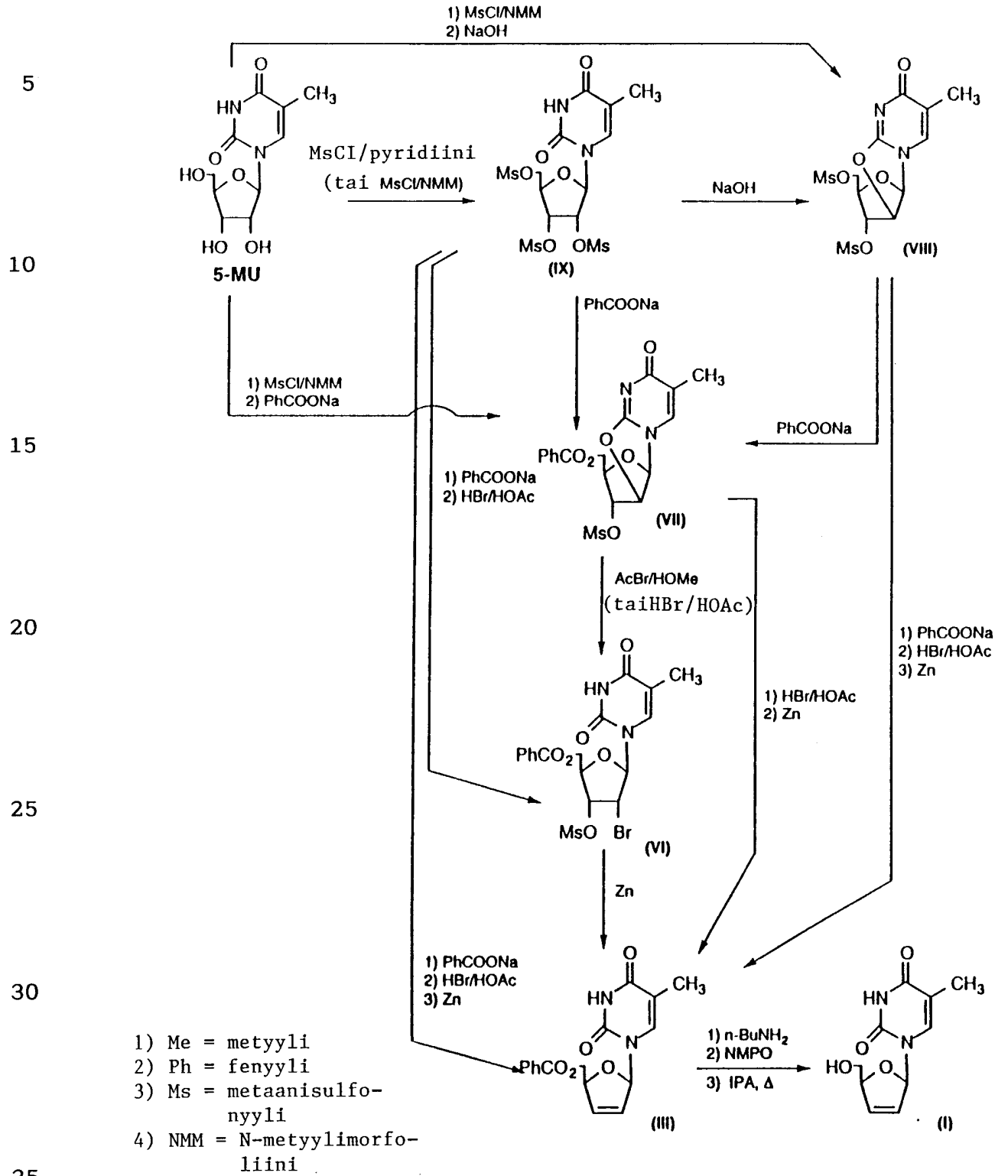
b. d4T·NMPO-solvaattimenetelmä

Lisättiin 500 ml:aan isopropanolia 50,0 g
d4T·NMPO:a (II), 5,0 g Dicalitea, 5,0 g Darco KB:tä. Seos-
10 ta kuumennettiin palautusjäähdyttäen ja sitten se suoda-
tettiin kuumana Dicalite-täytteen läpi. Suodatinkakku
huuhdottiin 150 ml:lla kuumaa isopropanolia. Suodos ja
huuhteluneste yhdistettiin ja väkevöitiin tyhjässä
200 ml:n lopulliseen tilavuuteen. Väkevöityä seosta kuu-
15 mennettiin palautusjäähdyttäen liuoksen saamiseksi ja sit-
ten se jäähdytettiin hitaasti, jolloin muodostui tuotteen
liete 50 °C:n lämpötilassa. Sitten liete jäähdytettiin
0 °C:n lämpötilaan ja sitä pidettiin tässä lämpötilassa 30
minuutin ajan. Kakku suodatettiin, pestiin kylmällä (0 °C)
20 isopropanolilla ja kuivattiin, jolloin saatiin d4T (I),
30,5 g (87,9 %).

Kaavio 1



Kaavio 2



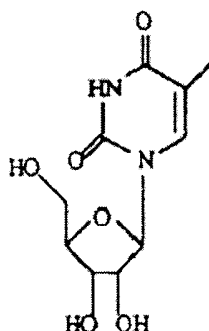
D4T-menetelmä 5-metyyliuridiinista

5	1) MsCl/NMM asetoni 2) 6N NaOH 5-MU VIII	Saanto 91%
15	1) 1 ekv. PhCOONa DMF 2) HBr/HOAc 3) Zn VIII III	87%
20	1) <i>n</i>-BuNH₂ 2) NMPO III II	88%
25	IPA II I	88%
30	Yhteensä	61%

Patenttivaatimukset

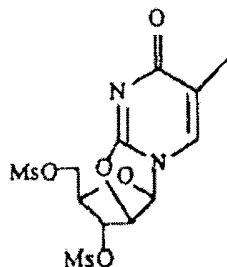
1. Menetelmä 2',3'-didehydro-3'-deoksitymidiinin (d4T) tuottamiseksi, tunnettu siitä, että se sisältää seuraavat vaiheet:

(a) saatetaan reagoimaan 5-metyyliuridiini (X) mesyylikloridin kanssa,



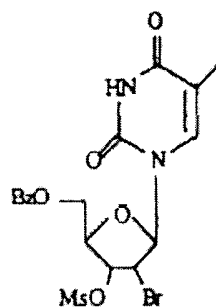
X

orgaanisen emäksen läsnä ollessa, jonka pK_a -arvo on noin 5,5 - 8,0, 2'-, 3'- ja 5'-hydroksiryhmien mesyloimiseksi, mitä seuraa käsittely hydroksidilla 2,2'-anhydroyhdisteen (VIII) tuottamiseksi:



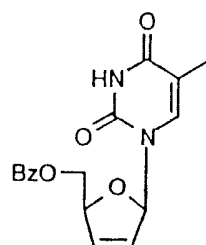
VIII

(b) syrjäytetään 5'-mesyyli-ryhmä bentsoaattianionin avulla ja sen jälkeen toteutetaan hydrobromaus 5'-bentsoyli-2'-bromiyhdisteen (VI) saamiseksi



VI

joka saatetaan pelkistävään eliminointiin pelkistävän metallin läsnä ollessa, jolloin saadaan d4T:n 5'-bentsoaattiesteri (III)



III

5

(c) käsitellään yhdiste (III) butyyliamiinilla ja sen jälkeen N-metyylipyrrolidinonilla ja butyyliasetaatilla, jolloin saadaan d4T.NMPO-solvatti (II) ja

10 (d) muodostetaan d4T-tuote (I) desolvatoimalla d4T.NMPO-solvaatti (II) alkoholiväliaineessa.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että orgaaninen emäs vaiheessa (a) on N-metyylimorfoliini.

15 3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että vaiheen (b) hydrobromaus toteutetaan HBr:n avulla etikkahapossa.

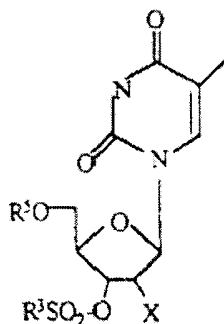
4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, tunnettu siitä, että vaiheen (b) pelkistävä metalli on sinkki.

20 5. Menetelmä raa'an d4T:n puhdistamiseksi, tunnettu siitä, että se käsittää 1) d4T:n N-metyylipyrrolidinonisolvaatin (II) muodostamisen ja eristämisen

menetelmän reaktioseoksesta ja 2) puhdistetun d4T:n muodostamisen hajottamalla solvaatti (II) kuumentamalla alkoholi-
väliaineessa.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen puhdistusmenetelmä, tunnettu siitä, että alkoholiväliaine solvaatin (II) hajottamiseksi on isopropanoli.

7. Nukleosidijohdannaisen synteesissä käyttökelpoinen välituote, tunnettu siitä, että sillä on kaava V



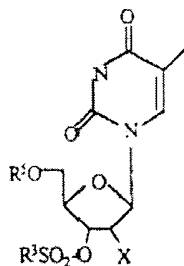
V

10 jossa R^5 on vety tai hydroksyyliä suojaava ryhmä; R^3 on C_{1-6} -alkyyli, C_{1-6} -alkoksi, C_{6-30} -aryyli tai C_{6-30} -aryylioksi; ja X on kloori, bromi tai jodi.

15 8. Patenttivaatimuksen 7 mukainen välituote, tunnettu siitä, että R^5 on bentsoyyli, R^3 on metyyli ja X on bromi.

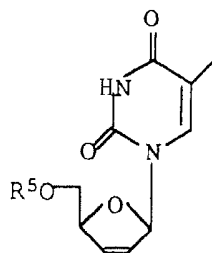
9. Menetelmä d4T:n tuottamiseksi, tunnettu siitä, että

20 (a) käsitellään yhdiste, jolla on kaava V, jossa R^5 on vety tai hydroksyyliä suojaava ryhmä; R^3 on C_{1-6} -alkyyli, C_{1-6} -alkoksi, C_{6-30} -aryyli tai C_{6-30} -aryylioksi; ja X on kloori, bromi tai jodi;



V

sinkkimetallilla, jotta saadaan yhdiste, jolla on kaava



(b) käsitellään edellä saatu yhdiste primaarisella
5 tai sekundaarisella alkyyliamiinilla ja sen jälkeen N-
metyylipyrrolidinonilla, jotta saadaan d4T.NMPO-solvaatti
(II); ja

(c) muodostetaan d4T-tuote desolvatoimalla d4TNMPO-
solvaatti (II) alkoholiväliaineessa.

10 10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä,
tunnettu siitä, että vaiheen (c) alkoholiväliaine on
isopropanoli.

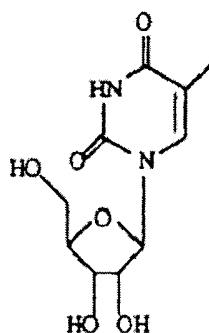
11. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä,
tunnettu siitä, että R³ on metyyli ja R⁵ on fenyyli.

15 12. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä,
tunnettu siitä, että vaiheen (b) alkyyliamiini on n-
butyyliamiini.

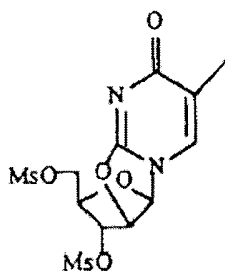
Patentkrav

1. Förfarande för framställning av 2',3'-didehydro-3'-deoxitymidin (d4T), k ä n n e t e c k n a t därav,
5 att det omfattar följande steg:

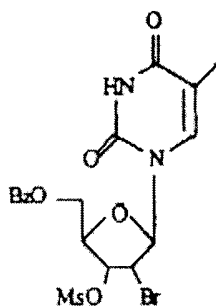
(a) 5-metyluridin (X) omsätts med mesylklorid

**X**

i närvaro av en bas, som har ett pK_a -värde av ca 5,5 -
10 8,0, för mesylering av 2'-, 3'- och 5'-hydroxigrupperna,
varefter följer behandling med hydroxid för åstadkommande
av 2,2'-anhydroföreningen (VIII):

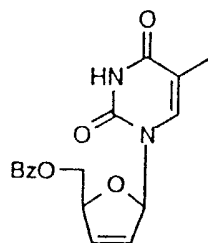
**VIII**

15 (b) 5'-mesylgruppen undanträngs med hjälp av ben-
soatanjon och därefter utförs hyrobromering för erhållande
av 5'-bensoyl-2'-bromföreningen (VI)



VI

som underkastas reduktiv eliminering i närvaro av en reducerande metall, varvid erhålls 5'-bensoatestern av d4T (III)



III

5

(c) föreningen (III) behandlas med butylamin och därefter med N-metylpyrrolidinon och butylacetat, varvid erhålls d4T.NMPO-solvatet (II) och

(d) d4T-produkten (I) bildas genom att desolvatera
10 d4T.NMPO-solvatet (II) i ett alkoholmedium.

2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att den organiska basen i steg (a)
är N-metylmorfolin.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
15 t e c k n a t därav, att hydrobromeringen i steg (b) ut-
förs med hjälp av HBr i ättiksyra.

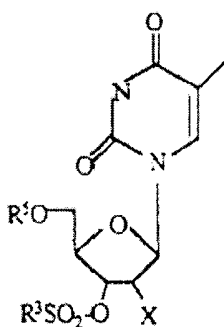
4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att den reducerande metallen i steg
(b) är zink.

20 5. Förfarande för rening av rått d4T, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att det omfattar 1) bildande och
isolering av ett N-metylpyrrolidinonsolvat av d4T (II) ur

en processreaktionsblandning och 2) bildande av renat d4T genom nedbrytning av solvatet (II) genom att upphetta i ett alkoholmedium.

6. Reningsförfarande enligt patentkrav 5, k ä n n e t e c k n a t därav, att alkoholmediumet för nedbrytning av solvatet (II) är isopropanol.

7. Mellanprodukt användbar vid syntes av nukleosidderivat, k ä n n e t e c k n a d därav, att den har formeln (V)



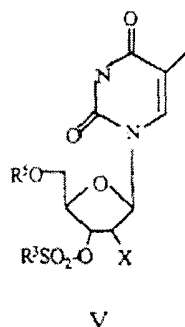
V

där R^5 är väte eller en hydroxylskyddande grupp; R^3 är C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkoxi, C_{6-30} -aryl eller C_{6-30} -aryloxi; och X är klor, brom eller jod.

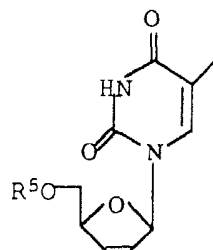
8. Mellanprodukt enligt patentkrav 7, k ä n n e t e c k n a d därav, att R^5 är bensoyl, R^3 är metyl och X är brom.

9. Förfarande för framställning av d4T, k ä n n e t e c k n a t därav, att

(a) en förening med formeln V, där R^5 är väte eller en hydroxylskyddande grupp; R^3 är C_{1-6} -alkyl, C_{1-6} -alkoxi, C_{6-30} -aryl eller C_{6-30} -aryloxi; och X är klor, brom eller jod;



behandlas med zinkmetall för erhållande av en förening med formeln



5

(b) den ovan erhållna föreningen behandlas med en primär eller sekundär alkylamin och därefter med N-metylpyrrolidinon för erhållande av d4T.NMPO-solvatet (II); och

10 (c) d4T-produkten bildas genom att desolvatera d4T.NMPO-solvatet (II) i ett alkoholmedium.

10. Förfarande enligt patentkrav 9, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att alkoholmediumet i steg (c) är isopropanol.

15 11. Förfarande enligt patentkrav 9, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att R^3 är metyl och R^5 är fenyl.

12. Förfarande enligt patentkrav 9, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att alkylaminen i steg (b) är n-butylamin.