



NORGE

[NO]

**STYRET
FOR DET INDUSTRIELLE
RETTSVERN**

[B] (II) UTLEGNINGSSKRIFT Nr. 135985

(51) Int. Cl.² C 07 D 239/54

(21) Patentsøknad nr. 3634/71

(22) Inngitt 04.10.71

(23) Løpedag 04.10.71

(41) Alment tilgjengelig fra 06.04.72

(44) Søknaden utlagt, utlegningsskrift utgitt 28.03.77

(30) Prioritet begjært 05.10.70, USA, nr. 78235

(54) Oppfinnelsens benevnelse Fremgangsmåte for fremstilling av 5-fluoruracilderivater.

(71)(73) Søker/Patenthaver RESEARCH INSTITUTE FOR MEDICINE AND CHEMISTRY INC.,
49, Amherst Street, Cambridge, MA 02142,
USA.

(72) Oppfinner ROBERT HENRY HESSE, Cambridge, MA, USA,
DEREK HAROLD RICHARD BARTON, London, England.

(74) Fullmektig Cand. mag. Johan H. Gørbitz,
Bryn & Aarflot A/S, Oslo.

(56) Anførte publikasjoner Ingen.

Denne oppfinnelse angår en fremgangsmåte for fremstilling av 5-fluoruracilderivater.

Det har vist seg at 5-fluoruracil, 5-fluoruridin og forskjellige beslektede 5-fluorerte pyrimidiner har cytotoksiske egenskaper som er nyttige til behandling av visse typer kreft og visse typer virusinfeksjoner. Tidligere er disse fremstilt ved en total syntese som omfatter flere reaksjonstrinn og forholdsvis lavt totalt utbytte. Det har vist seg at visse pyrimidiner slik som uracil, kan fluoreres i 5-stilling under anvendelse av visse elektrofile fluoreringsmidler.

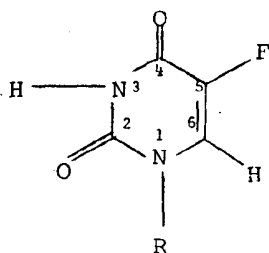
Dette er i motsetning til tidligere forsøk på halogenering av uracil, f.eks. klorering, hvor videre eliminering og addisjon av halogen finner sted for å gi produkter som ikke lett skal anvendes for fremstilling av 5-kloruracilderivater.

Selvom uracilderivater er praktisk talt inerte overfor det kjente fluoreringsmiddel perklorylfluorid, har vi funnet at omsetning med et hypofluoritt, hvor fluoroksygruppen er kovalent bundet til en inert, elektrontiltrekkende gruppe, innfører fluor glatt i 5-stilling. Et beslektet middel som er funnet egnet, er elementært fluor fortynnet med en inert gass.

Det antas at fluor først adderer elektrofilt i 5-stilling for å danne et karboniumion med en positiv ladning i 6-stilling, som derefter eliminerer hydrogen fra 5-stillingen for å danne en 5,6-dobbeltbinding og/eller bindes til et nukleofil som er tilstede i reaksjonsmediet, for å danne et 6-substituert 5-fluor-5,6-dihydropyrimidin; denne forbindelse kan lett bringes til å eliminere 6-substituenten sammen med 5-hydrogenet, f.eks. ved oppvarming, for å danne det ønskede 5,6-dihydroprodukt.

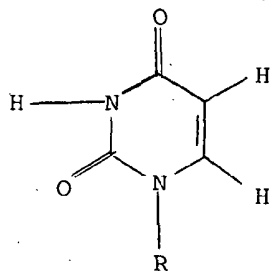
I henhold til oppfinnelsen tilveiebringes således en fremgangsmåte for fremstilling av forbindelser med formelen

135985



I

(hvor R er en alkylgruppe, et hydrogenatom eller en monosakkaridrest),
og fremgangsmåten karakteriseres med at en forbindelse med formelen:



II

(hvor R har de ovenfor angitte betydninger) omsettes med et fluor-alkyl-hypofluoritt hvor alkyl delen inneholder minst to fluoratomer pr. karbonatom, eller omsettes med elementært fluor fortynnet med en inert gass, for å innføre et fluoratom i 5-stillingen, fulgt, når et atom eller en gruppe innføres i 6-stillingen, av eliminering av nevnte gruppe sammen med hydrogenatomet i 5-stilling for å danne den ønskede 5,6-dobbelbinding.

I formlene I og II har alkylgruppen betegnet med R fortrinnsvis 1 - 6 karbonatomer, så som metyl, etyl, butyl, eller heksyl. Når R er en monosakkaridrest kan den f.eks. være en 1-ribofyl-, 1-(2-deoksyribosyl)- eller arabinosyl-rest. Det tilstedeværende nukleofil kan f.eks. omfatte hydroksylioner fra vann, alkoksylioner fra alkanoler, karboksylatjoner fra en karboksylsyre eller halogenidioner, særlig fluoridioner fra fluoreringsmidlet.

135985

Vi har funnet at slike 6-substituerte produkter er forholdsvis stabile, og ettersom de ikke har en 5,6-dobbeltbinding er de forholdsvis lite utsatt for angrep av andre midler. Det er derfor hensiktsmessig å utføres omsetningen i nærvær av et nukleofil for å sikre dannelsen av 6-substituert-5-fluor-5,6-dihydrouracil som vanligvis dannes med høyt utbytte og kan lett omdannes til det ønskede 5-fluoruracil.

Omsetningen utføres fortrinnsvis i et oppløsningsmiddel for pyrimidinet, hensiktsmessig et polart oppløsningsmiddel, så som vann, et hydrat av et perfluorketon så som heksafluoracetone, eller trifluoreddiksyre. Vann foretrekkes. Med oppløsningsmidler som kan være tilstede, omfatter f.eks. alkanoler, fortrinnsvis C_{1-5} , så som metanol eller etanol; lavere alifatiske syre (fortrinnsvis C_{1-5}) så som eddiksyre eller propionsyre; eller estere av fosforsyre eller fosfonsyre. De fleste av de ovennevnte oppløsningsmiddelsystemer vil inneholde nukleofiler som er egnet til å danne de ovenfor nevnte stabile 6-substituerte derivater. I tillegg skal det legges merke til at når F_2 anvendes som reaksjonskomponent, vil F^- -ioner også virke som nukleofiler. Når en hypofluoritt-reaksjonskomponent anvendes og denne omfatter en perfluoralkylgruppe så som i trifluormetyl-hypofluoritt, vil spaltnings av perfluoralkoksyonanioner som frigjøres ved reaksjonen, også gi F^- . Hvis omsetningen utføres i vann, vil således vanligvis det første reaksjonsprodukt hovedsakelig være et 5-fluor-6-hydrokso-5,6-dihydrouracil, men det vil også inneholde en mindre mengde (f.eks. 5-10%) 5,6-difluoro-5,6-dihydrouracil. Begge disse 6-substituerte produkter som imidlertid lett omdannes til det ønskede 5-fluoruracil, f.eks. ved oppvarming, i de tilfeller hvor man har de enklere, varmestabile uraciler så som uracil, hvor oppvarming i vakuum gir 5-fluoruracil som et sublimat, eller i de tilfeller hvor man har mer sammensatte og varmfølsomme utgangsmaterialer, ved oppvarming av det første produkt i et oppløsningsmiddel med et hydrogenfluorid- og/eller vann-fjernende middel, f.eks. en molekylsikt, etylenoksyd, natrium- eller kaliumfluorid eller natrium- eller kaliumacetat. Dannelsen av tilnærmet de samme produkter med både hypofluoritt-reaksjonskomponenten og elementært fluor tyder på at det dreier seg om den samme reaksjonsmekanisme.

135985

Hypofluoritt-reaksjonskomponentene er fluoralkyl-hypofluoritter, som inneholder minst 2 fluoratomer pr. karbonatom i alkyl-delen. Foretrukne reaksjonskomponenter av denne type er trifluormetyl-, perfluorpropyl-, perfluorisopropyl-, perfluor-t-butyl-, monoklorheksafluorpropyl- eller perfluor-t-pentyl-hypofluoritt eller 1,2-difluoroksytetrafluoretan eller 1,1-difluoroksydifluormetan. Den mest foretrukne reaksjonskomponent er trifluormetyl-hypofluoritt.

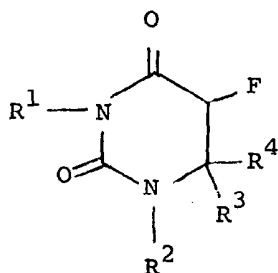
Når fluoreringsmidlet er en flyktig væske, kan det hensiktsmessig føres inn i reaksjonsblandingen i gassform, eller det kan oppløses i en inert væske, så som klortrifluormetan eller andre fluorerte hydrokarboner, som hensiktsmessig også bærer en klorsubstituent.

Reaksjonstemperaturen holdes fortrinnsvis forholdsvis lav, f.eks. i området -78 til $+40^{\circ}\text{C}$. Omsetningen ved romtemperatur er rask og glatt. Omsetningen kan f.eks. felles ved hjelp av kjerne-magnetisk resonans-spakterskopi eller tynnskiktkromatografi.

Når elementær fluor anvendes som fluoreringsmiddel, bør gassen fortynnes med en inert gass, så som nitrogen eller argon, og konsentrasjonen av fluor i gassen er fortrinnsvis 1 til 50 volumprosent. Generelt anvendes lavere reaksjonstemperaturer enn de som er optimale for hypofluoritt-reaksjonskomponentene, men omsetningen kan reguleres ved romtemperatur.

De 6-substituerte 5-fluor-5,6-dihydrouraciler så som 5,6-difluor-5,6-dihydro-uraciler og 5-fluor-6-hydroksy-5,6-dihydro-uraciler, er nye forbindelser med den generelle formel:

135985



III

hvor R^1 , R^2 og R^3 har de ovenfor angitte betydninger, og R^4 er resten av et nukleofil, f.eks. et fluoratom eller en hydroksylgruppe.

De følgende eksempler skal tjene til å illustrere oppfinnelsen ytterligere. Alle smeltepunkter ble tatt på Kofler varmeplate og er angitt ukorrigert, PMR-spektra ble oppnådd ved 60M Hz under anvendelse av et Varian T-60 spektrometer og er angitt som vekslinger nedover fra indre tetrametylsilan(er). FMR-spektra ble oppnådd ved 56,4M Hz på det ovennevnte instrument og er angitt som vekslinger fra indre CFCl_3 . CF_3OF er et kraftig oksydasjonsmiddel, og selvom vi ikke har støtt på noen vanskeligheter ved anvendelse derav, bør forholdsregler taes. Alle omsetninger bør utføres med tilstrekkelig avskjerming, opphopning av reaksjonskomponenten i nærvær av oksyderbare stoffer bør unngås, materiale for håndtering av reaksjonskomponenten bør bestå av glass, "Teflon", "Kel-F" eller passivisert metall, og ikke under noen omstendighet bør PVC, gummi, polyetylen eller lignende stoffer anvendes. I.R.-spektra ble oppnådd med et Perkin-Elmer modell 137 spektrometer. Oppløsninger av CF_3OF ble fremstilt ved å føre den gassformige reaksjonskomponent inn i CFCl_3 ved -78°C . Prøvemengder ble behandlet med et overskudd av vandig KI, og konsentrasjonen av CF_3OF ble beregnet ved filtrering av den frigjorte I_2 : $\text{CF}_3\text{OF} + 2\text{KI} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{I}_2 + 2\text{KF} + 2\text{HF} + \text{CO}_2$.

EKSEMPEL 1

Fluorering av uracil med CF_3OF

Uracil (0,336 g, 3mmol) i en blanding av trifluoreddiksyre (6 ml) og vann (20 ml) ble satt til en oppløsning av trifluormetylhypofluoritt (4,5 mmol) i CFCl_3 (50 ml) ved -78°C i et trykkar. Det utfelte uracil ble oppløst påny i det vandige lag da blandingen ble oppvarmet til romtemperatur. Blanding ble kraftig omrørt i 15

135985

timer. Overskudd av CF_3OF ble fjernet ved nitrogen, og oppløsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk. Det faste residuum ble sublimert ved $210 - 230^\circ\text{C}$ under redusert trykk (0,5 mm Hg) for å gi urensert 5-fluoruracil (0,365 g, 94%) sm.p. $260-70^\circ\text{C}$. Omkrystallisering fra metanol-eter ga rent 5-fluoruracil (0,33 g, 85%) sm.p. $282-3^\circ\text{C}$, blandet sm.p. (med autentisk 5-fluoruracil) $282-3^\circ\text{C}$. PMR, FMR, IR og U.V.-spektra var identiske med spektrene for autentisk 5-fluoruracil.

Ved en tilsvarende fluorering som ovenfor ble råproduktene ikke utsatt for varme, men de ble isteden adskilt ved preparativ tynnskiktkromatografi (silicagel "GF 254", metanol: kloroform, 20:80) til fraksjoner med R_f 0,5 (5-fluoruracil) og en fraksjon med R_f 0,3 (som ved oppvarmning ble omdannet kvantitativt til 5-fluoruracil):
 $\nu_{\text{KBr}}^{\text{cm}^{-1}}$ 3300(s), 1720(s), 1475(m), 1250(m), 1140(m), 1080(m), 880(m),

800(m). Proton-NMR viste et sammensatt mønster av resonanser fra 5-6 ppm (AB-mønster i et ABX-system). FMR hadde $\phi = +207,6$ ppm (bred dublett $J=45$ Hz). Massespektret hadde molekylærion ved m/e 148⁺; nøyaktig masse m/e 148,0291 (beregnet for $\text{C}_4\text{H}_5\text{FN}_2\text{O}_3$, m/e 148,0284). Dette produkt var 5-fluor-6-hydroksey-5,6-dihydrouracil.

Analyse: $\text{C}_4\text{H}_5\text{FN}_2\text{O}_3$

Krever: C, 32,45% H, 3,40%; N, 18,92% F, 12,83%

Funnet: C, 32,26% H, 3,5%, N, 18,90% F, 13,84%

EKSEMPEL 2

Fluorering av uracil med fluor

Fluorgass fortynnet liberalt med nitrogen ble ført ved romtemperatur inn i en kraftig omrørt oppløsning av uracil (150 mg, 1,34 mmol) i vann (50 ml). Etter at utgangsmaterialet var forsvunnet (NMR-kontroll, ca. 2,5 mmol F_2) ble oppløsningsmidlet fjernet under redusert trykk, og residuet ble sublimert for å gi 5-fluoruracil (95 mg, 0,74 mmol, 55% utbytte) identifisert ved sammenligning med autentisk 5-fluoruracil.

135985

EKSEMPEL 3

En oppløsning av uridin-triacetat (0,25 g) i metanol (50 ml) ble satt til en oppløsning av trifluormetyl-hypofluoritt (1,2 mmol) i CFCl_3 (25 ml) ved -78°C , og blandingen ble kraftig omrørt i 5 minutter ved -78°C og derefter spylt med nitrogen. Den resulterende oppløsning ble konsentrert for å gi et voksaktig, hvitt, fast stoff, fra hvilket metanol bare kunne fjernes fullstendig ved vakuumbehandling ved 3 mm Hg natten over.

Det urensede, fluorerte produkt ble oppløst i en 10% volum/volum oppløsning av trietylamin i 50% volum/volum vandig metanol, og oppløsningen ble omrørt i 48 timer ved romtemperatur og derefter konsentrert for å gi et hvitt, fast stoff. Krystallisering av dette faste stoff fra etanol ga 5-fluoruridin (0,15 g), sm.p. $178 - 181^\circ\text{C}$.

EKSEMPEL 4

Fremgangsmåten ifølge eksempel 3 ble gjentatt, bortsett fra at uracil-2'-deoksyribosid-diacetat ble behandlet istedenfor uridin-triacetat. Det resulterende 5-fluoruracil-2'-dioksyribosid hadde sm.p. $150 - 152^\circ\text{C}$.

EKSEMPEL 5

Uridin (1 g) ble oppløst i eddiksyre (25 ml) som ble holdt ved ca 5°C og ble behandlet med elementært fluor (3% i nitrogen) under kraftig omrøring. Fluoret ble ført inn i oppløsningen inntil omsetningen var fullstendig (NMR kontrol). Overskudd av fluor ble fjernet ved å skylle oppløsningen med nitrogen. En sterkt basisk ionebytterharpiks i formiat-form (Dowex 1) (3 g) ble tilsatt. Oppløsningen ble oppvarmet ved 80°C i 15 minutter, filtrert og eddiksyren ble fjernet under redusert trykk. Krystallisering fra etanol/eter ga 5-fluoruridin, identisk med en autentisk prøve.

EKSEMPEL 6

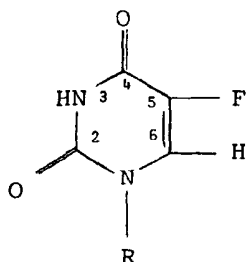
En oppløsning av uridin-triacetat (1 g) i acetonitril (25 ml) og CFCl_3 (15 ml) som ble holdt ved -78°C , ble behandlet med elementært fluor (3% i nitrogen) under kraftig omrøring. Etter fullførelse av omsetningen og fjernelse av overskudd av fluor som i eksempel 5, ble reaksjonsblandingen behandlet med trietylamin

135985

(2 ml) og metanol (10 ml) og ble derefter lagret natten over ved romtemperatur. Oppløsningsmidlene ble fjernet under redusert trykk. Råproduktet ble oppløst i vann og behandlet med en sterkt sur ionebytterharpiks (Dowex 50) i hydrogenform. Produktet ble filtrert, oppløsningsmidlet ble fjernet og residuet ble omkrystallisert fra etanol/eter for å gi 5-fluoruridin, identisk med produktet ifølge eksempel 5.

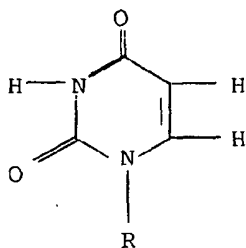
P A T E N T K R A V

1. Fremgangsmåte for fremstilling av 5-fluoruracilderivater med formelen



I

(hvor R er en alkylgruppe, et hydrogenatom eller en monosakkaridrest), karakterisert ved at en forbindelse med formelen



II

(hvor R har de ovenfor angitte betydninger) omsettes med et fluoralkyl-hypofluoritt hvor alkyl delen inneholder minst to fluoratomer pr. karbonatom, eller omsettes med elementært fluor fortynnet med en inert gass, for innføring av et fluoratom i 5-stillingen, fulgt, når et atom eller en gruppe er innført i 6-stillingen ved en av de foran nevnte omsetninger, av eliminering av nevnte gruppe sammen med hydrogenatomet i 5-stillingen for å danne den ønskede 5,6-dobbelbinding.

135985

2. Fremgangsmåte som angitt i krav 1,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det som hypofluoritt-
reaksjonskomponent anvendes trifluormetyl-hypofluoritt.
3. Fremgangsmåte som angitt i kravene 1 og 2,
k a r a k t e r i s e r t v e d at elimineringen av nevnte
6-substituent utføres ved oppvarming.
4. Fremgangsmåte som angitt i et av de foregående krav,
k a r a k t e r i s e r t v e d at fluoreringen utføres i nær-
vær av et polart oppløsningsmiddel.
5. Fremgangsmåte som angitt i et av de foregående krav,
k a r a k t e r i s e r t v e d at fluoreringen utføres i nær-
vær av et nukleofil, hvorved fluor adderes i 5-stillingen og nuk-
leofilett adderes i 6-stillingen.
6. Fremgangsmåte som angitt i krav 5,
k a r a k t e r i s e r t v e d at det som nukleofil anvendes
hydroksylion, alkoksylion, karboksylation eller halogenidion.