



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 231 076 A1

 4(51) C 07 H 19/06
 C 07 D 239/52
 C 07 B 39/00

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 07 H / 267 372 2 (22) 18.09.84 (44) 18.12.85

(71) Humboldt-Universität zu Berlin, 1080 Berlin, Unter den Linden 6, PSF 1297, DD

(72) Pein, Claus-Dietmar, Dipl.-Chem.; Cech, Dieter, Doz. Dr. sc. nat. Dipl.-Chem.; Reefschräger, Jürgen, Dr. rer. nat., Dipl.-Chem., DD

(54) Verfahren zur Herstellung von Mono- und/oder Bisdifluormethoxypyrimidinen

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Monodifluormethoxypyrimidinen der allgemeinen Formel III, in der R¹ Wasserstoff, Alkyl, funktionell substituiertes, beispielsweise perhalogen-substituiertes Alkyl, Fluor, Chlor, Brom oder Iod und R² einen glykosidisch gebundenen Kohlenhydrat-, einen ein- oder mehrfach halogensubstituierten oder einen Desoxy-Kohlenhydrat-Rest, einen Alkyl- oder einen Hydroxyethyl-methylether-Rest bedeuten. Ziel der Erfindung ist es, III in einer einfachen, auch für empfindliche Substanzen anwendbaren Reaktion und ohne Bildung von Nebenprodukten darzustellen. Die Aufgabe bestand in der Entwicklung eines Eintopfverfahrens, das ohne Isolierung von Zwischenprodukten durchführbar ist. Erfindungsgemäß werden Pyrimidinnucleoside O-silyliert, gebildete Silylverbindungen in einem aprotischen Lösungsmittel unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluß bei 0°–200 °C mit Difluorcarben umgesetzt und gegebenenfalls erhaltene Acyl-Nucleoside entacyliert. III fällt nach diesem Verfahren, in dem Zwischenprodukte nicht isoliert werden, in guten Ausbeuten und sehr rein an. Anwendungsgebiet ist die pharmazeutische Industrie. Formel III

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von Mono-difluormethoxypyrimidinen der allgemeinen Formel III, in der R¹ Wasserstoff, Alkyl, funktionell substituiertes, beispielsweise perhalogen-substituiertes Alkyl, Fluor, Chlor, Brom oder Iod und R² einen glykosidisch gebundenen Kohlenhydrat-, einen ein- oder mehrfach halogensubstituierten oder einen Desoxy-Kohlenhydrat-Rest, einen Alkyl- oder einen Hydroxyethyl-methylether-Rest bedeuten, **gekennzeichnet dadurch**, daß ein Pyrimidin-2,4-dion der allgemeinen Formel I mit der für R¹ und R² erklärten Bedeutung oder in der R² einen Peracyl-, einen Peracyl- und halogensubstituierten oder einen Peracyldesoxy-Kohlenhydrat-Rest darstellt, mit einem Silylierungsmittel zur Reaktion gebracht, gebildetes 4-Trimethylsilyloxypyrimidin-2-on der allgemeinen Formel II mit der für R¹ und R² erklärten Bedeutung in einem aprotischen Lösungsmittel zwischen 0°C und 200°C in Gegenwart eines Difluorcarbengenerators umgesetzt und im Falle des Einsatzes von I mit R² = peracyliertem Kohlenhydrat-Rest gebildetes III mit R² = peracyliertem Kohlenhydrat-Rest entacyliert wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß als aprotisches Lösungsmittel vorzugsweise Tetrahydrofuran, Diethylenglykoldimethylether oder Dichlormethan eingesetzt wird.
3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß als Silylierungsmittel vorzugsweise Hexamethyldisilazan in Gegenwart eines Ammoniumsalzes oder Trimethylchlorsilan verwendet wird.
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß vorzugsweise eine Verbindung I mit R² = Ribofuranosyl-, 2'-Desoxyribofuranosyl- oder Arabinofuranosyl- oder eine entsprechende im Kohlenhydrat-Rest peracylierte, beispielsweise peracetylierte Verbindung eingesetzt wird.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, **gekennzeichnet dadurch**, daß als Difluorcarbengenerator vorzugsweise Bistrifluormethylquecksilber oder Bistrifluormethylcadmium in Gegenwart von Natriumiodid oder Dibromdifluormethan im Gemisch mit elementarem Blei oder Cadmium verwendet wird.

Hierzu 1 Seite Formeln

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Monodifluormethoxypyrimidinen der allgemeinen Formel III, in der R¹ Wasserstoff, Alkyl, funktionell substituiertes, beispielsweise perhalogensubstituiertes Alkyl, Fluor, Chlor, Brom oder Iod bedeuten und R² für einen jeweils glykosidisch gebundenen Kohlenhydrat-, einen ein- oder mehrfach halogensubstituierten oder einen Desoxy-Kohlenhydrat-Rest, einen Alkyl- oder einen Hydroxyethyl-methylether-Rest stehen. Die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren hergestellten neuen Stoffe stellen potentielle Antimetabolite dar und können beispielsweise als Virostatika und Cancerostatika Anwendung finden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Difluormethoxypyrimidine sind bisher nicht bekannt. Zu den unfluorierten Analoga von III gelangt man durch die üblichen Nucleosidkondensationen ausgehend von 2,4-Dimethoxypyrimidin (G.E. Hilbert, T.B. Johnson J. Amer. chem. Soc. **52** (1930) 2001). Silyloxy-pyrimidine neigen vornehmlich zum Austausch der Silyloxygruppe gegen starke Nucleophile, z. B. gelingt auf diese Weise durch Behandlung von 4-Trimethylsilyloxypyrimidinen mit konzentriertem Ammoniak die Darstellung von Cytosinderivaten (H. Vorbrüggen, U. Niedballa Angew. Chem. **83** (1971) 729). Die Umsetzung von Verbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = H mit Elektrophilen wie Chlor oder Brom führt zu 5-Halogen-substituierten Derivaten, während für Verbindungen mit R¹ ungleich H keine Reaktion mit Elektrophilen bekannt sind. In der Reihe der Untersuchungen über Reaktionen von Pyrimidinderivaten mit Elektrophilen gibt es in jüngster Zeit umfassende Studien über das Verhalten gegenüber Carbenen (U. K. Pandit Heterocycles **8** (1977) 609). Es konnte gezeigt werden, daß Umsetzungen mit verschiedenen Halogencarbenen immer zur Addition des Carbens an die 5,6-Doppelbindung des Pyrimidinderivates unter Bildung von 2,4-Diazabicyclo-4,1,0-heptanen führen (H. P. M. Thiellier, G. J. Kochen, U. K. Pandit Tetrahedron **33** (1977) 1493). Entsprechende Umsetzungen mit Difluorcarben sind nicht beschrieben.

Ziel der Erfindung

Die Erfindung hat das Ziel, Mono-difluormethoxypyrimidine mit geringem Arbeitsaufwand in guten Ausbeuten und unter Vermeidung unerwünschter Nebenprodukte zu synthetisieren.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung von Mono-difluormethoxypyrimidinen der allgemeinen Formel III zu entwickeln, das die Einführung der Difluormethoxygruppierung auf einfachem Wege ohne Isolierung von Zwischenprodukten gestattet.

Erfindungsgemäß wird ein Pyrimidin-2,4-dion der allgemeinen Formel I mit der für R¹ und R² erklärten Bedeutung oder in der R² einen Peracyl-, einen Peracyl- und halogensubstituierten oder einen Peracyldesoxy-Kohlenhydrat-Rest darstellt, in an sich bekannter Weise mit einem Silylierungsmittel in der Siedehitze zur Reaktion gebracht. Vorzugsweise werden hierfür Hexamethyldisilazan in Gegenwart eines Ammoniumsalzes oder Trimethylchlorsilan verwendet. Es entsteht ein 4-Trimethylsilyloxy-pyrimidin-2-on der allgemeinen Formel II mit der für R¹ und R² erklärten Bedeutung. Diese O-silylierten Verbindungen sind sehr empfindlich und müssen nicht isoliert werden. Nach Einengen des Reaktionsgemisches wird dieses sofort in einem aprotischen Lösungsmittel, beispielsweise in Tetrahydrofuran, Diethylenglykoldimethylether oder Dichlormethan aufgenommen, die zuvor mit starken Trockenmitteln getrocknet und unter Stickstoffatmosphäre destilliert wurden. Unter Inertgas und Feuchtigkeitsausschluß erfolgt nun die Zugabe eines Difluorcarbengenerators. Vorzugsweise werden (CF₃)₂Hg oder (CF₃)₂Cd in Gegenwart von Natriumiodid oder CF₂Br₂ im Gemisch mit elementarem Blei oder Cadmium angewendet (I. L. Knunjan, J. F. Komissarow, B. L. Djatkin, L. T. Lanzowa Isv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Chem. [1977] 943; D. Seyferth, S. P. Hopper, K. V. Darragh J. Amer. chem. Soc. **91** [1969] 6536; L. J. Krause, J. A. Morrison J. chem. Soc. Chem. Commun. [1980] 671; H. P. Fritz, W. Kornrumpf Z. Naturforsch. **36b** [1981] 1375). Difluorcarben wird im Überschuß angewendet.

Nach vollständiger Reaktion (dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle) wird das Reaktionsgemisch nach üblichen Methoden aufgearbeitet, indem zunächst wäßriges Methanol zugefügt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das zurückbleibende braune Öl mit einem wässrigen Methanol-Gemisch (z. B. 1:1) verdünnt wird.

Natriumsulfat getrocknet. Bei Einsatz von I mit R^2 = peracyliertem Kohlenhydrat-Rest entsteht zunächst entsprechend R^2 -substituiertes III, das isoliert und nachfolgend unter sauren Bedingungen entacyliert werden kann. Günstiger ist es, auf die Isolierung dieses Intermediärproduktes zu verzichten und die getrocknete organische Phase einzuengen und danach 6–8 Stunden bei 0°C mit einer HCl-gesättigten Lösung zu behandeln, um auf diese an sich bekannte Art die Acylschutzgruppen, beispielsweise Acetylgruppen, zu entfernen. Das erfindungsgemäße Eintopfverfahren läßt sich unerwartet auch an Verbindungen durchführen, deren Kohlenhydrat-Rest ungeschützt ist, so daß dadurch die nachgeschaltete Entacylierung entfällt. Die Reinigung der Nucleoside III erfolgt säulenchromatographisch an Kieselgel.

Als Ausgangsnucleoside I wurden vorzugsweise solche eingesetzt, in denen R^2 = Ribofuranosyl-, 2'-Desoxyribofuranosyl oder Arabinofuranosyl bedeuten. Es eignen sich aber auch entsprechende im Kohlenhydrat-Rest peracylierte Verbindungen. Zur vollständigen Beseitigung von Quecksilberspuren beim Einsatz von Quecksilberverbindungen zur Herstellung des Difluorcarbens macht sich eine nochmalige Reinigung der Substanzen mittels Gelchromatographie an Sephadex G 10 erforderlich. Das erfindungsgemäße Verfahren stellt derzeit die einzige Möglichkeit zur Einführung der Difluormethoxygruppe in Pyrimidinnucleoside dar. Es zeichnet sich dadurch aus, daß ausgehend von unsilyliertem I durch nacheinander folgenden Zusatz der Reaktanden, zunächst das Silylierungsmittel, danach das Lösungsmittel und der Difluorcarbengenerator, eine Darstellung der Endprodukte der allgemeinen Formel III ohne Isolierung von Zwischenstufen möglich ist. Das erfindungsgemäße Verfahren zeichnet sich durch eine milde Reaktionsführung aus und ist für die Umwandlung von empfindlichen Nucleosiden geeignet. Die bei der Reaktion entstehenden Produkte sind in hoher Reinheit und mit guten Ausbeuten erhältlich. Der beschriebene Reaktionsverlauf war nicht vorhersehbar, da bisher keine Einschubreaktionen von Difluorcarben in O-Si-Bindungen oder entsprechende Substitutionsreaktionen bekannt waren. Die hergestellten Stoffe sind neuartig und stellen potentielle Antimetabolite und somit auch potentiell antivirale Verbindungen dar. Die Erfindung soll anschließend an Ausführungsbeispielen näher erläutert werden.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

Allgemeine Vorschrift zur Herstellung von 4-Difluormethoxypyrimidinnucleosiden der allgemeinen Formel III aus den acetylierten Nucleosiden

3 mmol des acetylierten Pyrimidinnucleosides werden mit 5 ml Hexamethyldisilazan und einer Spur Ammoniumsulfat 2 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird im Vakuum eingeeengt und mit 15 ml trockenem Tetrahydrofuran versetzt. Zu der gerührten Lösung werden 2,25 g (15 mmol) NaI gegeben. Das Reaktionsgemisch wird unter Stickstoffatmosphäre zum Sieden erhitzt. Zu der Suspension werden 2 g (6 mmol) $Hg(CF_3)_2$ in einer Tetrahydrofuranlösung getropft. Das Reaktionsgemisch wird nach dem Abkühlen eingeeengt und zwischen Chloroform und Wasser verteilt. Die organische Phase wird getrocknet, eingeeengt und mit 10 ml einer ethanolischen HCl versetzt. Nach vollständiger Abspaltung der Acetylgruppen wird erneut eingeeengt und mit $H_2O/CHCl_3$ ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird nach dem Einengen säulenchromatographisch (Kieselgel/Chloroform-Ethanol 9:1) gereinigt.

Nach dieser Vorschrift wurden folgende Verbindungen der allgemeinen Formel III hergestellt:

R^1	R^2	Ausbeute	Fp.
H	Ribofuranosyl	47,7 %	152–153°C
H	Arabinofuranosyl	44,3 %	146–154°C (amorph)
H	2'Desoxyribofuranosyl	32,1 %	glasartige Masse
CH_3	2'Desoxyribofuranosyl	36,3 %	glasartige Masse
F	Ribofuranosyl	39,8 %	173–175°C
Br	Arabinofuranosyl	40,1 %	Schaum
Br	Ribofuranosyl	31,8 %	Schaum
I	Ribofuranosyl	37,1 %	176–178°C
I	Arabinofuranosyl	43,3 %	207–208°C (Zers.)
CH_2-CH_3	2'Desoxyribofuranosyl	35,7 %	glasartige Masse

Beispiel 2

Allgemeine Vorschrift zur Herstellung von 4-Difluormethoxypyrimidinnucleosiden der allgemeinen Formel III aus den Nucleosiden

3 mmol des Pyrimidinnucleosids werden mit 10 ml Hexamethyldisilazan und einer Spur Ammoniumsulfat bis zur vollständigen Auflösung unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird im Vakuum eingeeengt und mit 15 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Nach Zugabe von 2,25 g (15 mmol) Natriumiodid wird das Reaktionsgemisch unter Stickstoffatmosphäre zum Sieden erhitzt. Zu der Suspension tropft man langsam eine Lösung von 2 g (6 mmol) $Hg(CF_3)_2$ in Tetrahydrofuran. Das Reaktionsgemisch wird mit 0,1 N (1 ml) HCl versetzt und im Vakuum eingeeengt. Der Rückstand wird zwischen Wasser und Chloroform verteilt. Die wäßrige Phase wird eingeeengt und säulenchromatographisch (Kieselgel, Chloroform-Ethanol 9:1) gereinigt.

Folgende Verbindungen der allgemeinen Formel III wurden nach diesem Verfahren hergestellt:

R^1	R^2	Ausbeute	Fp.
H	Ribofuranosyl	54,4 %	152–153°C
CH_3	2'Desoxyribofuranosyl	37,3 %	glasartige Masse
Br	2'Desoxyribofuranosyl	54,1 %	glasartige Masse

Bestimmung der biologischen Aktivität von Difluormethoxypyrimidinnucleosiden

Die virushemmenden Eigenschaften der Verbindungen wurden in einem Plaque-Reduktionstest auf menschlichen embryonalen Lungenfibroblasten bestimmt, wobei gleichzeitig cytostatische (Zellproliferations-hemmende) Eigenschaften erfaßt werden. Die Verbindungen zeigen sowohl selektive (die Vermehrung nicht infizierter Zellen bleibt unbeeinflusst) antivirale Wirkungen ($ID_{50} \leq 10 \mu M$)/1/ gegenüber Viren der Herpes-Gruppe (z. B. Herpes-Simplex-Virus Typ 1 und Typ 2), die sie als potentielle Virostatika bei Herpesvirus-Erkrankungen des Menschen ausweisen (z. B. 5-substituierte Arabinofuranosyl-Derivate), als auch cytostatische Eigenschaften (z. B. 5-substituierte Uridin-Derivate), die sie in die Reihe potentieller Concerostatika stellen.

/1/ ID_{50} = Inhibierende Dosis in μM , die eine 50%ige Hemmung der Virusvermehrung bewirkt.

Formelschema

