

(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám

202249 B

(22) Bejelentés napja: 1988. 08. 26. (21) (4471/88)

Bejelentés elsőbbsége: (33) US
(32) 1987. 08. 28.
(31) 07/090,725

(51)

NSZO₅
C07H 19/04

(40) Közzététel napja: 1989. 03. 28.

(45) Megadás meghirdetésének dátuma
a Szabadalmi Közlönyben: 1991. 02. 28.

(72) Feltaláló(k):
CHOU, Ta-Sen
HEATH, Perry Clark
PATTERSON, Lawrence Edward
Indianapolis, Indiana, US

(73) Szabadalmaz:
Eli Lilly and Co.
Indianapolis, Indiana, US

(54) ÚJ ELJÁRÁS 2'-DEZOXI-2',2'-DIFLUOR-NUKLEOZIDOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

(57) KIVONAT

A találmány tárgya új eljárás a (XIII) általános képletű 2'-dezoxi-2',2'-difluor-nukleozid-származékok körülbelül 1:1 arányú α/β -anomer elegyének előállítására. A képletben

R hidrogénatom vagy (IX) általános képletű csoport, és

B (XIV), (XVII) vagy (XIX) általános képletű csoport, ahol

R¹ hidroxicsoprot,

R² bróm-, klór- vagy jódatom,

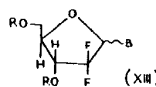
R³ hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport,

R⁴ hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport.

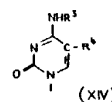
A leírás terjedelme: 20 oldal, 4 ábra



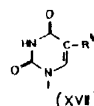
(IX)



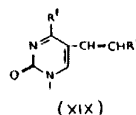
(XIII)



(XIV)



(XVII)



(XIX)

HU 202249 B

A találmány új eljárást nyújt 2'-deoxi-2', 2'-difluor-nukleozidok előállítására.

A 4,526,988 lajstromszámú amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás kitanítást ad arról, hogy a 2'-deoxi-2',2'-difluornukleozidok hasznos vírusellenes szerek. A 184,365 számú európai szabadalmi bejelentés ismerteti ugyanezeknek a vegyületeknek az alkalmazását rákellenes szerekként. Az ezekben a közleményekben ismertetett szintetikus eljárások olyan köztes termékeket foglalnak magukban, amelyek két kiralitási centrumot is tartalmazhatnak. Az egyik ilyen köztes termék, amelynek királis centruma van, eritro és treo enantiomereket tartalmazó védett lakton, ahol az enantiomereket az (I) általános (eritro) és a (II) általános képlet (treo) mutatja be; ahol a képleteken belül P jelentése valamely védőcsoport. A fenti közlemények ismertetik, hogy az eritro enantiomer az előnyös, mivel ez olyan szénhidrátot ad, amely a természetben előforduló ribóz sztereokémiájával bír. Az olyan szénhidrát, amely a természetben előforduló ribóz sztereokémiájával bír, azért előnyös, mert olyan nukleozid végterméket alakít ki, amely kiváló biológiai aktivitást mutat.

A 4,526,988 lajstromszámú amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás a fentebb említett eritro enantiomer előállítását úgy írja le, hogy először alkil-2,2-difluor-3-hidroxi-3-(2,2-dialkil-dioxolán-4-il)propionátot képeznek, amely 3-R- és 3-S-hidroxi enantiomereket tartalmaz, amelyeket a (III) általános képlet (3-R-) illetve (IV) általános képlet (3-S-) mutat be, ahol a képletben R⁴ és R⁵ jelentése egymástól függetlenül 1-3 szénatomos alkilcsoport; az arány az enantiomerek között mintegy 3 rész 3-R-enantiomer mintegy 1 rész 3-S-enantiomerre. A közlemény ismerteti, hogy a 3-R-hidroxi-enantiomereknek megfelelő a sztereokémiája ahhoz, hogy a kívánt eritro enantiomert alakítsa ki, és hogy a 3-R- és 3-S-enantiomereket csak drága, munkaigényes oszlopkromatográfiai eljárásokkal lehet szétválasztani.

A szabadalom kioktatást ad arról is, hogy amikor a 3-R-hidroxi enantiomert izolálják, azután hidrolizálnak igen enyhe körülmények között, hogy nem védett laktont képezzenek, nevezetesen az (V) képletű 2-deoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulózt.

A szabadalom kioktatást ad arról is, hogy a fenti vegyület képzéséhez alkalmas enyhe körülmények magukba foglalják hidrolizáló reagens alkalmazását is, pl. enyhe savas ioncserélő gyanták vagy viszonylag erős savak alkalmazását, pl. vizes ecetsav vagy klór-ecetsav alkalmazását, amelyek pKa értéke 2,8 és 5,0 között van. A hidrolizáló reagensek mindkét típusa okozhat gondokat a hidrolízises reakcióban. Így pl. ioncserélő gyanta alkalmazása nagy mennyiségű víz alkalmazását igényli, amely esetben különösen nagy léptékű reakciókban, a lakton gyakran visszaalakul nyitott láncú prekursora formájába vízre való érzékenysége miatt. A viszonylag erős savak másrészt kevésbé előnyös hidrolizáló reagens a 3-R-hidroxi enantiomer átalakításához a nem védett laktonná, mivel ezek nagy mennyiségű nem kívánt reakcióterméket termelnek, beleértve a nem reagált kiindulási terméket is.

Végül amikor a nem védett lakton keletkezik, ez átalakul a fentebb leírt védett eritro-laktonná valamilyen hidroxi-védőcsoport hozzáadásával a lakton hidroxi-csoportjaihoz.

Második királis centrum is keletkezik az anomer szénatomnál, amikor a lakton ketocsoportja alkohollá alakul át. Pontosabban a kívánt eritro-konfiguráció két anomerjét α - és β -anomerként azonosítjuk, amelyek képletét a (VI) illetve (VII) képlet mutatja be.

Az 1. helyzetnél levő nem védett hidroxil-csoportot végül helyettesíthetik valamilyen heterociklusos bázissal, pl. citozinnal, hogy a biológiailag aktív 2'-deoxi-2',2'-difluor-nukleozidok védett prekursorait nyerjék. A β -anomer prekursor előnyösebb, mivel ez a 2'-deoxi-2',2'-difluor-nukleozidokat szolgáltatja, amelynek nagyobb biológiai aktivitása van.

A 4,526,988 lajstromszámú amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás ismerteti a t-butil-dimetil-szilil alkalmazását védőcsoportként. Amikor ezt a védőcsoportot alkalmazzák a 2'-deoxi,2'-difluor-nukleozidok szintézisében, a termék mintegy 4:1 α/β anomer arányban alakul ki. Ezt a terméket drága, munkaigényes oszlopkromatográfiai eljárásokkal kell tisztítani, hogy izoláljuk a kívánt β -anomert.

A jelen találmány kényelmes eljárást nyújt olyan 2'-deoxi-2',2'-difluor-nukleozidok előállítására, amelyek a kívánt eritro- és β -sztereokémiával bírnak; ez az eljárás szükségtelenné teszi azt a terjedelmes oszlopkromatográfiai tisztítást, amelyet a korábbi eljárások igényeltek. Ezen kívül a jelen találmány nagyobb kitermelésű eljárást nyújt a kívánt eritro- és β -sztereokémiájú (XIII) általános képletű 2'-deoxi-2',2'-difluor-nukleozidok előállítására, mint ez korábban lehetséges volt. A fenti képletben R hidrogénatom vagy (IX) általános képletű csoport, és B (XIV), (XVII) vagy (XIX) általános képletű csoport, ahol R¹ hidroxicsoprot, R² bróm-, klór- vagy jódatom, R³ hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, R⁴ hidrogénatom vagy 1-4 szénatomos alkilcsoport, és az β/β anomer aránya körülbelül 1:1.

A jelen találmány szerinti eljárás intermedierjei a (VIII) általános képletű eritro- és treo laktonok enantiomer keverékei. Ezek előállítása abban áll, hogy egy (X) általános képletű alkil-2,2-difluor-3-hidroxi-3-(2,2-dialkil-dioxolán-4-il)-propionát 3-R- és 3-S-enantiomerjeinek vagy ezek védett származékainak keverékét, ahol a képletben R jelentése a fentebb megadott és R⁴ és R⁵ jelentése egymástól függetlenül 1-3 szénatomos alkilcsoport, hidrolizáljuk, hidrolizálószerként erős savat alkalmazva, majd a vizet azetrop desztillálással eltávolítjuk. Az eljárás kristályos laktont alakít ki, amely stabil, ennek megfelelően a visszalakulás a nyílt láncú prekursorra minimális szinten marad, akárcsak a nem-kívánatos reakciótermékek képződése.

Ugyancsak értékes intermedier a (XI) képletű 2-deoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát, mely szelektíven izolálható 95,0%-nál nagyobb tisztaságban a (XII) képletű eritro- és treo-laktonok enantiomer keverékéből; az eljárás abban áll, hogy az enantiomer keveréket metilén-kloridban, feloldjuk, az oldatot -5 °C és 10 °C közti hőmérséklettartományban lehűtjük, és a kicsapódó eritro enantiomert összegyűjtjük. Ilyen módon a kívánt eritro enantiomert kaphatjuk meg anélkül, hogy drága, munkaigényes oszlopkromatográfiai módszereket alkalmaznánk.

A jelen találmány továbbá eljárást nyújt legalább 80,0% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-

hidroklorid vagy hidrobromid szelektív izolálására a 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid vagy -hidrobromid 1:1 α/β anomer keverékéből; az eljárás abban áll, hogy az 1:1 α/β keveréket forró vízben feloldjuk, acetont adunk hozzá, az oldatot lehűtjük -10 °C és 50 °C közti tartományba és a kicsapódott β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid vagy -hidrobromid sőt összegyűjtjük. Az így készített β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridot vagy -hidrobromidot tovább tisztíthatjuk a fentebb leírt folyamat ismétlésével, az eljárást a fentebb összegyűjtött són alkalmazva, ilyen módon mintegy 99,0% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridot vagy -hidrobromidot kapunk.

Végül a jelen találmány eljárást nyújt mintegy 99,0% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin szelektív izolálására 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin vagy valamely szerves vagy szervesen savaddíciós sójának mintegy 1:1 α/β anomer keverékéből; az eljárás abban áll, hogy az α/β keveréket forró vízben feloldjuk, a vizes oldat pH-ját 7,0–9,0 közé növeljük, az oldat hőmérsékletét -10 °C és 30 °C közé állítjuk be, és a kicsapódott β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin szabad bázist összegyűjtjük. Az így előállított β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin szabad bázist átalakíthatjuk gyógyszerilag elfogadható szerves vagy szervesen savaddíciós sóvá; az eljárás abban áll, hogy a fentebb összegyűjtött szabad bázist forró vízben oldjuk, az oldathoz hozzáadjuk a gyógyszerilag elfogadható szerves vagy szervesen savat, az oldatot -10 °C és 40 °C közti hőmérséklettartományba lehűtjük, és a kicsapott, mintegy 99,0% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin savaddíciós sőt összegyűjtjük.

Mindkét fentebb leírt eljárás javítást jelent a szakirodalomban korábban ismert eljárásokhoz viszonyítva, mivel a β anomert úgy kaphatjuk meg, hogy nem alkalmazunk drága, munkaigényes oszlopkromatográfiás módszereket.

A 4,526,988 lajstromszámú amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírás a (XXI) általános képletű alkil-2,2-difluor-3-hidroxi-3-(2,2-dialkil-dioxolán-4-il)propionátok előállítását ismerteti, ahol a képletben R⁴ és R⁵ jelentése egymástól függetlenül 1–3 szénatomos alkilcsoport. A vegyület 3-R- és 3-S-hidroxi enantiomerekből áll, mintegy 3 rész 3-R-enantiomer és 1 rész 3-S-enantiomer arányban. A jelen találmány eljárást nyújt a fenti vegyületek vagy (X) általános képletű származékaik, ahol a képletben R jelentése hidrogénatom vagy (IX) képletű csoport, átalakítására valamely (VIII) általános képletű laktonná.

A fentebb említett védett kiindulási anyag származékot úgy lehet előállítani, hogy a nem védett alkil-2,2-difluor-3-hidroxi-3-(2,2-dialkil-dioxolán-4-il)propionátot reagáltatjuk benzoilbromiddal, kloriddal, cianiddal vagy aziddal. A reakciót kényelmesen -10 °C és 50 °C közti hőmérséklettartományban végezzük közömbös oldószerben, amelyhez savmegkötőt, pl. valamely tercier ament, adtunk. A reakciót kivitelezhetjük valamely bázisos oldószerben is, pl. piridinben, kinolinban, izokinolinban, vagy lutidinben, vagy tercier amin oldószerben, pl. trietil-aminban, tributil-aminban, metil-piperidinben, vagy hasonlóban. Ezekon kívül katalizátort, pl. 4-dimetil-amino-piridint vagy 4-pirrolidino-piridint is alkalmazhatunk a reakcióban, ha szükséges.

A 3-hidroxi-vegyületeket, vagy benzoillal védett származékaikat az alábbi módon alakítjuk laktonná. Először az izoalkilidén védőcsoportot szelektíven eltávolítjuk, a (XXII) általános képletű alkil-2,2-difluor-3,4,5-trihidroxi-pentanoát vagy alkil-2,2-difluor-3-(benzoil-oxi)-4,5-dihidroxi-pentanoát vegyületet alakítva ki.

Az izoalkilidén védőcsoport szelektív eltávolítását úgy érjük el, hogy hidrolizáló reagensként erős savat alkalmazunk. Az „erős sav” kifejezés, ahogyan itt alkalmazzuk, olyan savakat jelent, amelyek pKa értéke szobahőmérsékleten (22 °C) -10,0 és 2,0 között van. Az ilyen erős savakra példák lehetnek szervesen savak, pl. 1–8 normál sósav, 1–8 normál kénsav, és hasonlók, és szerves savak, mint pl. p-toluol-szulfonsav, trifluor-ecetsav, és hasonlók. Előnyös erős savak, amelyek pKa értéke -7,0 és 0,0 között van. Különösen előnyös erős savak a 6n kénsav, trifluor-ecetsav és p-toluol-szulfonsav. Az erős savakat általában katalitikus mennyiségben alkalmazzuk, bár a katalitikusnál nagyobb mennyiséget is alkalmazhatunk, ha szükséges. Tipikusan annyi savat alkalmazunk, amely elegendő ahhoz, hogy 0,05–0,5 mólek-vivalenst szolgáltatson az alkil-2,2-difluor-3-hidroxi-3-(2,2-dialkil-dioxolán-4-il)propionát kiindulási anyagra vagy ennek védett származékaira vonatkoztatva.

A propionát kiindulási anyagot és az erős savat megfelelő oldószerben feloldjuk és az oldat víztartalmát úgy állítjuk be, hogy a víztartalom 1–5 mólek-vivalens legyen a propionát kiindulási anyagra vonatkoztatva. Megfelelő oldószerek lehetnek a poláris oldószerek, pl. az alkoholok, mint a metanol, etanol, izopropanol, stb.; az acetonitril, és ezekkel rokon poláris oldószerek. Az oldat víztartalmát különböző módonkon állíthatjuk be, hogy 1–5 ekvivalens vizet tartalmazzon; további víz hozzáadásával a szerves vagy szervesen erős savban már jelen levő vízhez, olyan szervesen sav kiválasztásával, amely megfelelő normalitású ahhoz, hogy a kívánt mennyiségű vizet szolgáltatssa, vagy olyan oldószer kiválasztásával, pl. 95%-os etanol alkalmazásával, amely tartalmaz kis mennyiségű vizet. Általában 1–2 mólek-vivalens víz előnyös a propionát kiindulási anyaghoz viszonyítva, mivel a kisebb víztartalom könnyebben távolítható el, amikor a laktont ciklizáljuk.

Miután a propionát kiindulási anyagot, az erős savat, az oldószert és a vizet összekevertünk, az oldatot melegítjük abból a célból, hogy az izoalkilidén védőcsoport szelektív eltávolítása megkezdődjék. Az oldatot előnyösen a reakciókeverék visszafolytatási hőmérsékletén melegítjük. Az izoalkilidén védőcsoport lényegében mintegy 2 óra és 8 óra közt eltávolítódik, ha a reakciót az előnyös hőmérsékleten végezzük.

Amikor az izoalkilidén védőcsoportot lényegében eltávolítottuk, az így létrejött pentanoátot ciklizáljuk a kívánt laktonná. A pentanoátot úgy ciklizáljuk, hogy víz/alkohol, víz/acetonitril vagy víz/acetonitril/romás oldószer azeotrop keveréket desztillálunk abból a célból, hogy a vizet eltávolítsuk a reakcióoldatból. Amikor oldószerként alkoholt alkalmazunk, a víz/alkohol desztillációt előnyösen addig folytatjuk, amíg lényegében az összes vizet és alkoholt eltávo-

litjuk. Amikor azonban oldószerként acetonitrilt alkalmazunk, friss acetonitrilt és/vagy aromás oldószer adunk annak biztosítására, hogy megfelelő oldószer legyen jelen a víz és bármilyen nem oldószer jellegű illó komponens kihajtására úgy, hogy még megmaradjon a homogén folyékony oldat. Előnyösen aromás oldószer, pl. toluolt alkalmazunk friss acetonitril helyett, amikor vizet távolítunk el egy acetonitril oldószeres oldatból, mivel így kevesebb oldószer szükséges az oldat azeotrópos vízmentesítéséhez. Amikor a vizet lényegében eltávolítottuk a reakciókeverékből, a pentanoát nagy kitermeléssel laktonná ciklizál. A ciklizálási reakciót nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás vizsgálati technikával követhetjük abból a célból, hogy meghatározzuk, mikor válik a reakció teljessé. A termelt lakton eritro és treo enantiomerekből áll lényegében azonos enantiomer arányban, mint amely a kiindulási anyagban jelen volt.

A jelen találmány eljárást nyújt a fenti lakton védett származéka eritro enantiomerjének szelektív izolálására védett vegyületek enantiomer keverékéből.

Mielőtt az eritro enantiomert izolálnánk, a fenti lakton nem védett hidroxilcsoportját (C-3 és C-5, ha 3-hidroxi-propionát kiindulási anyagot alkalmazunk a lakton előállítására, és csak C-5, ha benzoilal védett kiindulási anyagot alkalmazunk) benzoil védőcsoporttal védjük. A védett laktont úgy állítjuk elő, hogy a nem védett laktont benzoil-kloriddal, bromiddal, cianiddal vagy aziddal reagáltatjuk olyan körülmények között, amely a 4,526,988 lajstromszámú amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírásban ismertetnek. Amikor védett laktont állítunk elő, az eritro enantiomert úgy állítjuk elő, hogy az enantiomer keveréket feloldjuk metilén-kloridban. Miközben a metilén-kloridból egyedül az eritro enantiomert izolálhatjuk, az izopropanol vagy hexán ellen-oldószer alkalmazása növeli az eritro-enantiomer mennyiségét, amelyet el lehet távolítani. Következésképpen az izopropanol/metilén-klorid és hexán/metilén-klorid oldószerkeverékek előnyösek az eritro enantiomer izolálásához.

Amikor izopropanol vagy hexán ellen-oldószer alkalmazunk, az izopropanolt vagy hexánt a metilén-kloridban feloldott enantiomer keverék oldathoz hozzáadjuk egyszerre vagy lassan 5 perc 4 óra közti időtartam alatt. Az ellen-oldószer lassú hozzáadásához szükséges adott időt természetesen befolyásolja a hozzáadott ellen-oldószer mennyisége. Ha ellen-oldószerként izopropanolt alkalmazunk, a hozzáadott izopropanol mennyisége változhat olyan tartományon belül, amely ahhoz szükséges, hogy 5 térfogatrész izopropanol – 1 térfogatrész metilén-klorid és 20 térfogatrész izopropanol – 1 térfogatrész metilén-klorid közti arány alakuljon ki. Ha ellen-oldószerként hexánt alkalmazunk, olyan mennyiségig adhatjuk a hexánt, hogy max. 5 térfogatrész hexán – 1 térfogatrész metilén-klorid arálynak megfelelő hexán/metilén-klorid oldószerkeverék alakuljon ki. A 3:2 térfogat/térfogat hexán/metilénklorid oldószerkeverék a legelőnyösebb a hexán/metilén-klorid keverékek közül.

Miután a védett lakton lényegében feloldódott a metilénkloridban, és valamely kívánt ellen-oldószer hozzáadtunk, az oldatot beoltjuk autentikus 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1- ulóz-3,5-di-

benzoáttal, és lehűtjük -5 °C és 10 °C közti hőmérsékletre, előnyösen 0 °C hőmérsékletre. A hideg oldatot kevertetjük, miközben a kívánt hőmérsékletet fenntartjuk, 30 perc és 5 óra közti időtartamon át, és a kívánt eritro enantiomert izoláljuk, tipikusan szűréssel, standard izolálási technikákat alkalmazva.

Alkalmanként, és nagyobb gyakorisággal akkor, amikor az ellen-oldószer egyszerre adjuk be, az eritro-enantiomer azonnal kristályosodni kezd az ellen-oldószer hozzáadására. Amikor ez történik, az izolált termék gyakran kevesebb, mint 95% tisztaságú 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1- ulóz-3,5-dibenzoát. Ennek a kevesebb, mint 95,0% tisztaságú anyagnak a tisztaságát javítani lehet olyan módon, hogy a tisztátalan anyagból valamely aromás anyaggal, pl. toluollal zagyot képzünk. A zagyot 40–50 °C hőmérsékletre melegítjük, feloldva lényegében az összes eritro enantiomert és nagyon keveset a nem kívánt tisztatlanságból. A fel nem oldott tisztatlanságot azután eltávolítjuk standard izolálási technikákkal pl. szűréssel, hogy oldatot kapjunk. Az aromás oldószer, hogy olyan maradékot kapjunk, amely metilén-kloridban oldódik. Az eritroenantiomert azután több, mint 95,0% tisztasággal nyerjük ki azt az eljárást követve, amelyet fentebb leírtunk az eritro enantiomer izolálásánál eritro/treo enantiomer keverékéből.

A védett lakton izolált eritro-enantiomerjét azután átalakítjuk a (XX) általános képletű védett laktonná, ahol L jelentése lehasadó csoport, olyan eljárás segítségével, amelyet a 4,526,988 lajstromszámú amerikai egyesült államok-beli szabadalmi leírásban ismertetnek. Megfelelő lehasadó csoportok lehetnek a szulfonátok, pl. metánszulfonát, toluolszulfonát, etánszulfonát, izopropánszulfonát, 4-metoxi-benzoszulfonát, 4-nitro-benzoszulfonát, 2-klór-benzoszulfonát, és hasonló; lehetnek halogének, pl. klór, bróm, és hasonló; és lehetnek más rokon lehasadó csoportok. A jelen találmány szerinti eljárásban előnyös lehasadó csoport a metánszulfonát.

A fenti vegyületet, amely valamely fenti lehasadó csoporttal rendelkezik, (XIVa), (XVIIa) vagy (XIXa) általános képletű bázissal reagáltatjuk, ahol a képletekben R¹, R², R³ és R⁴ a fenti.

A fentebb ismertetett bázisok általánosan ismertek a szerves kémikusok számára, és szintézisükről ismertést adni. A primer aminocsoportokat azonban, amelyek a bázisok között néhányban szerepelnek, védeni kell, mielőtt a bázist a szénhidráttal összekapcsolnánk. A szokásos amino-védőcsoportokat, pl. a trimetil-szilil-, izopropil-szilil-, metil-diizopropil-szilil-, triizopropil-szilil-, t-butil-dimetil-szilil-, t-butoxi-karbonil-, benzoil-karbonil-, 4-metoxi-benzil-oxi-karbonil-, 4-nitro-benziloxi-karbonil-, formil-, acetyl- és hasonló csoportokat alkalmazhatjuk a közismert kézikönyvekben leírt eljárások szerint, ilyen kézikönyvek pl.: Protective Groups in Organic Chemistry, szerkesztő: McOmie, kiadó: Plenum Press, New York, (1973); és Protective Groups in Organic Synthesis, kiadó: John Wiley and Sons, New York (1981).

Gyakran tanácsos a keto oxigén atomokat enol formává alakítani abból a célból, hogy növeljük a bázis aromás jellegét és ezáltal lehetővé tegyük a bázis gyorsabb támadását a szénhidráton. Az oxigénatomokat előnyösen a fentebb említett szilil védőcsoportokkal enolizáljuk.

A kapcsolási reakciót a bázis és a szénhidrát között kivitelezhetjük olyan módon, ahogyan ez a 4,526,988 lajstromszámú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban le van írva. Egy előnyös kapcsolási eljárás reakció beindítót (iniciátor) alkalmaz, pl. trimetil-szilil-triflátot, és valamely oldószert, pl. 1,2-diklór-etánt, 20 °C és 100 °C közti hőmérséklettartományban. A kapcsolási reakció, amely lényegében teljessé válik 2 óra és 20 óra közötti idő alatt, amikor 20 °C és 100 °C közti hőmérséklettartományban végezzük, védett nukleozidot szolgáltat 1:1 α/β anomer arányban.

A védetlen nukleozidot azonos anomer arányban kapjuk a védőcsoportok eltávolításával. A legtöbb szilil aminos védőcsoport könnyen lehasítható protikus oldószert, pl. vizet vagy alkoholt alkalmazva. A benzoil hidroxil-védő csoportot, és bármilyen aril-amino-védőcsoportot hidrolízissel távolítunk el erős vagy mérsékelt erős bázissal 0 °C és 100 °C közti hőmérsékleten. Az ebben a reakcióban való felhasználásra alkalmas erős vagy mérsékelt erős bázisok azok, amelyek pKa értéke (25 °C hőmérsékleten) 8,5 és 20,0 között van. Az ilyen bázisok lehetnek alkálifém-hidroxidok, pl. nátrium- vagy kálium-hidroxid; alkálifém-alkoxidok, pl. nátrium-metoxid vagy kálium-t-butoxid; aminok, pl. dietil-amin, hidroxil-amin, ammónia, és hasonló; és lehetnek más közönséges bázisok, mint pl. hidrazin és hasonló. A reakció előnyösen ammóniát alkalmaz, hogy a védőcsoport eltávolítódjék 10 °C hőmérsékleten. Legalább 1 molekvalens bázis szükséges, hogy egy védőcsoportot eltávolítsunk. Előnyös a bázist fölös mennyiségben alkalmazni ebben a reakcióban. A védőcsoportok eltávolítására alkalmazott bázis fölös mennyisége azonban nem kritikus.

A hidroxil-védőcsoport és az aminos védőcsoport eltávolítását hagyományos módon végezzük alkohol oldószerekben, elsősorban vizes alkanolokban, pl. metanolban. A reakciót azonban elvégezhetjük bármilyen kényelmes oldószerekben, pl. polioloiban, beleértve az etilenglikolt, éterekben, pl. tetrahidrofuránban, ketonokban, pl. acetonban és metil-etil-ketonban, vagy dimetil-szulfoxidban.

Az előnyös eljárás 2'-dezoxi-2',2'-difluor-nukleozidok előállítására a (XXIII) képletű citozin-bázist alkalmazva, hogy 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin keletkezzen mintegy 1:1 α/β anomer keverék arányban.

Amint fentebb megjegyezzük, a jelen találmány végül eljárást nyújt β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin vagy szerves vagy szervetlen savaddíciós sóik szelektív izolálására, mintegy 99,0% tisztaságban, mintegy 1:1 α/β 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin anomer keverékből.

A β -anomer szelektív izolálására szolgáló egyik módszer kiindulási anyagként az 1:1 α/β anomer keverék hidroklorid- vagy hidrobromid sóját alkalmazza. Az α/β keverék hidroklorid- vagy hidrobromid sóját úgy izoláljuk, hogy az 1:1 α/β keveréket izopropanollal egyesítjük, és ha szükséges melegítjük, hogy az anomer keveréket az oldószerekben feloldjuk. Az alkalmazott izopropanol mennyiségének, bár nem kritikus, elegendőnek kell lennie, hogy elérjük az anomer keverék teljes feloldódását, amikor a hidrogénklorid vagy hidrogén-bromid hozzáadása már teljes, de olyan minimálisnak kell lennie, amennyire csak

lehetséges, hogy elkerüljük a fölösleges termékvesztést a kristályosodás és izolálás során. Az alkalmazott izopropanol előnyös mennyisége 2 ml oldószert/gramm anomer keverék és 12 ml oldószert/gramm anomer keverék között van.

Amikor az anomer keverék lényegében feloldódott az oldószerekben, hidrogén-kloridot vagy hidrogén-bromidot adunk hozzá, hogy az α/β anomerek hidroklorid- vagy hidrobromid sóját képezzük. Bármilyen fel nem oldott anomer keverék feloldódik, miután a savat hozzáadjuk az izopropanolos oldathoz. Reagensként a koncentrált folyékony sósavoldat és 48%-os vizes hidrogén-bromid oldat az előnyös formái a hidrogén-kloridnak és hidrogén-bromidnak a hidroklorid és hidrobromid α és β sók készítésében való felhasználáshoz. A hozzáadott sav mennyisége nem kritikus mindaddig, amíg a savnak legalább csekély fölöslegét alkalmazzuk az anomer keverékhez viszonyítva. A klór-hidrogénnek és bróm-hidrogénnek előnyösen két molekvalensét alkalmazzuk az anomer keverék minden molekvalenséhez.

Miután a savat hozzáadtuk, az α és β hidroklorid vagy hidrobromid sók elkezdnek kristályosodni. Ha kisebb mennyiségű, pl. 5,0 grammnál kevesebb 1:1 α/β anomer keveréket alkalmazunk a hidroklorid vagy hidrobromid só előállításában, a β anomer szelektíven kristályosodik az α anomerhez viszonyítva. Így kis mennyiségű 1:1 α/β anomer keveréket lehet könnyen tisztítani, hogy olyan 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin hidrokloridot vagy hidrobromidot kapjunk, amely legalább 1:4 α/β anomer aránnyal bír; az eljárás abban áll, hogy az 1:1 α/β anomer keveréket izopropanollal egyesítjük, a keverékhez hidrogén-kloridot vagy hidrogén-bromidot adunk, az oldatot -10 °C és 50 °C közti hőmérséklettartományba lehűtjük, és a kicsapódott szilárd anyagot összegyűjtjük.

Amikor azonban az 1:1 α/β anomer keverék nagyobb mennyiségeit alkalmazzuk a hidroklorid vagy hidrobromid só előállítására, az α és β sók mintegy ugyanolyan 1:1 arányban csapódnak ki, mint ahogyan az α/β keverékben jelen vannak. Hogy az α és β sókat nagy kitermeléssel kapjuk meg, az oldatot le kell hűtenünk -10 °C és 50 °C közötti hőmérsékletre. Az így kicsapódott mintegy 1:1 α/β 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin hidrokloridot izoláljuk leginkább szűréssel, az oldatból, standard izolálási technikákat alkalmazva, és az alább leírtak szerint tisztíthatjuk úgy, hogy mintegy 99,0% β -anomert kapjunk.

Az 1:1 α/β anomer sókeveréket először forró vízben feloldjuk. A forró víz hőmérséklete 50 °C és a visszafolyatás hőmérséklete (~100 °C) között van. A forró víz előnyös hőmérséklete mintegy 80 °C. Az anomer sókeverék koncentrációja a vízben nem kritikus, amíg legalább annyi vizet alkalmazunk, hogy biztosítsuk a teljes feloldódást. Előnyös, ha az alkalmazott víz mennyisége olyan kevés, amennyire csak lehetséges, hogy elkerüljük a fölösleges termékvesztést a kristályosítás és izolálás során. Az anomer sókeverék megfelelő koncentrációi vízben 50 mg keverék/ml víz és 400 mg keverék/ml víz között változnak. A β anomer izolálásában alkalmazott előnyös koncentráció mintegy 200 mg anomer sókeverék/ml víz.

Amikor az anomer sókeveréket feloldjuk a vízben, acetont adunk a forró oldathoz, hogy oldószert-keve-

réket képezzünk. Az oldószerkeverék összetétele változhat 7 térfogatrész aceton/1 térfogatrész víztől 30 térfogatrész aceton/1 térfogatrész vízig. Előnyös összetétel a 12:1 térfogat/térfogat aceton/víz. Az aceton hozzáadása után a β -anomer elkezd kristályosodni. Abból a célból, hogy a β -anomert nagy kitermeléssel kapjuk meg, az oldatot le kell hűtenünk $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ közé, előnyösen $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ közé. A lehűtött oldatot kevertetjük, miközben fenntartjuk a kívánt hőmérsékletet, mintegy 30 perc és 24 óra közti időtartamon át, és a 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin hidrokloridot vagy hidrobromidot, amely 1:4 α/β anomer aránnyal bír, izoláljuk az oldatból, tipikusan szűrővel, standard izolálási technikákat alkalmazva.

Az így izolált 1:4 anomer keveréket tovább tisztíthatjuk, ha kívánatos, megismételve az 1:4 α/β anomer keverék előállításához alkalmazott, fentebb leírt eljárást. Így β -2',2'-difluor-citidin hidrokloridot vagy hidrobromidot kaphatunk mintegy 99,0% tisztaságban olyan módon, hogy β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin hidrokloridot vagy hidrobromidot, amely legalább 80,0% tisztaságú, feloldunk forró vízben, acetont adunk hozzá, az oldatot lehűtjük $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ közti hőmérsékletre, és a kicsapódott szilárd anyagot összegyűjtjük.

Egy második eljárás β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin savaddíciós sójának izolálására 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin 1:1 α/β anomer keverékéből az oldhatósági különbségeket hasznosítja az α/β anomerek szabad bázis formái között gyengén bázisos vízben, így izolálhatunk szelektíven β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidint. Amikor a β -anomer szabad bázis formáját izoláljuk, ezt könnyen átalakíthatjuk szerves vagy szervesetlen savaddíciós sóvá.

A β -anomer szabad bázis formájának izolálása előnyös eljárás β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin savaddíciós sójának szelektív izolálásához, képest mivel a β -anomert nagyobb kitermeléssel kaphatjuk meg, mint amelyet a korábban ismert eljárások biztosítottak. Ezen kívül a β -anomer szabad bázis formájának izolálását alkalmazhatjuk a termék tisztaságának javítására is, mivel a β -anomer szabad bázis formája szelektíven kristályosodik mind az β -anomer szabad bázis formájához, mind az 1:1 α/β anomer keverékben jelen levő bármilyen további szennyezéshez (pl. ammónium-triflát és szervesetlen sók, pl. magnézium-szulfát és hasonló) viszonyítva.

A β -anomer szabad bázis formáját úgy izoláljuk, hogy az 1:1 α/β anomer keveréket, vagy szerves vagy szervesetlen savaddíciós sóját, feloldjuk forró ($45\text{ }^{\circ}\text{C}$ - $90\text{ }^{\circ}\text{C}$) vízben. Abból a célból, hogy az anomer keverék nem-só formájának oldódását elősegítsük, a víz pH-ját 2,5 és 5,0 közé állítjuk be, közönséges szerves vagy szervesetlen savakat, pl. sósavat alkalmazva. Ha az anomer keverék valamely savaddíciós sóját alkalmazzuk, közönséges, szerves vagy szervesetlen bázisokat, pl. nátrium-hidroxidot vagy hasonlókat alkalmazhatunk, hogy a víz pH-ját 2,5 és 5,0 közé állítsuk be abból a célból, hogy a feloldódást elősegítsük. Az alkalmazott víz mennyiségének, bár nem kritikus, elegendőnek kell lennie, hogy az anomer keveréknek vagy sójának teljes feloldódása végbe menjen, de mégis legyen olyan kevés, amennyire csak lehetséges, hogy elkerüljük a fölösleges termékvesztésget a kristályosodás és izolálás során.

Az 1:1 α/β anomer keverék szerves vagy szervesetlen savaddíciós sói benne foglaltatnak a jelen eljárás oltalmi körében, beleértve a szerves savakból, mint pl. borkósav, citromsav, ecetsav, és hasonlókat, képzett sókat, valamint a szervesetlen savakból, mint pl. sósav, hidrogén-bromid, kénsav, foszforsav és hasonlókat, képzett sókat. A hidroklorid és hidrobromid savaddíciós sók különösen előnyösek a jelen találmány szerinti eljárásban. Az 1:1 α/β anomer keverék ilyen sóit eljárásokkal képezhetjük, amelyek jól ismertek azok számára, akik a szakterületen jártasak; ilyen eljárás az 1:1 α/β anomer keverék hidroklorid vagy hidrobromid sójának előállítására is, amelyet fentebb tárgyaltunk; ez alkalmazható más sók előállítására is.

Amikor az anomer keverék vagy sója lényegében feloldódott a vízben, a forró oldat $7,0$ - $9,0$ -ra emeljük közönséges szerves vagy szervesetlen bázist, pl. nátrium-hidroxidot vagy hasonlókat alkalmazva. A vizes oldat pH-ját előnyösen $8,0$ és $8,5$ közé állítjuk be. Miután a pH-t a kívánt értékre növeltük, az oldatot hagyjuk lehűlni $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ közti hőmérsékletre. Az oldatot, amelyet kívánt esetben β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin autentikus kristályaival oltunk be, azután kevertetjük 30 perc és 24 óra közti időtartamon át. Az így kikristályosodó β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidint az oldatból standard izolálási technikákkal tisztítjuk, tipikusan szűrővel. Mintegy 99,0% tisztaságú terméket kapunk.

Az így előállított β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidint átalakíthatjuk gyógyászatiilag elfogadható szerves vagy szervesetlen savaddíciós sóvá a β -anomert feloldva forró (mintegy $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ közti hőmérsékletű) vízben. Az alkalmazott víz mennyiségének, bár nem kritikus, elegendőnek kell lennie a β -anomer teljes feloldásához, de legyen olyan kis mennyiségű, amennyire csak lehetséges, hogy elkerüljük a fölösleges termékvesztésget a kristályosítás és izolálás során. A víz pH-ját 2,5 és 5,0 közé lehet beállítani, gyógyászatiilag elfogadható sókat alkalmazva, hogy segítsük a β -anomer feloldódását, ha szükséges.

Amikor a β -anomer lényegében feloldódott, gyógyászatiilag elfogadható szerves vagy szervesetlen savat adunk hozzá, hogy savaddíciós sókat képezzünk. Gyógyászatiilag elfogadható szerves vagy szervesetlen savakon a jelen találmány területén szerves savakat, pl. borkósavat, citromsavat, ecetsavat, benzoosavat és hasonlókat, és szervesetlen savakat, pl. sósavat, hidrogén-bromidot, kénsavat, foszforsavat és hasonlókat értünk. A sósav és a hidrogénbromid az előnyös savak a jelen eljárásban való felhasználáshoz. A hozzáadott sav mennyisége nem kritikus mindaddig, amíg a savnak legalább enyhe mölfeleslegét alkalmazzuk a β -anomer szabad bázis formájához viszonyítva.

Miután a savat hozzáadtuk, a β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin kristályosodni kezd. Hogy a β -anomer sóját nagy kitermeléssel kapjuk meg, az oldatot le kell hűteni $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ közti, előnyösen $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ közti hőmérsékletre. Az oldatot, amelyet kívánt esetben beoltunk 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin só autentikus kristályaival, ha szükséges, ezután kevertetjük 30 perc és 24 óra közti időtartamon át. Végül a terméket izoláljuk, tipikusan szűrővel, az oldatból standard izolálási technikákat alkalmazva, hogy a 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin gyógyászatiilag

elfogadható savaddíciós sóját kapjuk meg mintegy 99,0%-os tisztaságban.

Az alábbi példák a jelen találmány speciális kiviteli módjait mutatják be. A példákban nem az a célja, hogy bármilyen módon is korlátozzák a találmány oltalmi körét.

1. példa

D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3-benzoát enantiomer keverékének előállítás.

Visszafolyató hűtővel összeillesztett 2 literes lombikhoz 104 g (0,27 mól) 96,0% tisztaságú etil-2,2-difluor-3-(benzoil-oxi)-3-(2,2-dimetil-dioxolán-4-il)propionát adunk, amely 3 rész 3-R-benzoil-oxi enantiomerből és 1 rész 3-S-benzoil-oxi enantiomerből áll. Acetonitrilt (1000 ml), ionmentesített vizet (25 ml, 1,35 mól) és trifluor-ecetsavat (6,4 g, 0,05 mól) adunk hozzá. Az így létrejött oldatot visszafolyatási hőmérsékletre melegítjük (mintegy 78 °C), és ezen a hőmérsékleten kevertetjük 4 órán át. 4 óra múlva a hűtőt módosítjuk abból a célból, hogy a forró folyadék desztillálódjék visszafolyatás helyett. Amikor az illó acetonitril, víz és trifluor-ecetsav desztillálódott, friss acetonitrilt adunk hozzá, abból a célból, hogy az oldat térfogatát mintegy 1000 ml-en tartjuk. Miután összesen mintegy 3000 ml folyadék desztillálódott, az oldatot lehűtjük szobahőmérsékletre (22 °C).

A főbb komponensek azonosítását az oldatban nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás (HPLC) összehasonlítással végezzük autentikus referencia standardokkal. A vizsgálati mintát úgy készítjük el, hogy 125 µl reakcióoldatot elhelyezünk egy 25 ml-es lombikban, hozzáadunk 2 ml izopropanolt, majd az így létrejött oldatot hígítjuk 25 ml-re hexánnal. Az oszlopot olyan eluáló oldószerezellel eluáljuk, amely 6 térfogat% izopropanolból és 94 térfogat% hexánból áll. Az alkalmazott oszlop 25 cm-es Zorbax CN. A detektor hullámhossza 230 nm, az oszlop áramlási sebessége 2,0 ml/perc, az injekciós térfogat 10 µl. A HPLC elemzés megállapítja, hogy a reakcióoldat olyan terméket tartalmaz, amely 87,2 tömeg% D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2'-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3-benzoát enantiomer keveréknek mérhető. A HPLC vizsgálat azt is jelzi, hogy a jelen levő főbb szennyezések az alábbiak: 2,7 tömeg% nem reagált propionát és 5,5 tömeg% etil-2,2-difluor-3-(benzoil-oxi)-4,5-dihidroxi-petanoát.

2. példa

D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3-benzoát előállítás

110 l-es üveggel bélelt reaktorba 64 liter acetonitrilt, 6,00 kg (16,2 mól) etil-2,2-difluor-3-(benzoil-oxi)-3-(2,2-dimetil-dioxolán-4-il)propionát 3 rész 3-R-ből és 1 rész 3-S-ből álló enantiomer keveréket, 0,57 kg (4,4 mól) trifluor-ecetsavat és 1500 ml (83,3 mól) tisztított vizet adunk. Az így létrejött keveréket visszafolyatási hőmérsékletre melegítjük (mintegy 78 °C), és ezen a hőmérsékleten kevertetjük 5^{1/2} órán át. Ezután az acetonitril, víz és trifluor-ecetsav oldatából 16 litert desztillálunk és 16 liter toluollal helyettesítjük. Az így létrejött oldatot mintegy 96,5 °C-ra melegítjük és további 16 liter illó folyadékot

desztillálunk le. Friss toluolt adunk hozzá és az oldatot ismét 96,5 °C hőmérsékletre melegítjük. A desztillálást, friss toluol hozzáadását, és a 96,5 °C hőmérsékletre melegítés folyamatát addig ismételjük, amíg 107 liter illó alkotórészt desztillálunk le. A maradék oldatot szobahőmérsékletre lehűtjük (22 °C), miközben csekély nitrogén- szivárgást tartunk fenn a reaktorban annak biztosítására, hogy nedves levegő ne léphessen be a reaktroba a hűtés során. Az így létrejött oldat, az 1. példában leírt HPLC vizsgálattal jellemezve, olyan terméket tartalmaz, amelyben D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3-benzoát enantiomer keverékéből tömeg szerinti 81,8% mérhető. A HPLC vizsgálat az alábbi nagyobb tisztátlanságokról jelzi, hogy jelen vannak: 2,2 tömeg% nem reagált propionát és 7,7 tömeg% etil-2,2-difluor-3-(benzoil-oxi)-4,5-dihidroxi-petanoát.

3. példa

A. D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát előállítás.

D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3-benzoát toluolban képzett oldatát készítjük el a 2. példa eljárása szerint. Ez az oldat, az 1. példában leírt HPLC vizsgálat szerint, olyan terméket tartalmaz, amelyben 73,0 tömeg% D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3-benzoát mutatható ki. Az oldatot 50 °C hőmérsékletre melegítjük fel csökkentett nyomáson, hogy a toluolt eltávolítsuk és így 20,0 g (53,6 mmól) D-eritro- és D-treo-enantiomer keveréket kapunk olajként. Az olajat át-visszük 500 ml-es lombikba és 100 ml etil-acetátot és 11,6 g (146,8 mmól) piridint adunk hozzá. Benzoilkloridot (10,3 g; 73,5 mmól) oldunk fel 100 ml etil-acetátban, és az így létrejött oldatot cseppenként 2 óra alatt hozzáadjuk az 500 ml-es lombik tartalmához. A reakciókeveréket mintegy 60 °C hőmérsékletre felmelegítjük és kevertetjük ezen a hőmérsékleten 3^{1/2} órán át, majd lehűtjük szobahőmérsékletre (22 °C), és egy éjszakán át kevertetjük. Az így létrejött keveréket egymás után mossuk 200 ml vízzel, 200 ml 1 n sósav oldattal, 200 ml vízzel, 200 ml telített nátrium-bikarbonát oldattal, és 200 ml telített nátrium-klorid oldattal, majd vízmentesítjük vízmentes magnéziumszulfátban. A vízmentesített oldatot csökkentett nyomáson koncentrálnak, így 26,0 g olajat kapunk. Az olaj reprezentatív mintáját acetonitrilben feloldjuk és az 1. példában leírtak szerint HPLC eljárást alkalmazva mérjük, így megállapítjuk, hogy az olaj 52,0 tömeg% 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoátot és 16,7 tömeg% megfelelő D-treo enantiomert tartalmaz.

B. 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát.

A fentebb készített megmaradó olajat feloldjuk 20 ml metilén kloridban. Hexánt (30 ml) adunk hozzá keverés közben. Az oldatot beoltjuk autentikus 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoáttal és további 25 ml hexán/metilén-klorid oldatot (3:2, térfogat/térfogat) adunk hozzá. Az így létrejött oldatot mintegy 0 °C hőmérsékletre lehűtjük 15 percre. A kicsapódott szilárd anyagot vákuumszűrővel összegyűjtjük és mossuk 25 ml hideg (0 °C) hexán/metilén-klorid oldattal (3:2, térfogat/térfogat).

Az így kapott kristályokat vákuum-kemencében szárítjuk 40 °C hőmérsékleten 3 órán át, így 9,0 g kívánt enantiomert kapunk, amelyet NMR elemzéssel, 300 MHz-es készüléken azonosítunk CDCl₃-ban: δ=4,70 (szingulett 2H); 4,99 (szingulett, 1H); 5,76 (szingulett, 1H); 7,4–8,2 (széles multipliett, 10H). A szárított kristályok egyik reprezentatív mintáját feloldjuk acetonitrilben és HPLC elemzési eljárást alkalmazva vizsgáljuk, az 1. példában leírtakat követve. A HPLC vizsgálat azt jelzi, hogy a termék 98,0% tisztaságú 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát.

4. példa

A. D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát előállítás.

169,0 g (0,472 mól) D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3-benzoát (amely a 2. példa eljárása szerint készült) 845 ml etil-acetáttal készült oldatát egy 2 literes lombikba visszük. Piridint (111,5 g; 1,410 mól) adunk a lombikba és az oldatot lehűtjük mintegy 5 °C hőmérsékletre. Benzoil-kloridot (132,2 g; 0,940 mól) feloldunk 300 ml etil-acetátban és az így létrejött oldatot 30 perc alatt cseppenként hozzáadjuk a 2 literes lombikhoz. A reakciókeveréket hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni (22 °C), és ezen a hőmérsékleten kevertetjük egy éjszakán át. A következő reggelen a keveréket lehűtjük mintegy 5 °C hőmérsékletre, és a piridin hidroklorid sót, amely a reakció során képződött, szűrővel eltávolítjuk. Az oldatot ezután csökkentett nyomáson koncentrálnak, hogy 249,0 g olajat kapjunk. Az olaj reprezentatív mintáját acetonitrilben feloldjuk, és az 1. példában leírt eljárás szerinti HPLC eljárással megvizsgáljuk; ilyen módon megállapítjuk, hogy az olaj 52,2 tömeg % 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoátból és 14,9 tömeg % megfelelő D-treo enantiomerekből áll.

B. 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát.

A fentebb készített megmaradó olajat feloldjuk 174 ml metilén-kloridban. Hexánt (249 ml) adunk hozzá 30 perc alatt, miközben az oldatot kevertetjük. Az így létrejött oldatot szobahőmérsékleten kevertetjük (22 °C) 30 percen át, majd lehűtjük mintegy 5 °C hőmérsékletre, és ezen a hőmérsékleten kevertetjük további 30 percen át. A kicsapódott szilárd anyagot vákuum-szűrővel összegyűjtjük és 264 ml hideg hexán/metilén-klorid oldattal (3:2, térfogat/térfogat) mossuk. Az így létrejött kristályokat vákuum-kemencében szobahőmérsékleten szárítjuk (22 °C), így kapunk 85,8 g kívánt enantiomert. Az 1. példában leírtak szerint végzett HPLC vizsgálat megállapítja, hogy a kinyert kristályok 99,6%-os tisztaságban 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoátot tartalmaznak, o.p. 116–118 °C.

5. példa

A. D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz előállítás

500 ml-es lombikba beadunk 50,0 g (0,2 mól) etil-2,2-difluor-3-hidroxi-3-(2,2-dimetil-dioxolán-4-il)propionát 3 rész 3-R- és 1 rész 3-S-arányú enantiomer keveréket, 250 ml etanolt és 6,0 ml 6 n

kénsavat. Az így létrejött oldatot visszafolyatási hőmérsékletére (mintegy 76 °C) melegítjük, és ezen a hőmérsékleten kevertetjük 3¹/₂ órán át. 3¹/₂ óra után 100 ml friss etanollal helyettesítjük. Az oldatot szobahőmérsékletre lehűtjük (22 °C) és 4,5 g vízmentes nátrium-karbonátot adunk hozzá. Tíz perccel később 20 g 3A molekulaszitát adunk hozzá. Az így létrejött keveréket egy éjszakán át hűtjük. A következő reggelen a nátrium-karbonátot és a molekulaszitát szűrővel eltávolítjuk, így olyan oldathoz jutunk, amely az 1. példában leírt HPLC eljárással jellemezve, 231 mg D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulózt tartalmaz milliliterenként. Az oldat Karl-Fischer elemzése azt jelzi, hogy az oldat víztartalma 0,9 tömeg %.

B. D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát előállítás.

A fenti etanos oldatot csökkentett nyomáson melegítjük, hogy az etanolt eltávolítsuk. Az így létrejött olajat feloldjuk 100 ml etil-acetátban. Az oldatot csökkentett nyomáson melegítjük, hogy az etil-acetátot eltávolítsuk. Az így létrejött gumiszzerű anyagot feloldjuk 100 ml metilén-kloridban. A metilén-kloridos oldat Karl-Fischer elemzése azt jelzi, hogy a víztartalom mintegy 0,09 tömeg %. A metilén-kloridos oldatot további 225 ml metilén-kloriddal hígítjuk, ezt követi 2,6 lutidin (48,3 g; 0,45 mól) és 4-dimetil-amino-piridin (3,0 g; 0,02 mól) hozzáadása. Az így létrejött oldatot lehűtjük jégfürdőben mintegy 8 °C hőmérsékletre, és benzoil-kloridot (63,4 g; 0,45 mól) adunk hozzá cseppenként 18 perc alatt olyan sebességgel, hogy a reakcióoldat hőmérsékletét 15 °C alatt tartjuk. Miután a benzoil-kloridot hozzáadtunk, az oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni (22 °C) és a 2,6-lutidin hidroklorid kicsapódik. A reakciókeveréket egymás után mossuk 250 ml vízzel, 250 ml 5 tömeg %-os nátrium-bikarbonát oldattal, 250 ml 2 n sósavoldattal és 250 ml telített konyhasó oldattal. A metilén-klorid oldatot azután vízmentes magnézium-szulfát fölött szárítjuk, és az 1. példában leírt módon HPLC-vizsgálatot alkalmazva vizsgáljuk. A HPLC vizsgálat azt jelzi, hogy a metilén-kloridos oldat 28,3 g D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoátot tartalmaz.

C. 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ulóz-3,5-dibenzoát izolálása.

A fentebb készített metilén-kloridos oldatot sűrű sziruppá koncentrálnak desztillálással. A szirupot újra oldjuk 30 ml friss metilén-kloridban. Izopropanolt (300 ml) adunk hozzá, és a D-eritro termék elkezd kristályosodni. 10 percen belül a termék olyan mértékben csapódik ki, hogy viszkózus zagy keletkezik. További metilén-kloridot (10 ml) és izopropanolt (100 ml) adunk hozzá abból a célból, hogy csökkentsük a zagy viszkozitását, és az így létrejött keveréket egy éjszakán át 5 °C hőmérsékleten hűtjük. A kicsapódott szilárd anyagot vákuumszűrővel összegyűjtjük és mossuk egymás után hideg (0 °C) izopropanollal és hideg (0 °C) hexánnal. Az így létrejövő kristályokat vákuum-kemencében szárítjuk 22 °C hőmérsékleten, így kapunk 17,4 g D-eritro-terméket, amelyet NMR vizsgálattal azonosítunk 300

mHz-es készüléken CDCl₃-ban: δ =4,70 (szingulett, 2H); 4,99 (szingulett, 1H); 5,76 (szingulett, 1H); 7,4–8,2 (széles multiplett, 10H). A termékről, amely 119°–119,5 °C hőmérsékleten olvad, úgy véljük, hogy több, mint 95,0% tisztaságú 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ülöz-3,5-dibenzoát.

6. példa

D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ülöz-3,5-dibenzoát enantiomer keverékének előállítás.

250 ml-es lombikba 73 ml 2:1 (térfogat/térfogat) metanol/víz oldatot adunk, amely 2,33 g (13,89 mmól), 5. példa eljárása szerint előállított D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ülöz enantiomer keveréket (62,4% eritro enantiomer) tartalmaz. Az oldatot csökkentett nyomáson melegítjük, ilyen módon olajat kapunk. Az olajat feloldjuk 100 ml etil-acetátban és az így létrejött oldatot vízmentes magnézium-szulfáton vízmentesítjük. Miután a magnézium-szulfátot szűrővel eltávolítottuk, az oldatot ismét koncentrájuk csökkentett nyomáson, így sűrű olajat kapunk. Ezt az olajat feloldjuk 18 ml metilén-kloridban, ezt követi 0,17 g (1,38 mmól) 4-dimetil-amino-piridin hozzáadása. Az oldatot mintegy 0 °C hőmérsékletre lehűtjük és 3,41 g (31,85 mmól) 2,6 lutidint és 4,50 g (31,98 mmól) benzoil-kloridot adunk hozzá. Az oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre felmelegedni (22 °C), majd kevertetjük mintegy 64 órán át. Keverés után az oldat térfogatát mintegy 50 ml-re növeljük metilén-kloriddal. Az így létrejött oldatot egymás után mossuk 25 ml 5 tömeg %-os sósavoldattal, 25 ml 5 tömeg %-os nátrium-bikarbonát oldattal, és 25 ml vízzel. A metilén-kloridos oldatot vízmentes magnézium-szulfáton víztelenítjük, és csökkentett nyomáson koncentrájuk, ilyen módon olajat kapunk. Erről az olajról, bár nem vizsgáltuk, úgy véljük, hogy D-eritro- és D-treo-2-dezoxi-2,2-difluor-pentofuranóz-1-ülöz-3,5-dibenzoát.

B. 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ülöz-3,5-dibenzoát izolálása.

A fentebb kapott olajat feloldjuk metilén-kloridban (3,5 ml). Izopropanolt (35 ml) adunk hozzá, és az oldatot mintegy 0 °C-ra lehűtjük jégfürdőben, majd az autentikus vegyület kristályával beoltjuk. Miután mintegy 0 °C-on kevertettük 3 órán át, a keveréket leszűrjük. A szűrőpogácsát hideg izopropanollal, majd szobahőmérsékletű (22 °C) hexánnal mossuk és vákuum-kemencében szárítjuk 22 °C-on, így kapunk 0,87 g 97,0% tisztaságú 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-1-ülöz-3,5-dibenzoátot, az 1. példában leírt analitikai technikával mérve. Op.: 117–118 °C. A terméket NMR elemzéssel is azonosítjuk 300 MHz-es készüléken CDCl₃: δ =4,70 (szingulett, 2H), 4,99 (szingulett, 1H), 5,76 (szingulett, 1H), 7,4–8,2 (széles multiplett, 10H).

7. példa

2'-Dezoxi-2',2'-difluor-citidin 1:1 α/β anomer keverékének előállítása

500 ml-es háromnyakú, kerekfenekű lombikhoz, amely 250 ml 1,2-diklór-étánt tartalmaz, hozzáadunk 15,00 g (32,88 mmól) 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritropentafuranóz-3,5-dibenzoát-1-metil-szulfonátot [előál-

lítása: a 3. példa szerinti terméket a 4.526.988 számú amerikai egysült államokbeli szabadalmi leírás szerint a megfelelő alkohollá, majd 1-metánszulfonáttá alakítjuk], 15,65 g (52,60 mmól) bisz-trimetil-szilil-N-acetil-citozint és 9,50 g (42,74 mmól) trifluor-metánszulfonil-oxi-trimetil-szilánt. Az oldatot a visszafolyatás hőmérsékletén (84 °C) melegítjük mintegy 8 órán át. A reakcióoldatot szobahőmérsékletre (22 °C) lehűtjük és 100 ml 5 tömeg %-os sósav-oldatot adunk hozzá. Mintegy 5 perces kevertetés után a rétegeket elkülönítjük, és a vizes réteget 25 ml metilén-kloriddal mossuk. A szerves rétegeket egyesítjük és mossuk, egymás után 100 ml 5 tömeg %-os nátrium-bikarbonát-oldattal és 100 ml telített konyhasó-oldattal. Az így létrejött szerves réteget vízmentes magnézium-szulfáton víztelenítjük és csökkentett nyomáson koncentrájuk, így habot kapunk.

Metanolt (150 ml) adunk hozzá, hogy a hab feloldódjék. Az oldatot azután 0 °C hőmérsékleten ammónia gázt buborékolatunk keresztül az oldaton mintegy 1 percen át. Az illó alkotórészeket eltávolítjuk csökkentett nyomáson, így gumi-szerű anyagot kapunk. A gumi-szerű anyagot feloldjuk 100 ml etil-acetátban és 100 ml vízben. A rétegeket elkülönítjük és a szerves réteget 25 ml vízzel mossuk. Mindkét vizes réteget egyesítjük, mossuk 100 ml dietil-éterrel, és a vizes oldatot csökkentett nyomáson koncentrájuk, ilyen módon gumiszerű anyagot kapunk. Mintegy 10 ml metanolt adunk hozzá, hogy a gumiszerű anyag feloldódjék. Az így létrejött oldatot szárazra koncentrájuk csökkentett nyomáson, hogy 4,14 g 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidint kapjunk.

A terméket HPLC-vel jellemezzük, összehasonlítva autentikus referencia standardokkal. A vizsgálati mintát úgy készítjük el, hogy 3 mg terméket 5 ml-es mérőlombikba helyezünk, majd teljes térfogatra hígítjuk 0,1 n sósavoldattal. Az oszlopot olyan eluáló oldószerezellel eluáljuk, amely 5 térfogat % metanoltól és 95 térfogat % 0,04 mól/l nátrium-acetát oldatból áll. Az alkalmazott oszlop 25 cm-es A-303 típusú YMC oszlop. A detektor hullámhossza 275 nm, az oszlop áramlási sebessége 1,0 ml/perc, az injekciós térfogat 20 μ l, és az oszlop szobahőmérsékletű (22 °C). A HPLC elemzés feltárja, hogy a termék 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin 1:1 α/β anomer keveréke. Retenciós idők: α -anomer 13,80 perc, β -anomer 16,7 perc.

8. példa

90,5% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid előállítás.

2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin mintegy 1:1 α/β anomer keverékét, amelyet a 7. példa eljárása szerint állítottunk elő, feloldjuk 6 ml forró izopropanolban (80 °C). Koncentrált sósavoldatot (15 csepp) adunk a forró oldathoz. Az oldatot beoltjuk autentikus β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloriddal, hagyjuk lehűlni szobahőmérsékletre, és egy hétvégen át hűtjük. A keveréket leszűrjük és a szűrőpogácsát izopropanollal mossuk és vákuumban szárítjuk 22 °C hőmérsékleten, így kapunk 0,38 g terméket, amelyet 90,5% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridnak mérünk a 7. példában leírt analitikai eljárás alapján. A terméket NMR elemzéssel is azonosíthatjuk 300 MHz-es berendezésen CDCl₃-ban: δ =3,81 (triplett, 2H); 3,93 (duplett, 1H); 4,23 (triplett, 1H); 4,80

(dublett, 2H); 6,08 (dublett, 1H); 6,32 (dublett, 1H); 8,21 (dublett, 1H); 9,0 (szingulett, 1H); 10,17 (szingulett, 1H).

További kristályok képződnek a szűrletben, miután állni hagyjuk egy éjszakán át szobahőmérsékleten. Ezeket a kristályokat kinyerjük és szárítjuk, ahogyan fentebb leírtuk, így kapunk további 0,17 g 82,0% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridot, amint ezt a fentebb említett HPLC elemzéssel megállapítjuk.

9. példa

99,4% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid.

Visszafolyató hűtőhöz illesztett 50 ml-es lombikhoz 100,0 mg 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridot (88,7% tisztaságú β -anomer, a 8. példa eljárása szerint készítve), és 0,5 ml vizet. A keveréket a visszafolyatás hőmérsékletére (100 °C) melegítjük és az összes szilárd anyagot feloldjuk. Miközben az oldatot visszafolyatás mellett melegítjük, 10 ml acetont adunk hozzá. Az oldatot szobahőmérsékletre lehűtjük és egy éjszakán át hűtjük. A keveréket leszűrjük és az így létrejött kristályokat 69,0 mg 99,4% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridot, amint ezt a 7. példában leírt analitikai technikával megállapítjuk. Ennek az anyagnak az NMR spektruma azonos a 8. példában leírt anyag spektrumával.

10. példa

79% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrobromid előállítás

2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin mintegy 1:1 α/β anomer keveréket (300 mg), amelyet a 7. példa eljárása szerint állítottunk elő, lényegében teljesen feloldunk 3 ml forró izopropanolban (60 °C). Vizes hidrogénbromidot (48 tömeg %-os, vízben oldott hidrogénbromid oldatból 0,3 ml) adunk hozzá a forró oldathoz és az összesen megmaradt szilárd anyagot feloldjuk. További 1 ml izopropanolt adunk hozzá és az oldatot hűtjük egy éjszakán át. A keveréket leszűrjük és a szűrőpogácsát izopropanollal mossuk és vákuumban szárítjuk 22 °C hőmérsékleten, ilyen módon 110 mg terméket kapunk, amelyet 79,0% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrobromidnak mérünk a 7. példában leírt analitikai eljárás alapján. (A 7. példában analitikai eljárásához viszonyítva az egyetlen eltérés az, hogy 0,1 n hidrogén-bromidot alkalmazunk a jelen minta hígításához a megadott térfogatra 0,1 sósavoldat helyett.)

A termék elemanalízise a következő:

Elemzés $C_9H_{12}N_3O_4F_2B_2$ képletre.

Elméleti: C: 31,41; H: 3,52; N: 12,21; F: 11,04; Br: 23,22

Talált: C: 29,54; H: 3,64; N: 11,02; F: 10,90; Br: 23,16

11. példa

2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid 1:1 α/β anomer keverékének előállítása.

A. 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin 1:1 α/β anomer keverékének előállítása.

500 ml-es háromnyakú, kerekfenekű lombikba, amely 200 ml 1,2-diklór-etánt tartalmaz, hozzáadunk 10,0 g (65,7 mmól) N-acetil-citozint, 12,0 g (74,5

mmól) 1,1,1,3,3,3-hexametil-diszilazánt (HDMS) és 0,47 g (4,38 mmól) klór-trimetil-szilánt (CTMS). A zagyot a visszafolyatás hőmérsékletén (84 °C) melegítjük és 15 percen belül oldatot kapunk. Az oldatot visszafolyató hűtő mellett melegítjük mintegy 1 órán át, majd az oldószert eltávolítjuk, így sűrű maradékot kapunk.

A sűrű, vastag maradékot feloldjuk 200 ml 1,2-diklór-etánban. Az oldathoz hozzáadunk 19,55 g (88,0 mmól) trifluor-metán-szulfonil-oxi-trimetil-szilánt, 3,6 g (22,2 mmól) HMDS-t és 2,4 g (22,1 mmól) CTMS-t. Az oldatot szobahőmérsékleten kevertetjük (22 °C) 30 percen át, és 1,2-diklór-etánban oldott 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-3,5-dibenzoát-1-metán-szulfonátot (0,345 g metánszulfonát 1 ml oldószerben; összesen 20,0 g metánszulfonát) adunk hozzá. Az oldatot a visszafolyatás hőmérsékletén (84 °C) melegítjük mintegy 18 órán át, majd lehűtjük szobahőmérsékletre (22 °C), és 10 ml metanol és 145 ml vizet adunk hozzá. 5 perc keverés után a rétegeket elkülönítjük és a szerves réteget ismét egyesítjük 145 ml vízzel. A rétegeket még egyszer elkülönítjük és a két vizes réteget egyesítjük és 25 ml 1,2-diklór-etánban mossuk. A fentiekből származó szerves réteget diklór-etános mosófolyadékkal egyesítjük és az egyesített folyadékot mossuk egymás után 145 ml 5 tömeg %-os nátrium-bikarbonát oldattal és 145 ml vízzel. Az így kapott szerves réteget vízmentes magnézium-szulfát fölött szárítjuk és koncentrálnak csökkentett nyomáson, ilyen módon habot kapunk.

A habhoz feloldás céljára metanol adunk (220 ml.) Az oldatot lehűtjük mintegy 5 °C hőmérsékletre és ammónia gázt (6,0 g) buborékolatunk az oldaton keresztül. Az illó alkotórészeket eltávolítjuk csökkentett nyomáson, ilyen módon olajos maradékot kapunk. A maradékot feloldjuk 145 ml etil-acetátban és 145 ml vízben. A rétegeket elkülönítjük és a szerves réteget kétszer mossuk 50 ml vízzel. A vizes rétegeket egyesítjük és az így létrejött oldatot koncentrálnak száraz állapotig csökkentett nyomás mellett, ilyen módon 8,4 g 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin mintegy 1:1 α/β anomer keverékét kapjuk, amint ezt a 7. példában leírt HPLC technikával megállapítjuk.

B. 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid előállítás.

A fentebb készített gumi-szerű anyagot feloldjuk forró (60 °C) izopropanolban. Reagens tisztaságú koncentrált sósavat (5,1 ml) adunk a forró oldathoz. Az így létrejött oldatot szobahőmérsékletre lehűtjük (22 °C) és egy éjszakán át hűtjük. Az így kialakult csapadékot vákuum-szűrővel összegyűjtjük, mossuk egymás után hideg (5 °C) izopropanollal és szobahőmérsékletű hexánnal, és vákuum-kemencében szárítjuk 40 °C hőmérsékleten, így kapunk 515 g olyan anyagot, amelyet a 7. példában leírt HPLC technikával 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid mintegy 1:1 α/β anomer keverékének mérünk.

12. példa

97,7% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin előállítás 2'-dezoxi-2',2'-difluorcitidin-hidroklorid 1:1 α/β anomer keverékből.

5 g, 11. példában kapott mintegy 1:1 α/β 2'-de-
zoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid anomer keveré-

ket 100 ml-es kerekfenekű lombikba helyezünk, amely 50 ml forró (50 °C) vizet tartalmaz. Nátrium-hidroxidot adunk hozzá (2 n), amíg a víz pH-ja mintegy 3,0 lesz, ekkor az összes szilárd anyag feloldódik. A vizes oldat pH-ját mintegy 8,2-re emeljük, 5 n nátrium-hidroxidot alkalmazva. A bázisos oldatot hagyjuk lehűlni szobahőmérsékletre (22 °C), majd egy éjszakán át hűtjük. A kicsapódott szilárd anyagot vákuumszűrővel összegyűjtjük, mossuk 5 ml hideg, 8,5 pH-jú vízzel, és vákuum-kemencében szárítjuk 40 °C hőmérsékleten, így kapunk 1,65 g olyan terméket, amelyet a 7. példában leírt HPLC technikát alkalmazva 97,7%-os tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidinnel mérünk.

13. példa

98,8% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin előállítása 1:1 α/β 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin anomer keverékből.

17 ml forró (50 °C) vízhez hozzáadunk 8,4 g, a 11. példában leírt eljárás szerint készített 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin 1:1 α/β anomer keveréket. Az így létrejött vizes oldat pH-ját 8,2-re emeljük 2 n nátrium-hidroxiddal. A bázisos oldatot lehűtjük szobahőmérsékletre (22 °C), majd egy éjszakán át hűtjük. A kicsapódott szilárd anyagot vákuumszűrővel összegyűjtjük, mossuk 5 ml hideg, 8,5 pH-jú vízzel, és vákuum-kemencében szárítjuk 40 °C hőmérsékleten, így 1,4 g olyan terméket kapunk, amelyet a 7. példában leírt HPLC vizsgálati technikával 98,8% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidinnel mérünk.

14. példa

100%-os tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid előállítása 99,7% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluorcitidinből.

500 ml-es négynekű, kerekfenekű lombikba, amely 100 ml forró (55 °C) vizet tartalmaz, lassan hozzáadunk 20,0 g 97,7% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidint, amelyet a 12. példa eljárása szerint állítottunk elő. Reagens tisztaságú koncentrált sósavat adunk egyidejűleg a lombikba olyan sebességgel, hogy a vizes oldat pH-ját 3,0 értéken tartjuk a difluor-citidin hozzáadása során. Miután a difluor-citidin hozzáadása teljessé vált, további 13 ml koncentrált sósavat adunk hozzá. Az oldatot 0 °C hőmérsékletre hűtjük jégfürdőben és ezen a hőmérsékleten kevertetjük 3 órán át. A kicsapódott szilárd anyagot vákuumszűrővel összegyűjtjük, egymás után mossuk 5 ml 1,0 pH-jú vízzel és 10 ml acetonnal, és vákuum-kemencében szárítjuk 45 °C hőmérsékleten, így kapunk 21,3 g terméket, amelyet a 7. példában leírt HPLC vizsgálati technikával 100% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridnak mérünk. A terméket jellemezzük NMR elemzéssel is 300 MHz-es készüléken, ez ugyanolyan spektrummal bír, mint a 8. példában leírt termék.

15. példa

2'-Deoxi-2',2'-difluor-uridin 1,5:1 arányú α/β elegyének előállítása

50 ml-es, háromnyakú lombikba 15 ml 1,2-diklór-etánt, majd 1,0 g (8,92 mmól) uracilt, 8 ml (37,9 mmól) hexametil-diszilazánt és 118 mg (0,872 mmól)

ammónium-szulfátot adunk. Az oldatot 3,5 órán át visszafolyatás közben forraljuk, majd az oldószer ledesztilláljuk, és így olajat nyerünk. Az olajat 1,2-diklór-etánban oldjuk, és az oldószer ismét ledesztilláljuk. Az 1,2-diklór-etános oldást és olaját történő lepárlást még kétszer ismételjük. Végül a keletkezett, lényegében bisz-trimetil-szilil-uracilból álló olajat 15 ml 1,2-diklór-etánban oldjuk, szobahőmérsékletre hűtjük, és nitrogén-atmoszférában egy éjszakán át állni hagyjuk.

Másnap a fenti oldatot 1,4 ml trifluor-metil-szulfonil-oxi-trimetil-szilánnal elegyítjük. A kapott oldatot 20 percen át szobahőmérsékleten keverjük, majd 21,7 g (4,76 mmól) 2-deoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-3,5-dibenzoát-1-metán-szulfonátot adunk hozzá. Ezt a vegyületet úgy állítjuk elő, hogy a 3. példa szerinti eljárással a laktont készítjük el, majd ezt a 4.526.988 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás szerint alkohollá alakítjuk, végül az alkoholt ugyancsak a 4.526.988 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás szerint alakítjuk át az 1-metil-szulfonáttá. Az oldatot 3,5 órán át visszafolyatás közben forraljuk, majd szobahőmérsékletre hűtjük, és 150 ml vízzel, majd 50 ml 5 tömeg %-os nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal mossuk. A mosott oldatot vízmentes magnézium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és csökkentett nyomáson bepárolva 3,2 g gyantaszzerű habot kapunk. A terméket HPLC kromatográfiával azonosítjuk, autentikus standardot alkalmazva. A HPLC vizsgálat szerint a termék a 2'-deoxi-2',2'-difluor-uridin védett analógjának 1,5:1 arányú α/β anomer elegye. A védett termék a 7. példában leírt eljárással a szabad vegyületté alakítható.

16. példa

2'-Deoxi-2',2'-difluor-timidin 1,2:1 arányú α/β elegyének előállítása

500 ml-es, háromnyakú lombikba 100 ml 1,2-diklór-etánt, majd 13,3 g (0,049 mól) bisz-trimetil-szilil-timint (előállítva a bisz-trimetil-szilil-uracil 15. példában leírt előállításához hasonlóan), 11,37 g (0,051 mmól) trifluor-metán-szulfonil-oxi-trimetil-szilánt és 20,0 g (0,0438 mól) 2-deoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentofuranóz-3,5-dibenzoát-1-metán-szulfonátot (a 15. példa szerint előállítva) adunk. Az oldatot 4 órán át visszafolyatás közben forraljuk, majd szobahőmérsékletre hűtjük, és jeget és 10 ml metanol adunk hozzá. Az 1,2-diklór-etánt desztillálással eltávolítjuk, és 300 ml etil-acetátot és 200 ml 1 normál sósavat adunk az elegyhez. A két fázist elválasztjuk, és a szerves fázist telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, majd vízmentes magnézium-szulfát felett szárítjuk. A magnézium-szulfátot kiszűrjük, és a szűrletet csökkentett nyomáson bepároljuk, így módon 17,4 g olajat kapunk.

Az olajat 500 ml metanolban oldjuk. Az oldatot 0 °C hőmérsékletre hűtjük, majd 10 percen át ammónia gázt buborékoltatunk át rajta, ezután az oldatot hagyjuk szobahőmérsékletre hűlni. Az oldatot ezután szobahőmérsékleten 22 órán át keverjük (6 órás keverés után további 15 percen át ammónia gázt buborékoltatunk át rajta). Az illékony komponenseket csökkentett nyomáson lepároljuk, és így szintelen olajat kapunk. Az olajat 100 ml vízben oldjuk, és a kapott oldatot kétszer 50–50 ml kloroformmal mossuk.

A vizes oldatot csökkentett nyomáson bepároljuk, és így 9,67 g 2'-dezoxi-2',2'-difluor-timidint kapunk olaj alakjában.

A terméket HPLC kromatográfiával azonosítjuk, autentikus standardot alkalmazva. A HPLC vizsgálat szerint a termék a 2'-dezoxi-2',2'-difluor-timidin 1,2:1 arányú α/β anomer keveréke.

17. példa

Az 1-(5-Etil-2,4-dioxo-1H,3H-pirimidin-1-il)-2'-dezoxi-2',2'-difluor-ribóz 1,1:1 arányú α/β elegyének előállítása.

50 ml-es háromnyakú lombikba 25 ml 1,2-diklór-etánt, majd 2,0 g (4,4 mmól) 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentafuranóz-3,5-dibenzoát-1-metán-szulfonátot (előállítás a 15. példa szerint) 2,74 g (9,6 mmól) 5-etil-2,4-bisz-(trimetil-szilil-oxi)-pirimidint (előállítás a 15. példában a bisz-trimetil-szilil-uracil reagens előállításához hasonló módon) és 1,17 g (5,3 mmól) trifluor-metil-szulfonil-oxi-trimetil-szilánt adunk. Az oldatot 8,5 órán át visszafolyatás közben forraljuk, majd szobahőmérsékletre hűtjük, és 3 ml metanolt adunk hozzá. Az 1,2 diklór-etánt csökkentett nyomáson bepároljuk, és a maradékot etil-acetátban oldjuk, majd az oldatot egymás után telített, vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk. A szerves oldatot vízmentes magnézium-szulfát felett szárítjuk, a szárítószert kiszűrjük, majd csökkentett nyomáson bepárolva 1,94 g olajat kapunk.

Az olaj 0,7 g-nyi mennyiségét 40 ml metanolban oldjuk. Az oldatot 0 °C hőmérsékletre hűtjük, és 15 percen át ammónia gázt buborékolatunk át rajta, majd a kapott oldatot egy éjszakán át 0 °C hőmérsékleten keverjük. Másnap az illékony komponenseket csökkentett nyomáson lepároljuk, és a maradékot metilén-kloriddal tritúráljuk. Ily módon további feldolgozás után 0,137 g 1-(5-etil-2,4-dioxo-1H,3H-pirimidin-1-il)-2'-dezoxi-2',2'-difluor-ribózt kapunk.

A terméket HPLC kromatográfiával azonosítjuk, autentikus standardot alkalmazva. A HPLC vizsgálat szerint a termék a cím szerinti vegyület 1,1:1 arányú α/β anomer keveréke.

18. példa

Az 1-[5-(2-Bróm-etenil)-2,4-dioxo-1H,3H-pirimidin-1-il]-2'-dezoxi-2',2'-difluor-ribóz 1,4:1 arányú α/β elegyének előállítására.

25 ml-es háromnyakú lombikba 8 ml 1,2-diklór-etánt, majd 1,67 g (4,6 mmól) 5-(2-bróm-etenil)-2,4-bisz-(trimetil-szilil-oxi)-pirimidint (előállítás a 15. példában a bisz-trimetil-szilil-uracil előállításához hasonló módon), 1,88 g (4,1 mmól) 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentafuranóz-3,5-dibenzoát-1-metán-szulfonátot (előállítását lásd a 15. példában) és 1,08 g (4,8 mmól) trifluor-metil-szulfonil-oxi-trimetil-szilánt adunk. Az oldatot 3 órán át visszafolyatás közben forraljuk, szobahőmérsékletre hűtjük, és az 1,2-diklór-etánt desztillálással eltávolítjuk. Ezután az elegyhez 200 ml etil-acetátot és 100 ml vizet adunk. A fázisokat elválasztjuk, és a szerves fázist vízzel mossuk, vízmentes nátrium-szulfát felett szárítjuk, a szárítószert kiszűrjük, majd csökkentett nyomáson bepárolva 2,46 g sárga olajat kapunk. Az olajat 5 tömeg %-os toluolos etil-acetát-oldatban oldjuk, majd

Waters Prep 500A kromatográfiás oszlopra töltjük. Az elucióhoz 6 l 5–25 tömeg %-os toluolos etil-acetát gradienst alkalmazunk, és így a tiszta α -anomer, a tiszta β -anomer és az α/β -anomer elegyet tartalmazó frakciókat nyerünk. Az 1-[5-(2-bróm-etenil)-2,4-dioxo-1H,3H-pirimidin-1-il]-2'-dezoxi-2',2'-difluor-ribóz védett termék teljes kitermelése 1,48 g, és a termék anomer aránya HPLC kromatográfiával meghatározva 1,4:1 α/β . A védett termékeket a 7. példában leírt eljárás szerinti szabad analógjává alakíthatjuk.

19. példa

Az 1-[5-(2-Klór-etenil)-2,4-dioxo-1H,3H-pirimidin-1-il]-2'-dezoxi-2',2'-difluor-ribóz körülbelül 1:1 α/β elegyének előállítása.

25 ml-es háromnyakú lombikba 10 ml 1,2-diklór-etánt, majd 0,19 g (0,593 mmól) 5-(2-klór-etenil)-2,4-bisz-(trimetil-szilil-oxi)-pirimidint (előállításához hasonló módon történik, mint a 15. példában a bisz-(trimetil-szilil)-uracil reagensé), 0,27 g (0,593 mmól) 2-dezoxi-2,2-difluor-D-eritro-pentafuranóz-3,5-dibenzoát-1-metán-szulfonátot (előállítás a 15. példa szerint) és 0,125 ml (0,65 mmól) trifluor-metil-szulfonil-oxi-trimetil-szilánt adunk. Az oldatot egy éjszakán át visszafolyatás közben forraljuk, majd szobahőmérsékletre hűtjük. Ezután metanolt, majd 1 normál nátrium-hidroxidot adunk hozzá, míg pH=5 értékű, két-fázisú oldatot kapunk. A kétfázisú oldatot 25 ml metilén-kloriddal hígítjuk, és a fázisokat elválasztjuk. A vizes fázist 25 ml metilén-kloriddal extraháljuk, és a kapott extraktumot a szerves fázissal egyesítjük. az egyesített oldatot 15 ml telített nátrium-klorid-oldattal, majd kétszer 15–15 ml vízzel mossuk. A mosott oldatot vízmentes magnézium-szulfát felett szárítjuk, a szárítószert kiszűrjük, és az oldatot csökkentett nyomáson bepárolva 0,15 g színtelen olajat kapunk. Az olajat 3 ml 5 tömeg %-os toluolos etil-acetát-oldatban oldjuk, majd Michel-Miller HPLC oszlopra töltjük. 5 tömeg %-os toluolos etil-acetát-oldattal végzett elucióval a lényegében tiszta α -anomer, a lényegében tiszta β -anomer és az α/β -anomer elegyet kapjuk. A frakciók HPLC vizsgálata azt mutatta, hogy az 1-[5-(2-klór-etenil)-2,4-dioxo-1H,3H-pirimidin-1-il]-2'-dezoxi-2',2'-difluor-ribóz védett analógjának anomer aránya körülbelül 1:1 α/β . A védett terméket a 7. példában leírt módszerrel a szabad cím szerinti terméké alakíthatjuk.

20. példa

98,0% tisztaságú β -2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid előállítása

1730 g, 7. példa szerinti előállított 2'-dezoxi-2',2'-difluor-citidin 1:1 arányú α/β -anomer keveréket 8 l 70 °C hőmérsékletű izopropanolban oldunk. Az oldathoz mólegyenértéknyi tömény sósavat öntünk egy adagban, és a szilárd anyagot kristályosítjuk. Az elegyet ezután szűrjük, és a szüredéket 5 l 0 °C hőmérsékletű izopropanol-hexán (3:2) eleggyel mossuk, majd vákuumban szárítjuk, és így 1270 g, körülbelül 1:1 α/β -anomer arányú 2',-dezoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid keveréket kapunk.

Az így előállított, 1260 g hidroklorid-sót 6 l meleg vízben oldjuk. Az összes szilárd anyag feloldódása után az oldatot 22 °C hőmérsékletre hűtjük, és 72 l

acetont adunk hozzá. A kapott oldatot 2 órán át keverjük, miközben szilárd anyag kristályosodik ki. Az elegyet ezután szűrjük, és a szűredéket acetonnal mossuk, majd vákuumban 40 °C hőmérsékleten szárítjuk, és így 463 g terméket kapunk, mely 98,0% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid. Op.: 287–292 °C.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás a (XIII) általános képletű 2'-deoxi-2',2'-difluor-nukleozid-származékok és ezek sói 1-1,5:1 arányú α/β -anomer elegyének előállítására, valamint a β -anomer szelektív izolálására, ahol R jelentése hidrogénatom vagy (IX) általános képletű csoport, és B (XIV), (XVII) vagy (XIX) általános képletű csoport, ahol R¹ hidroxycsoport, R² bróm-, klór- vagy jódatom, R³ hidrogénatom vagy 1–4 szénatomos alkilcsoport, R⁴ hidrogénatom vagy 1–4 szénatomos alkilcsoport, *azzal jellemezve*, hogy egy (XX) általános képletű védett vegyületet, ahol L jelentése kilépő csoport, valamely B-H általános képletű bázissal reagáltatunk, ahol B jelentése a fent megadott, és az így keletkezett (XIII) általános képletű vegyületről, ahol R jelentése (IX) általános képletű csoport, kivánt esetben lehasítjuk a benzoil-védőcsoportot valamely erős vagy mérsékelt erő bázissal végzett reakcióval, majd kivánt esetben sót képzünk, és kivánt esetben a β -anomert szelektíven izoláljuk.
2. Az 1. igénypont szerinti eljárás olyan (XIII) általános képletű vegyületek előállítására, ahol B jelentése (XIV) általános képletű csoport, ahol R³, R⁴ és R az 1. igénypontban megadott, *azzal jellemezve*, hogy megfelelően szubsztituált anyagokból indulunk ki.
3. Az 1. igénypont szerinti eljárás legalább 80,0% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid vagy -hidrobromid szelektív izolálására a 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid vagy -hidrobromid 1:1 arányú α/β -anomer elegyéből, *azzal jellemezve*, hogy az 1:1 arányú α/β elegyet meleg vízben oldjuk, acetont adunk hozzá, az oldatot -10 és +50 °C közötti hőmérsékletre hűtjük, majd kinyerjük a csapadékot, és kivánt esetben a legalább 99,0% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-hidroklorid vagy -hidrobromid izolálására ezt követően a 80,0%-nál nagyobb tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin-hidrokloridot vagy -hidrobromidot meleg vízben oldjuk, acetont adunk hozzá, az oldatot -10 és +50 °C közötti hőmérsékletre hűtjük, majd a csapadékot kinyerjük.
4. Az 1. igénypont szerinti eljárás leghalább 99,0% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin szelektív izolálására a 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin vagy szerves vagy szervetlen savval alkotott savaddíciós sójának 1-1,5:1 arányú α/β -anomer elegyéből, *azzal jellemezve*, hogy az α/β elegyet vagy sóját meleg vízben oldjuk, a vizes oldat pH-értékét 7,0 és 9,0 közé emeljük, majd az oldatot -10 és +30 °C közötti hőmérsékletre hűtjük, és a kivált csapadékot kinyerjük.
5. Az 1. igénypont szerinti eljárás legalább 99,0% tisztaságú β -2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin gyógyászati lag elfogadható szerves vagy szervetlen savval alkotott addíciós sójának szelektív izolálására a 2'-deoxi-2',2'-difluor-citidin vagy szerves vagy szervetlen savval alkotott addíciós sójának 1–1,5:1 arányú α/β -anomer elegyéből, *azzal jellemezve*, hogy az α/β elegyet vagy sóját meleg vízben oldjuk, a vizes oldat pH-értékét 7,0 és 9,0 közé állítjuk, majd az oldatot -10 és +30 °C közötti hőmérsékletre hűtjük, és elválasztjuk a kivált csapadékot, és a csapadékot meleg vízben oldjuk, gyógyászati lag elfogadható szerves vagy szervetlen savat adunk az oldathoz, majd -10 és +40 °C közötti hőmérsékletre hűtjük, és kinyerjük a kivált csapadékot.
6. A 4. vagy 5. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy a vizes oldat pH-értékét 8,0 és 8,5 közötti értékre emeljük.

