

(19) HU

MAGYAR
NÉPKÖZTÁRSASÁG



ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL

SZABADALMI LEÍRÁS

B

Bejelentés napja: (22) 1987.03.20. (21) (1247/87)

Elsőbbsége: (32) 1986.03.24.
(31) (63963/86)
(33) JP

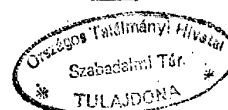
Közzététel napja: (41) (42) 1988.02.29.

Megjelent: (45) 1989.05.31.

(11)

196429

Nemzetközi
osztályozás:
(51) NSZO4
C 07 H 19/10
A 61 K 31/70



Feltalálók: (72)

Terada Takashi, Ohtaki Hiroshi,
Shiozaki Mitsuharu, Yono, Aoki Minoru,
Tokió, Morozumi Manami, Choshi, JP

Szabadalmas: (73)

Nippon Kayaku Kabushiki Kaisha,
Tokió; Yamasa Shoyu Kabushiki
Kaisha, Choshi, JP

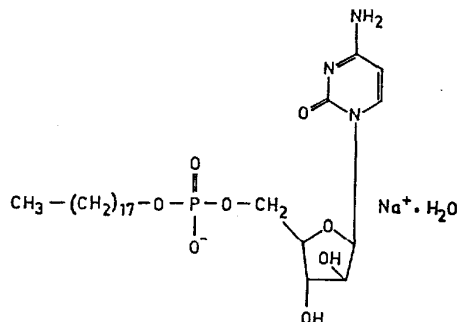
(54) ELJÁRÁS 1-β-D-ARABINO-FURANOZIL-CITOZIN- -5'-SZTEARIL-FOSZFÁT MONONÁTRIUMSÓ MONOHID- RÁTJÁNAK ELŐÁLLÍTÁSÁRA

I

(57) KIVONAT

A találmány tárgya eljárás (I) képletű 1-β-D-arabino-furanozil-citozin-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrát előállítására, amely vegyület szájon át beadható daganatellenes szer hatóanyagaként alkalmazható.

A találmány szerint előállított céltermékek stabil és nedvességálló vegyületek.



(I)

196429

A találmány tárgya eljárás az 1- β -D-arabino-furanozil-citozin-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó monohidrátjának előállítására, amely származék nedvességálló (nem-higroszkópos) és kiváló a stabilitása.

A továbbiakban röviden Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsónak nevezett 1- β -D-arabino-furanozil-citozin-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó - szájon át beadható daganatellenes hatóanyagként - ismert vegyület és annak előállítására eljárást ír le az elővizsgálat nélkül közzétett 55-49588 (1980) sz. japán szabadalmi bejelentés. Az ott leírt eljárás szerint előbb a szabad alakú savként rendelkezésre álló Ara-C-5'-sztearil-foszfát vizes oldatának pH-ját nátrium-hidroxid hozzáadásával 7,0-re állítják, majd az így kapott vizes oldatot kondenzálják és etanolt adnak a kondenzátumhoz, így kicsapva az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsót.

Az idézett japán szabadalmi bejelentésben leírt eljárással kapott Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó poralakú anyag és röntgendiffrakciós színe nem mutat határozott elhajlási csúcsokat, mert az anyag amorf állapotú (lásd a 3. ábrát).

Ha az említett ismert eljárással előállított Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsót 25 °C hőmérsékleten és RH = 75%-os relatív nedvességen 14 hónapon át állni hagyjuk, a halmaz Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó tartalma az eredeti mennyiség 93,7 tömegszázalékára redukálódik, míg ha 50 °C hőmérsékleten és RH = 74% relatív nedvességen mindössze három hónapig hagyjuk állni, az eredeti mennyiség 58,6 tömegszázalékára redukálódik a célvegyület tartalom; kimutatható, hogy a keletkezett bomlási termék 1- β -D-arabino-furanozil-uracil-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó.

Ha pedig az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó 25 °C hőmérsékleten, de RH = 93% relatív nedvességen hagyjuk állni, akkor a halmaz tömege 12-13%-nyit megnő, mert a technika állása szerint előállított nátriumsó nagy mértékben nedvszívó (higroszkópos).

A fentiekből látható, hogy ha a technika állásából ismert eljárással előállított Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsót dolgozunk be gyógyászati készítménybe, akkor különös figyelmet kell fordítani a termék nedvszívó magatartására és a terméket nagyon gondosan kell csomagolni, hogy meggátoljuk, hogy a készítmény a forgalomba hozatal közben vizet vegyen fel. Ugyanakkor az így előállított Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsónak igen kicsi a stabilitása és az ezen vegyületet hatóanyagként tartalmazó gyógyászati készítmény hatékonyságát az anyag bomlása nagyon rövid időn belül csökkent; így az ismert módon előállított ezen hatóanyaggal készített gyógyászati preparátumnak nincs piaci értéke.

Tanulmányoztuk ezért annak lehetőségét, hogy a - szerkezeténél fogva gyógyá-

szatilag hatékony - Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsót új módon úgy állíthassuk elő, hogy biztosítsuk a termék stabilitását és gyógyászati alkalmazhatóságát. Azt találtuk,

5 hogy az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó kellően stabil vegyületként úgy állítható elő, hogy 9,7 és 13 közötti pH-értékre állítjuk Ara-C-5'-sztearil-foszfát vizes oldatát vagy szuszpenzióját nátrium-hidroxid hozzáadásával és ha az így kapott mononátriumsót meghatározott feltételek között (I) képletű Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrátta konvertáljuk, akkor olyan vegyületet kaphatunk, amely nedvességálló és 15 amelynek kiemelkedő a stabilitása. Ezek a felismerések képezik a találmány alapját.

A találmány tárgya eljárás az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó (I) képletű monohidrátjának előállítására. Első lépésben az Ara-C-5'-sztearil-foszfát vizes oldatának vagy szuszpenziójának pH-ját nátrium-hidroxid hozzáadásával 9,7 és 13 közötti értékre állítjuk, majd vízzel elegyedő szerves oldószert adunk hozzá és így kicsapjuk az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsót, ezután

- a) az így kapott elegyet folyamatos melegítés közben keverjük, s a képződő monohidrát-kristályokat elkülönítjük, vagy
- 30 b) a kivált mononátriumsót elkülönítjük és
- b1) víz jelenlétében szuszpendáljuk vagy termikusan feloldjuk vízzel elegyedő szerves oldószerben - termikus feloldás esetén hűtéssel kicsapva a képződő kristályokat -, majd a kivált kristályokat elkülönítjük a szuszpenzióból vagy elegyből és kívánt esetben az így kapott, vízmentes kristályokat vízzel elegyedő, vízmentes oldószerben szuszpendáljuk vagy termikusan feloldjuk - termikus feloldás esetén hűtéssel kicsapva a képződő kristályokat -, majd a kristályokat a szuszpenzióból vagy elegyből elkülönítjük, vagy
- 45 b2) az elkülönített mononátriumsót vízmentes állapotban szuszpendáljuk vagy termikusan feloldjuk vízzel elegyedő, vízmentes szerves oldószerben - termikus feloldás esetén hűtéssel kicsapva a képződő kristályokat -, majd a kristályokat a szuszpenzióból vagy elegyből elkülönítjük, végül az elkülönített monohidrát kristályokat 100 °C hőmérsékleten meg nem haladó hőmérsékleten szárítjuk.

A találmányt a továbbiakban részleteiben ismertetjük, a termékek tulajdonságait jellegzőbörökkel is szemlélítetve. Az 1-3. ábrák a termékek röntgendiffrakciós színepeit mutatják, mégpedig a találmány szerint előállított (I) képletű Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrátok közül a β -típusú kristályos alakúét az 1. ábra, a γ -típusú kristályos alakúét a 2. ábra; a 3. ábra a technika állása szerint előállított Ara-C-5'-

-sztearil-foszfát-nátriumsó röntgensugaras elhajlási szinképet mutatja.

A 4-6. ábrák a termékek differenciális termikus analizisével kapott jelleggörbék mutatják (DTA-jelleggörbe), még pedig az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrátok közül a β -típusú kristályos alakúét a 4. ábra, a γ -típusú kristályos alakúét az 5. ábra, míg a technika állása szerint előállított Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó DTA-jelleggörbéjét a 6. ábra mutatja.

Azok az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó alapú termékek, amelyek előállítására találmányunk irányul, háromféle állapotot vehetnek fel attól függően, hogy a terméket hogyan állítjuk elő.

Az Ara-C-5'-sztearil-foszfát 9,7 és 13 közötti pH-jú vizes oldatából vagy szuszpenziójából elkülönített mononátriumsó amorf állapotú (α -típus); a mononátriumsó monohidrátja kétféle kristályos alakot vehet fel (β -típus, illetve γ -típus); találmányunk tárgya a háromféle állapotú (α , β , γ) céltermékek bármelyikének előállítása.

A találmányunk szerinti eljárással előállított Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsóban a nátrium aránya az Ara-C-5'-sztearil-foszfát egy móljára számítva nem kisebb, mint 0,95 mól, előnyösen nem kisebb mint 0,99 mól, vagyis a termékben a nátrium közel stöchiometrikus arányban van jelen. Ha viszont a technika állása szerinti módon állítjuk elő az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsót, abban a nátrium aránya az Ara-C-5'-sztearil-foszfát egy móljára számítva mintegy 0,75 mólnyi. Látható, hogy a technika állása szerinti eljárással kapott Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó termékben tekintélyes a szabad sav alakú Ara-C-5'-sztearil-foszfát mennyisége, s úgy tűnik, hogy éppen a szabad alakú sav ezen nagy aránya okozza, hogy a hagyományos módon előállított nátriumsó termék ennyire instabil és ilyen nagy mértékben nedvszívó. A találmány szerint előállított, β -típusú, illetve γ -típusú kristályos alakú Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrát fizikai és kémiai tulajdonságai a következők.

A kristályok röntgendiffrakciós szinképe:

A kristályok röntgendiffrakciós szinképet a RIGAKUDENKI Co. Cu-Ni-típusú röntgen-diffraktométerével vesszük fel (Cu-röntgencső Ni-fóliás szűrővel; szcintillációs számláló). A β -típusú kristályét az 1. ábra, a γ -típusú kristályét a 2. ábra, a szinkép elemzési eredményét (rácstávolságok) az 1. táblázat mutatja.

1. táblázat

Típus	d[nm]	1/I ₁
	2,386	1,0

β -típus	1,731	0,25
	1,299	0,22
	1,227	0,15
	0,537	0,23
	0,439	0,15
	0,375	0,27

γ -típus	1,802	1,0
	0,893	0,07
	0,498	0,14
	0,448	0,21
	0,395	0,20

Megjegyzés: Cu; Ni; 30 kV, 20 mA, $\lambda = 0,15405$ nm

Termikus analízis (DTA).

A differenciális termikus analízis jelleggörbéit a SHIMAZU Művek DT-30 típusjelű termikus analizátor készülékével vesszük fel. A β -típusú kristály 128 °C hőmérsékleten, a γ -típusú kristály 98 °C és 113 °C hőmérsékleten abszorbeál hőt, amely jelenség kristályvíz dehidratálására mutat a közegből. A termogravimetriás analízis azt mutatja, hogy mindkét (β -, illetve γ) típusnál a tömegcsökkenés 3%-os. A DTA-jelleggörbéket a β -típusú monohidrát kristályra a 4. ábra, a γ -típusú monohidrát kristályra az 5. ábra, a technika állása szerint előállított, amorf alakú mononátriumsóra a 6. ábra mutatja.

A kristályok nedvességtartalma:

Karl Fischer módszerével mérjük mindkét kristálytípusnál a nedvességtartalmat, amely a β -típusnál 3,0% és a γ -típusnál 2,92%; az adatok jó egyezést mutatnak a $C_{27}H_{49}N_3NaO_5P \cdot H_2O$ molekulaképletből számított, 2,92%-os elméleti értékkel.

A találmány szerint a stabil Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó és monohidrátja a következőképpen állítható elő.

(a) Stabil Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó előállítása.

Ara-C-5'-sztearil-foszfát vizes oldatának vagy szuszpenziójának pH-ját nátrium-hidroxid hozzáadásával 9,7 és 13 közé állítjuk, majd az így beállított oldatból elkülönítjük a mononátriumsót.

Ehhez az Ara-C-5'-sztearil-foszfát vizes oldatát vagy szuszpenzióját úgy is készíthetjük, hogy Ara-C-5'-sztearil-foszfátot feloldunk vagy szuszpendálunk vizes oldószerben, de bármely más módon készített, Ara-C-5'-sztearil-foszfátot (is) tartalmazó vizes oldat, illetve szuszpenzió is alkalmazható, pl. az olyan, amelyet úgy készítünk, hogy szabad Ara-C-5'-sztearil-foszfátot is tartalmazó Ara-C-5'-sztearil-foszfát-nátriumsó terméket oldunk fel vagy szuszpendálunk vizes oldószerben, stb. Vizes oldószerként alkalmazhatunk tiszta vizet vagy olyan oldószerkeletet, amely vizet és vízzel elegyedő szerves oldószert tartalmaz.

Vízzel elegyedő oldószerként alkalmazható egyebek között valamely rövidszénláncú alkohol, pl. metanol, etanol, propanol; valamely keton, pl. acetone vagy metil-etil-keton; továbbá ciklusos éterek, előnyösen 5- vagy 6-tagú ciklusos éterek, pl. tetrahidrofuran (THF) vagy dioxán. A szerves oldószer vízzel elegyítésének aránya nincs különösen korlátozva, előnyösen a szerves oldószer aránya az elegy összmenyiségének 50%-ánál kisebb.

Az Ara-C-5'-sztearil-foszfát feloldásához, illetve szuszpendálásához alkalmazott víz mennyisége az Ara-C-5'-sztearil-foszfát egy tömegrészére számított 0,15-10, előnyösen 0,8-5 tömegrésznyi.

Már említettük, hogy a vizes oldat, illetve szuszpenzió pH-ját nátrium-hidroxid hozzáadásával 9,7 és 13 közé állítjuk: előnyösen a pH-tartomány 10,0 és 12,5 közötti. A pH állításához a nátrium-hidroxidot akár szilárd alakban, akár vizes oldatban alkalmazhatjuk, előnyösen a vizes oldatot alkalmazzuk, mert azzal könnyebben állítható be az Ara-C-5'-sztearil-foszfát vizes oldatának, illetve szuszpenziójának pH-ja. A vizes oldat, illetve szuszpenzió pH-jának beállítását célszerűen optimális hőmérsékleten végezzük, előnyösen a hőmérséklet 50 °C alatti. A pH beállítása folytán azonnal végbemegy az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó képződése, mert a reakció semlegesítő jellegű.

Az így kapott stabil Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó elkülönítése bármely hagyományos módszer alkalmazásával történhet, így pl. szárazra párolhatjuk a reakciófolyadékot, maradékként kapva a mononátriumsót; a kondenzált reakciófolyadékot, lehűtjük a mononátriumsó kicsapátása céljából; vagy a reakciófolyadékhoz a már említett - vízzel elegyedő - szerves oldószer adhatjuk a mononátriumsó kicsapátása céljából. A kicsapított mononátriumsót ezután kiszűrjük és szárítjuk.

A vízzel elegyedő szerves oldószerből olyan mennyiséget adunk a reakciófolyadékhoz, amely elegendő a mononátriumsó kicsapátásához, általában a reakciófolyadék víztartalmának legalább kétszeresét, előnyösen 3-5 -szörösét kitevő mennyiséget.

(b) Az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrát előállítása.

Az (a) lépésben a fent leírt módon kapott - Ara-C-5'-sztearil-foszfát és nátrium-hidroxid reakcióelegyből elkülönített - nedves állapotú mononátriumsót szuszpendáljuk a már említett - a nátriumsó tömegének 3-5-szörösét kitevő mennyiségű - vízzel elegyedő szerves oldószerben, előnyösen etanolban, az így készített elegyet legalább tíz percen át, előnyösen harminc percen át, még előnyösebben 2-6 órán át keverjük 30-90 °C, előnyösen 50-70 °C hőmérsékleten; az így

keletkező kristályokat elkülönítjük és 100 °C-t meg nem haladó, előnyösen 10 és 100 °C közötti hőmérsékleten szárítjuk; így β -típusú kristályok alakjában kapunk Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrátot.

A célterméket β -típusú kristályok alakjában úgy is előállíthatjuk, hogy az Ara-C-5'-sztearil-foszfátot és nátrium-hidroxidot tartalmazó reakcióelegyhez - annak nagymértékű bepárlása után - hozzáadjuk a már említett, vízzel elegyedő szerves oldószer, előnyösen etanol, az így kapott elegyet folyamatos hevítés közben 30 és 90 °C közötti hőmérsékleten keverjük, a képződő kristályokat elkülönítjük, majd szárítjuk. γ -típusú kristályos alakban pedig a következő lépésekben állíthatjuk elő az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrátot:

Az egyik változat szerint feloldunk β -típusú kristályokat a vízzel elegyedő szerves oldószerben, pl. metanolban vagy etanolban, az így kapott oldatot - előnyösen 30-70 °C, még előnyösebben 40-60 °C hőmérsékletre - hevítjük és az így képződő oldatot lassan hűtve, kicsapátjuk a γ -típusú kristályokat.

Egy másik változat szerint az Ara-C-5'-sztearil-foszfátot és nátrium-hidroxidot tartalmazó reakcióelegyből elkülönített, nedves állapotú mononátriumsót csökkentett nyomáson szárítjuk, majd az így kapott vízmentes mononátriumsót feloldjuk az említett, vízzel elegyedő szerves oldószerben, előnyösen metanolban, miközben az oldatot - pl. 30 és 60 °C közötti, előnyösen 60 °C körüli hőmérsékletre - hevítjük, majd lassan hűtve az így képződő oldatot, kicsapátjuk a kristályokat; a kiváló kristályokat elkülönítjük és 100 °C-t meg nem haladó hőmérsékleten, csökkentett nyomáson szárítjuk.

A találmány szerinti eljárásban a stabil Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó előállításához és abból a megfelelő monohidrát előállításához alkalmazott kiindulási anyag, az Ara-C-5'-sztearil-foszfát a technika állásából ismert módszerekkel előállítható, pl. azzal az eljárással, amelyet a már idézett, elővizsgálat nélkül közzétett 55-49588 (1980) sz. japán szabadalmi bejelentésben ismertettek.

A találmány szerinti eljárással előállított Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó stabilitása kiemelkedő, az abból konvertált monohidrát nem-higroszkópos és stabil, így mindkét vegyület alkalmas gyógyászati készítmények előállítására. Az (I) képletű monohidrátot hatóanyagként tartalmazó preparátumot úgy állíthatjuk elő, hogy a hatóanyagot a farmakológiában szokásos hordozóval és/vagy egyéb segédanyaggal kikészítjük. A továbbiakban előállítási példákkal ismertetjük részletesebben a találmányt, amely nem korlátozódik e példákra.

1. példa

500 g Ara-C-5'-sztearil-foszfátot töltünk 1,5 l vízhez, majd nátrium-hidroxid hozzáadásával az oldat pH-ját 10,8-ra állítjuk; ezután 6 liter etanolt adunk az elegyhez, amelyet lehűlés céljából tizenhat órán át állni hagyjuk. Az így képződő csapadékot centrifugálással elkülönítjük, így nedves állapotban kapunk Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsót.

Az így kapott nedves sötét 30 °C hőmérsékleten, csökkentett nyomáson szárítva, 332 g amorf állapotú (α-típusú) Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsót kapunk, amelynek olvadáspontja 223 °C (bomlási hőfok).

Folyadékkromatográfiával igazoljuk, hogy az így kapott termék tisztasága 99,5%-os.

$E^{1\%}_{1cm}$ (273 nm, 0,1 n NaOH): 152,3.

Egyező eredményt kapunk, ha etanol helyett acetont, metil-etil-ketont, THF-t vagy dioxánt hozzáadva csapjuk ki a mononátriumsót.

2. példa.

2,40 g vízmentes Ara-C-5'-sztearil-foszfáthoz adunk 6 ml vizet, majd 1 n nátrium-hidroxidos vizes oldat hozzáadásával 12,0-ra állítjuk az elegy pH-ját; ezután 30 ml etanolt adunk az elegyhez, amelyet 55 °C hőmérsékleten három órán át keverünk. Ezután az elegyet lehűlés céljából tizenhat órán át állni hagyjuk, majd a csapadékot kiszűrjük és 30 °C hőmérsékleten, csökkentett nyomáson tíz órán át szárítjuk; így 1,83 g Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsót (α-típus) kapunk, amelynek olvadáspontja 220 °C (bomlási hőfok). Folyadékkromatográfián igazoljuk, hogy az így kapott termék tisztasága 99,5%-os.

$E^{1\%}_{1cm}$ (273 nm, 0,1 n NaOH): 150,9.

3. példa

2,40 g Ara-C-5'-sztearil-foszfáthoz 10 ml vizet adunk, majd nátrium-hidroxid hozzáadásával az elegy pH-ját 10,0-re állítjuk, eközben keverve azt; az így képződött oldatot csökkentett nyomáson szárazra pároljuk; így 2,30 g Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsót (α-típus) kapunk, amelynek olvadáspontja 219,8 °C (bomlási hőfok).

Folyadékkromatográfiával igazoljuk, hogy az így kapott termék tisztasága 99,1%-os.

$E^{1\%}_{1cm}$ (273 nm, 0,1 n NaOH): 152,6.

4. példa.

6,4 g (10 mmól) N⁴,O²,O³-triacetil-Ara-C-5'-foszfát-tri-n-butil-ammóniumsóhoz

adunk 5 g sztearil-alkoholt, 30 ml piridint és 8 g p-toluolszulfonil-kloridot és az elegyet 40 °C hőmérsékleten tartjuk három órán át. Ezután a reakcióelegyet 50 ml víz és 50 ml kloroform elegyével extraháljuk.

A kloroformos oldatban lévő triacetil-származékot deacetilezzük 20 ml vizes ammónia és etanol hozzáadásával, majd a deacetilátumot vízzel extraháljuk.

A vizes fázis elkülönítése után annak pH-ját tömény hidrogén-klorid hozzáadásával, 2,5-re állítjuk, a kiváló Ara-C-5'-sztearil-foszfátot kiszűrjük. Az így kapott csapadékhoz 20 ml vizet adunk és az oldat pH-ját 1 n nátrium-hidroxidos vizes oldat hozzáadásával 10,5-re állítjuk, majd hozzáadunk 80 ml etanolt. A keletkezett csapadékot kiszűrjük, így nedves állapotú Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsót (α-típus) kapunk; a nedves anyagot a 2. példában leírt módon szárítva, 4,20 g Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsót (α-típus) kapunk, amelynek olvadáspontja 221 °C (bomlási hőfok).

Folyadékkromatográfián igazoljuk, hogy az így kapott termék tisztasága 99,62%-os.

$E^{1\%}_{1cm}$ (273 nm, 0,1 n NaOH): 151,4.

5. példa

A 4. példában leírt módon kapott 10 g Ara-C-5'-sztearil-foszfáthoz 50 ml vizet adunk és nátrium-hidroxid hozzáadásával az elegy pH-ját 10,5-re állítjuk keverés közben.

Az elegyet harminc percen át keverjük, majd 120 ml 95%-os etanololdatot adunk hozzá és az így kicsapott mononátriumsót kiszűrjük.

Az így kapott nedves állapotú (mintegy 20 tömegszázalékos nedvességtartalom) 8,5 g mononátriumsót 30 ml etanolban szuszpendáljuk, a szuszpenziót kilencven percen át keverjük, majd az így kezelt szuszpenzióból kiszűrjük a kristályokat és azokat csökkentett nyomáson, 40 °C hőmérsékleten szárítjuk; így kapunk Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrátot (β-típusú kristályok), amelynek olvadáspontja 221 °C (bomlási hőfok).

Az így kapott termék röntgensugaras elhajlási szinképét az 1. ábrán, elemzési eredményét az 1. táblázatban adjuk, a termék DTA-jelleggörbéjét a 4. ábra mutatja.

A fenti eljárást megismételjük olyan - önmagában ismert módon kapott - 10 g-nyi Ara-C-5'-sztearil-foszfátos kiindulási anyaggal, amely tartalmaz Ara-C-5'-sztearil-foszfát nátriumsót is (a nátriumarány 0,75 mólnyi), így is β-típusú kristályok alakjában kapunk Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mononátriumsó-monohidrátot.

6. példa.

Az 5. példában leírt módon kapott nedves állapotú mononátriumsót 60 °C hőmérsékleten, csökkentett nyomáson tizenhat órán át szárítjuk és az így kapott vízmentes termék-
ből 6 grammot feloldunk 20 ml metanolban, közben 60 °C hőmérsékleten tartva az ele-
gyet. Amikor a termék teljesen feloldódott, az így képződő oldatot lassan lehűtve, abból a kristályokat kicsapatjuk, majd kiszűrjük és csökkentett nyomáson, 60 °C hőmérsékleten szárítjuk; így az Ara-C-5'-sztearil-fosz-
fát-monorátriumsó monohidrátját γ -típusú kristályok alakjában kapjuk, amelyek olvadáspontja 226 °C (bomlási hőfok). Az így kapott kristályok röntgensugaras elhajlási színpé-
tét a 2. ábrán, elemzési eredményét az 1. táblázatban adjuk, a termék DTA-jelleggörbéjét az 5. ábra mutatja.

7. példa.

10 g Ara-C-5'-sztearil-foszfáthoz 30 ml vizet adunk és 5 n nátrium-hidroxidos oldat hozzáadásával az oldat pH-ját 10,5-re állítjuk, majd az így képződő oldathoz keverés közben, mintegy 40 °C hőmérsékleten 50 ml etanolt adunk, így kicsapatva a mononátriumsót.

Az elegyet 65 °C hőmérsékletre hevítjük, hozzáadunk β -típusú Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátriumsó-monohidrát oltókristályt, majd az elegyet egyező hőmérsékleten tartva öt órán át keverjük és a kristályképződés végbemeneteléről mikroszkóppal győződünk meg. Ezután 20 ml etanolt adunk az 40 °C elegyhez, s azt fokozatosan lehűtjük.

A terméket egy éjszakán át állni hagyjuk, majd a kristályokat kiszűrjük és csökkentett nyomáson szárítjuk; így 8,9 g Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátriumsó-monohidrátot (β -típusú kristályok) kapunk, amelynek olvadáspontja 220 °C (bomlási hőfok). Folyadékromatográfiásan igazoljuk, hogy a termék tisztasága 99,7%-os.

$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (273 nm, 0,1 n NaOH): 153,0.

A fenti első lépés szerint kapott elegyet, amely tartalmazza a kivált mononátriumsót, 65 °C-hevítjük, így feloldva a csapadékot. Az elegyet öt órán át keverjük, majd fokozatosan szobahőmérsékletre hűtjük és hat órán át állni hagyjuk ezen a hőmérsékleten, így kristályok képződnek. Ezután 20 ml etanolt adunk az elegyhez és azt éjszakán át állni hagyjuk. A kristályokat kiszűrjük és csökkentett nyomáson szárítjuk, így Ara-C-60-5'-sztearil-foszfát-monorátriumsó-monohidrátot kapunk β -típusú kristályok alakjában, amelyek olvadáspontja 220 °C (bomlási hőfok) és tisztasága 99,0%-os.

és tisztasága 99,0%-os.

8. példa.

Mintegy 10 g-nyi Ara-C-5'-sztearil-foszfátot feloldunk 50 ml vízben és az oldat pH-ját 10,5-re állítjuk. A vizes oldathoz adunk 50 ml dioxánt, amelyet melegítés közben egyenletesen feloldunk. További 50 ml dioxánt fokozatosan adunk hozzá és az elegyet 50 és 55 °C közötti hőmérsékleten tizenegy órán át keverjük. Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátriumsó-monohidrát β -típusú oltókristályokat adunk az elegyhez, s azt két órán át keverjük, majd éjszakán át szobahőmérsékleten állni hagyjuk. A kivált kristályokat kiszűrjük és szárítjuk; így 8,5 g célterméket kapunk β -típusú kristályok alakjában.

Egyező módon állítjuk a kiindulási, 10,5 pH-jú vizes oldatot, de dioxán helyett ahhoz acetont adunk. Az oldatot hat órán át keverjük és éjszakán át állni hagyjuk. A kivált kristályokat kiszűrjük és szárítjuk; így 8,62 g célterméket kapunk β -típusú alakjában.

9. példa.

A 4. példában szerint előállított 2,5 g vízmentes Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátriumsót (α -típus) 25 ml tiszta etanolban szuszpendálunk. A szuszpenziót szobahőmérsékleten huszonnégy órán át keverjük, majd a kivált kristályokat kiszűrjük és szobahőmérsékleten, csökkentett nyomáson tizenkét órán át szárítjuk; így 2,32 g célterméket kapunk γ -típusú kristályok alakjában.

10. példa.

A 4. példa szerint előállított, nedves állapotú, α -típusú 4,5 g Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátriumsót 65 °C hőmérsékleten állni hagyjuk huszonnégy órán át. Ezután a kivált kristályokat kiszűrjük és csökkentett nyomáson, szobahőmérsékleten tizenkét órán át szárítjuk; így 2,43 g célterméket kapunk β -típusú kristályok alakjában.

11. példa.

Az 5. példa szerint előállított 2,5 g vízmentes Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátriumsó-monohidrátot (β -típus) 40 °C hőmérsékleten feloldunk 10 ml metanolban. Az oldatot szobahőmérsékleten huszonnégy órán át állni hagyjuk. A kivált kristályokat kiszűrjük és szobahőmérsékleten, csökkentett nyomáson tizenkét órán át szárítjuk; így 1,86 g célterméket kapunk γ -típusú kristályok alakjában.

12. példa.

A 4. példa szerint előállított 2,5 g vízmentes Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátri-
umsót (α -típus) szobahőmérsékleten szusz-
pendálunk 20 ml acetonban, a szuszpenziót
húsz órán át keverjük, majd a kivált kristá-
lyokat kiszűrjük és szobahőmérsékleten,
csökkentett nyomáson szárítjuk tíz órán át;
így 2,4 g célterméket kapunk γ -típusú kris-
tályok alakjában.

13. példa.

A 4. példa szerint előállított 6 g nedves
Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátri-
umsót (α -típus) adunk 15 ml dioxánhoz. Az elegyet 50
és 55 °C közötti hőmérsékleten tizenegy órán
át keverjük, majd szobahőmérsékleten hú-
szon négy órán át állni hagyjuk. A kivált
kristályokat kiszűrjük és szobahőmérséklet-
en, csökkentett nyomáson szárítjuk; így
3,1 g célterméket kapunk β -típusú kristályok
alakjában.

A példákban látható, hogy a kapott ter-
mék szerkezete β -típusú kristályos lesz, ha
nedves állapotban kezelünk Ara-C-5'-sztea-
ril-foszfát-monorátri-umsót (maga a kiindulási
anyag nedves vagy a reakcióelegy oldószer
vztartalmú), s γ -típusú kristályos lesz, ha
az - akár α -, akár β -kritályszerkezetű - ki-
indulási anyag (köztitermék) is vízmentes és
az oldószer is vízmentes.

1. anyagvizsgálati példa.

A találmány szerinti eljárással előállított
Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátri-umsó ki-

váló stabilitását a következő vizsgálattal iga-
zoljuk.

I.1. Vizsgált anyag.

I. A találmány szerint az 1. előállítási pél-
dában megadott módon előállított Ara-C-
-5'-sztearil-foszfát-monorátri-umsó.

II. A találmány szerint a 2. előállítási pél-
dában megadott módon előállított Ara-C-
-5'-sztearil-foszfát-monorátri-umsó.

III. Ellenőrző anyag: az elővizsgálat nélkül
közvetett 55-49588 (1980) sz. japán sza-
badalmi bejelentésben leírt módszerrel
előállított Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mo-
norátri-umsó.

2. Vizsgálati módszer

A találmány szerint előállított (I, illetve
II) anyagokból, illetve az ellenőrző (III)
anyagból 1-1 g tömegű mintákat töltünk mé-
rőpalackokba és a minták egy részét 25 °C
hőfokon tizennégy hónapig, másik részét
50 °C hőfokon három hónapig, megfelelően,
állni hagyjuk telített nátrium-klorid oldat fe-
lett, exsikkátorban (a relatív nedvesség,
RH = 74 és 76% közötti). A mintában jelenlévő
Ara-C-5'-sztearil-foszfát-monorátri-umsó tar-
talmat megmérjük a tárolás előtt (kezdő álla-
pot) és a tárolás végén (14, illetve 3 hónap
után), majd megmérjük az anyagban jelenlé-
vő bomlási termék mennyiségét is, az ered-
ményeket a kezdő állapot szerinti tömeg%-
ban fejezzük ki.

3. Vizsgálati eredmények.

2. táblázat

Anyagminta	25 °C; kezdő állapot	RH: 76% 14 hónap után	50 °C; kezdő állapot	RH: 74% 3 hónap után
I (találm. szerinti)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)
II (találm. szerinti)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)
III (ellenőrző)	100,0 (0,0)	93,7 (6,3)	100,0 (0,0)	58,6 (41,4)

Megjegyzés: Zárójelben a bomlási termék
%-os tömegarányát mutatjuk.

A 2. táblázatból látható, hogy a talá-
lmány szerint előállított mononátri-
umsónál nem tapasztalható bomlás sem 25 °C hőmérséklet-
en és 76% relatív nedvességen végzett 14
havi tárolás, sem 50 °C hőmérsékleten és 74%

relatív nedvességen végzett 3 havi tárolás
után, a találmány szerint előállított mononát-
ri-umsó tehát stabil. Az ellenőrző anyagnál
viszont egyező feltételek között csökkent a
céltermék mennyiség, s a csökkenés különö-
sen jelentős az 50 °C hőmérsékleten és 74%
relatív nedvességen való tárolás esetén.

2. anyagvizsgálati példa.

Az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mono-nátrium-só-mono-hidrát (β -típusú, illetve γ -típusú kristályok) higroszkóp magatartását, vagyis nedvességállóságát, valamint az anyag stabilitását tárolás során az alábbiak szerint vizsgáltuk.

Higroszkópia:

A csökkentett nyomáson ($6,6 \times 10^2$ Pa), 50°C hőmérsékleten végzett szárítás után a β -típusú, illetve γ -típusú kristályokat 25°C hőmérsékleten és RH = 93% relatív nedvességben három napon át tároljuk. Sem a β -típusú, sem a γ -típusú kristályoknál nem tapasztalunk tömegváltozást, vagyis egyik típus sem nedvszívó magatartású.

Tárolás közbeni stabilitás vizsgálata (szigorú teszt):

Az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mono-nátrium-só-mono-hidrátot (β -típusú, illetve γ -típusú kristályok) egy hónapon át tároljuk 65°C hőmérsékleten és RH = 73% relatív nedvességben, majd méréssel meghatározzuk a céltermék tömegét.

Azt találjuk, hogy mindkét típusnál a tárolás utáni céltermék tartalom 99,9 tömegszázalékos, vagyis megegyezik a tárolás előtti tömeggel. Kimutatható bomlás tehát nem lép fel, az Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mono-nátrium-só-mono-hidrát nagyon stabil anyag.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás stabil 1- β -D-arabino-furanózil-citozin-5'-sztearil-foszfát (továbbiakban: Ara-C-5'-sztearil-foszfát) mono-nátrium-sója (I) képletű mono-hidrátjának előállítására, azzal jellemezve, hogy az Ara-C-5'-sztearil-foszfát vizes oldatához vagy szuszpenziójához - amely tartalmazhat Ara-C-5'-sztearil-foszfát-mono-nátrium-sót is - nátrium-hidroxidot adva, a vizes oldat vagy szuszpenzió pH-ját 9,7 és 13 közötti értékre állítjuk,

majd vízzel elegyedő szerves oldószerrel adunk az így kapott vizes oldathoz vagy szuszpenzióhoz, így kicsapva az Ara-C-5'-sztearil-foszfát mono-nátrium-sóját és

- a) az így kapott elegyet folyamatos melegítés közben keverjük, s az ennek során képződő mono-hidrát-kristályokat elkülönítjük az elegyből, vagy
- b) a kivált mono-nátrium-sót elkülönítjük és az elkülönített mono-nátrium-sót víz jelenlétében szuszpendáljuk vagy termikusan feloldjuk vízzel elegyedő szerves oldószerben - termikus feloldás esetén az így képződő oldatból hűtéssel kicsapva a kristályokat -, majd a kivált kristályokat elkülönítjük a szuszpenzióból vagy elegyből és kivált esetben az így kapott, vízmentes állapotú kristályokat vízzel elegyedő, vízmentes szerves oldószerben szuszpendáljuk vagy termikusan feloldjuk - termikus feloldás esetén az így képződő oldatból hűtéssel kicsapva a kristályokat -, majd az így képződő kristályokat a szuszpenzióból vagy elegyből elkülönítjük, vagy
- c) a kivált mono-nátrium-sót elkülönítjük és vízmentes állapotban szuszpendáljuk vagy termikusan feloldjuk vízzel elegyedő, vízmentes oldószerben - termikus feloldás esetén az így képződő oldatból hűtéssel kicsapva a kristályokat -, majd az így képződő kristályokat a szuszpenzióból vagy elegyből elkülönítjük és a) b) vagy c) eljárásban elkülönített kristályokat 100°C -t meg nem haladó hőmérsékleten szárítjuk.

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás azzal jellemezve, hogy az Ara-C-5'-sztearil-foszfátot tartalmazó vizes oldat vagy szuszpenzió pH-ját 10,0 és 12,5 közötti értékre állítjuk.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy a mono-nátrium-sót rövidszénláncú alkoholban szuszpendáljuk.

4. A 3. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy rövidszénláncú alkoholként metanolt, etanolt vagy propanolt alkalmazunk.

3 lap rajz

A kiadásért felel a Közgazdasági és Jogi Könyvkiadó igazgatója

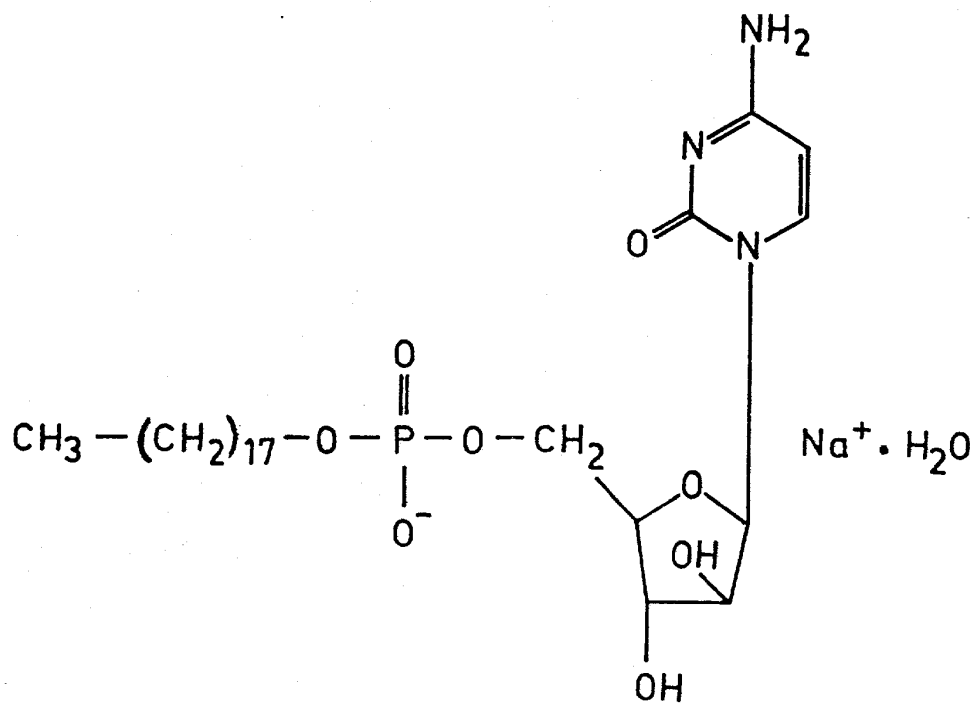
89.1249.66-4 Alföldi Nyomda Debrecen - Felelős vezető: Benkő István vezérigazgató

196429

Nemzetközi osztályozás:

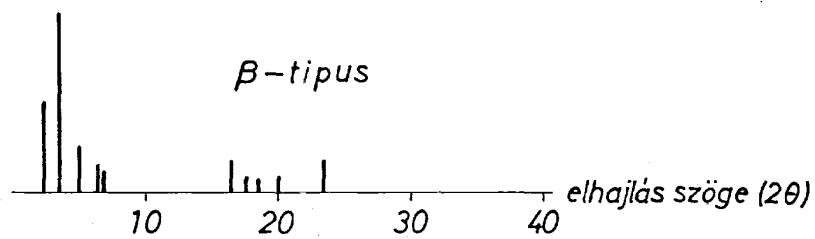
C 07 H 19/10

A 61 K 31/70

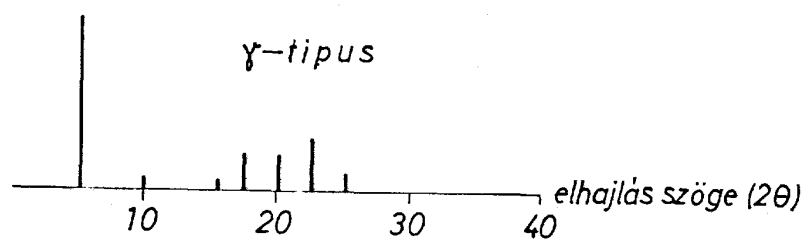


(1)

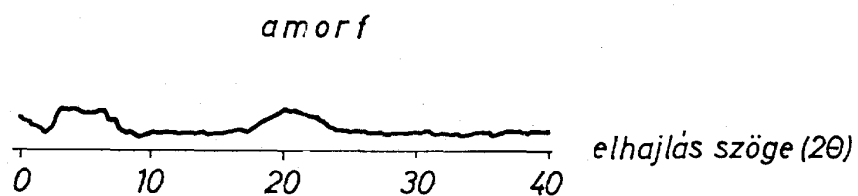
Röntgensugaras elhajlási szinkép



1. ábra

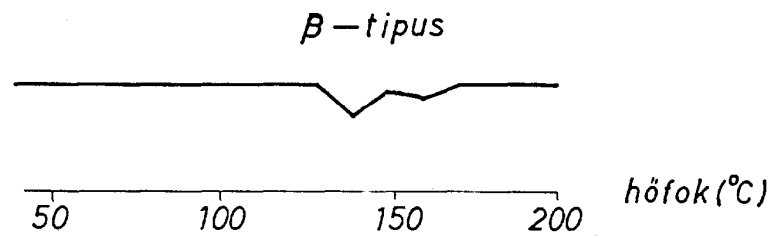


2. ábra

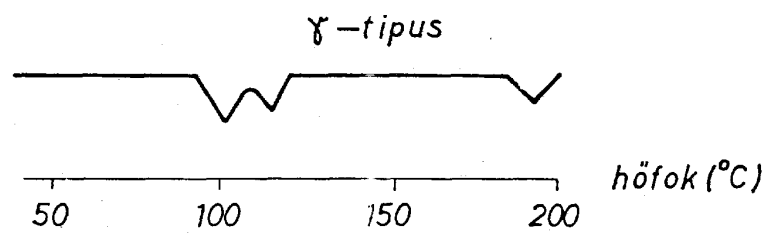


3. ábra

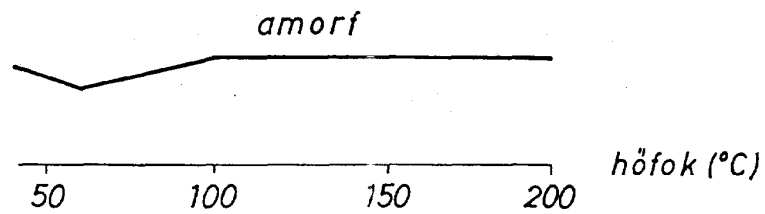
DTA jelleggörbe



4. ábra



5. ábra



6. ábra