



(19) **DANMARK**



(12) **FREMLÆGGESKRIFT** (11) **148745 B**

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: **5317/81**

(51) Int.Cl.⁴: **C 07 H 19/067**

(22) Indleveringsdag: **30 nov 1981**

(24) Løbedag: **19 dec 1977**

(41) Alm. tilgængelig: **30 nov 1981**

(44) Fremlagt: **16 sep 1985**

(86) International ansøgning nr.: –

(62) Stamansøgning nr.: **5667/77**

(30) Prioritet: **20 dec 1976 US 752510**

(71) Ansøger: **F. *HOFFMANN-LA ROCHE & CO. AKTIENGESELLSCHAFT; Basel, CH.**

(72) Opfinder: **Alan Frederick *Cook; US.**

(74) Fuldmægtig: **Plougmann & Vingtoft Patentbureau**

(54) **Ribofuranosylderivater til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af 5'-deoxy-5-fluorocytidin eller 5'-deoxy-5-fluoruridin eller fysiologisk tolerable syreadditionssalte deraf**

DK 148745 B

Den foreliggende opfindelse angår hidtil ukendte ribofuranosylderiva-
ter til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af hidtil
ukendte, som antitumormiddel anvendelige pyrimidinnucleosider, nemlig
5'-deoxy-5-fluorcytidin eller 5'-deoxy-5-fluoruridin eller fysiologisk
5 tolerable syreadditionssalte deraf, med hvilke forbindelser der kan
fremstilles farmaceutiske præparater. Ribofuranosylderivaterne er
5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin og 5'-deoxy-2',3'-O-iso-
propyliden-5-fluoruridin.

5'-Deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin eller 5'-deoxy-2',3'-O-
10 isopropyliden-5-fluoruridin kan let fremstilles ud fra 5-fluorcytidin el-
ler 5-fluoruridin efter metoder, der er analoge med fremstillingen af
5'-deoxycytidin eller 5'-deoxyuridin ud fra cytidin eller uridin. Såle-
des kan 5-fluorcytidin eller 5-fluoruridin halogeneres på kendt måde i
5'-stillingen efter forudgående beskyttelse af de to hydroxygrupper i
15 2'- og 3'-stillingen ved dannelse af en isopropylidenketal. Den vundne
5'-halogenforbindelse reduceres derefter til den tilsvarende 5'-deoxy-
forbindelse, enten ved katalytisk hydrogenering eller med reduktions-
midler såsom complexe metalhydrider. Til fremstilling af 5'-deoxy-5-
fluorcytidin eller 5'-deoxy-5-fluoruridin fraspaltes beskyttelsesgrup-
20 pen derefter på i og for sig kendt måde ved hydrolyse. Endelig kan
5'-deoxy-5-fluorcytidin og 5'-deoxy-5-fluoruridin om ønsket ved
omsætning med en fysiologisk tolerabel syre på i og for sig kendt
måde omdannes til fysiologisk tolerable syreadditionssalte.

Udtrykket "fysiologisk tolerable salte" omfatter ikke-toxiske salte, som
25 5'-deoxy-5-fluorcytidin og -uridin danner med uorganiske mineralsyrer
og organiske syrer, fx hydrochlorider, hydrobromider, phosphater,
sulfater, nitrater, acetater, formiater, maleater, fumarater eller
benzoater.

Omdannelsen af 5-fluorcytidin eller 5-fluoruridin til en 2',3'-O-isopro-
30 pylidenketal kan foretages på i og for sig kendt måde. Således kan
fluornucleosidet omsættes med en organisk sulfonsyre, f.eks. p-tolu-
ensulfonsyre, og et ketaliseringsmiddel såsom 2,2-dimethoxypropan i
et egnet organisk opløsningsmiddel, fortrinsvis et ketonisk såsom ace-
tone, ved en temperatur mellem ca. 0 og 60°C, fortrinsvis ved stue-
35 temperatur.

Som halogener til indføring i 5'-stilling foretrækkes brom og iod. Indføringen af iod kan fx foretages ved omsætning med et ioderingsmiddel såsom methyltriphenoxyphosphoniumiodid (MTPI) i et polært aprot organisk opløsningsmiddel såsom dimethylformamid ved en temperatur mellem 0 og 100°C, fortrinsvis ved stuetemperatur. Indføringen af brom kan foretages ved omsætning med et bromeringsmiddel såsom triphenylphosphin/carbontetrabromid i et polært aprot opløsningsmiddel såsom dimethylformamid ved en temperatur mellem 10 og 100°C.

Omdannelsen af 5'-halogenforbindelserne til de tilsvarende 5'-deoxyforbindelser kan let foretages ved katalytisk hydrogenering i et prot polært opløsningsmiddel, fx en alkohol, fortrinsvis methanol, under anvendelse af en ædelmetalkatalysator såsom palladium, eventuelt på et inert bærestof såsom kul eller bariumsulfat, eller i nærværelse af nikkel. Hydrogeneringen kan udføres ved en temperatur mellem 0 og 60°C, fortrinsvis ved stuetemperatur, og under et tryk på mellem 1 og 5 atmosfærer, fortrinsvis under atmosfæretryk, i nærværelse af en organisk base, fortrinsvis en tri(lavere alkyl)amin såsom triethylamin.

Andre egnede reduktionsmidler til fremstilling af 5'-deoxyforbindelserne ud fra de tilsvarende 5'-halogenforbindelser er komplekse metalhydrider såsom tributyltinhydrid, natriumcyanoborhydrid eller lithiumtriethylborhydrid. Reduktionen med disse midler kan udføres ved en temperatur mellem 0 og 100°C under anvendelse af almindeligt kendte opløsningsmidler.

Fraspaltningen af ketalgruppen i 2',3'-stillingen i nucleosidet til fremstilling af de antitumorvirksomme forbindelser kan let foretages ved hydrolyse på i og for sig kendt måde, fx til fremstilling af de antitumorvirksomme forbindelser ved behandling med trifluoreddikesyre ved stuetemperatur.

5'-Deoxy-5-fluorcytidin og 5'-deoxy-5-fluoruridin samt de fysiologisk tolerable syreadditionssalte deraf virker mod Ehrlich-karcinomet og sarkom 180 i mus inden for et bredt dosisområde administreret oralt og parenteralt. Disse forbindelser er værdifulde antitumor midler og kan anvendes som lægemidler i form af farmaceutiske præparater med direkte eller forsinket frigørelse af aktivstoffet, i blanding med til

enteral (fx oral) eller parenteral applikation egnede, ikke-toxiske, inerte, faste eller flydende bærestoffer, fx vand, gelatine, gummi arabicum, lactose, stivelse, magnesiumstearat, talkum, vegetabiliske olier, polyalkylenglycoler eller vaseline. De farmaceutiske præparater kan foreligge i fast form, fx som tabletter, dragéer, suppositorier eller kapsler, eller i flydende form, fx som opløsninger, suspensioner eller emulsioner. De er eventuelt steriliserede og/eller indeholder yderligere hjælpestoffer såsom konserverings-, stabiliserings-, befugtnings- eller emulgeringsmidler, midler til smagsmæssig forbedring, salte til ændring af det osmotiske tryk eller pufferstoffer. Fremstillingen af de farmaceutiske præparater kan foretages på for fagmanden sædvanlig måde.

Antitumortests:

Til administration til dyr opløses forbindelserne i vand.

15 Sarkom 180-test:

Albinomus med en vægt på 18-20 g implanteres ved hjælp af trokar med små tumorstykker (20-30 mg) subcutant i højre lyskeområde. Tumormragmenterne tages fra donordyr, som 7-10 dage i forvejen har fået implanteret faste, subcutane tumorer. Behandlingen startes på dagen for implantationen og fortsættes én gang daglig i 8 dage. 8 dage efter implantationen dræbes dyrene, og tumorerne udskæres og vejes. Forholdet mellem gennemsnitsvægten af tumorerne fra ubehandlede kontroldyr (C) og gennemsnitsvægten af tumorer fra den behandlede gruppe (T) beregnes. Hæmningen i tumurvækst i % beregnes som

20 (C - T) · 100/C. En forbindelse anses som aktiv i en bestemt dosis, når hæmningen i procent er ≥ 50 .

Ehrlich-karcinom-test:

Den faste form af denne tumor fås ved subcutan implantation af 0,5 ml af en ved kogsaltopløsning til 1-10 fortyndet cellesuspension af en ascitisk tumor. Som donordyr tjener albinomus med en vægt på

30 18-20 g, i hvilke der 7-10 dage i forvejen er implanteret en tumor.

Behandlingen og bedømmelsen af resultaterne foretages på den ovenfor beskrevne måde.

Resultater, der er opnået med 5'-deoxy-5-fluorcytidin og 5'-deoxy-5-fluoruridin, som er fremstillet ud fra henholdsvis 5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin og 5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluoruridin, og to forbindelser fra teknikkens standpunkt, er sammenfattet i nedenstående tabel I og tabel II.

Tabel I

Virkning af pyrimidinnucleosider mod sarkom 180 i mus.

Dosis x 8 (mg/kg)	5'-Deoxy-5-fluorocytidin			5'-Deoxy-5-fluoruridin		
	Antal un- dersøgte dyr	Over- leven- de	Hæmning (%)	Antal un- dersøgte dyr	Over- leven- de	Hæmning (%)
400 i.p.	16	14	95	16	15	88
200	16	14	93	16	16	88
100	16	16	86	16	15	89
50	16	15	72	16	14	67
25	16	16	64	16	7	43
12,5	8	8	37	8		
400 p.o.	16	16	92	16	15	90
200	16	13	82	16	15	90
100	16	14	76	16	16	83
50	16	16	65	16	16	80
25	16	15	76	16	16	75
12,5	24	23	62	16	16	73
6,25	8	7	26	15	15	68
3,12				16	16	51
1,56				8	8	30

Tabel II

Virkning af pyrimidinnucleosider mod Ehrlich-karcinom i mus.

Forbindelse	Dosis x 8 (mg/kg)	Antal under- søgte dyr	Overle- vende	Hæmning (%)	
5'-deoxy-5-fluorcyti- din	400 i.p.	15	14	91	
	200	24	23	72	
	100	16	16	65	
	50	24	23	57	
	25	15	15	45	
	800 p.o.	8	8	99	
	400	16	16	95	
	200	24	24	80	
	100	24	24	71	
	50	16	16	58	
	25	16	16	37	
	5'-deoxy-5-fluor- uridin	400 i.p.	16	14	98
		200	24	22	86
		100	24	20	71
		50	24	23	59
25		24	22	43	
800 p.o.		8	8	99	
400		16	16	98	
200		16	16	90	
100		15	15	70	
50		8	8	56	
25		8	8	27	
kendt forbindelse 5'-deoxyuridin		200 i.p.	8	8	9
		100	8	8	41

Tabel II fortsat

Kendt forbindelse	400 i.p.	16	14	81
2',5'-dideoxy-5-fluoruridin	200	16	14	68
	100	16	16	37
5	200 p.o.	8	8	34

Som det fremgår af de i tabel II angivne værdier for hæmning, er 5'-deoxy-5-fluorcytidin og 5'-deoxy-5-fluoruridin de hidtil beskrevne forbindelser, 5'-deoxyuridin (*Chemical Abstracts* 76, 1972, 154079p) og 2',5'-dideoxy-5-fluoruridin (japansk offentliggørelsesskrift nr. 76/86481), overlegne.

Opfindelsen belyses nærmere ved nedenstående eksempler:

EKSEMPEL 1

En suspension af 92 g 5-fluorcytidin og 80 g p-toluensulfonsyre-monohydrat i 1500 ml acetone og 200 ml 2,2-dimethoxypropan omrøres ved stuetemperatur i 2 timer. Der tilsættes en overskydende mængde fast natriumhydrogencarbonat og omrøres til neutralisation af syren. Den faste remanens frafiltreres og vaskes med acetone, og filtratet og vaskeopløsningen inddampes til tørhed. Remanensen behandles med 700 ml varmt ethylacetat og begynder langsomt at krystallisere. Efter opbevaring natten over vaskes den faste remanens med ethylacetat og tørres i vakuum. Der fås 99,5 g (94% af det teoretiske) 2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin. En prøve omkrystalliseres af methanol/ethylacetat og smelter ved 182-184°C.

En opløsning af 32 g 2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin og 60 g methyltriphenoxyphosphoniumiodid i 300 ml tørt dimethylformamid holdes i 1 1/2 time ved stuetemperatur. Derefter tilsættes 100 ml methanol, og opløsningen inddampes til olieagtig konsistens efter 30 minutters forløb og fordeles mellem 700 ml ethylacetat og 700 ml 5%'s

vandigt natriumthiosulfat. Ethylacetatfasen vaskes en gang med 700 ml vandigt thiosulfat og to gange med 700 ml vand og inddampes til en olie, der opløses i 400 ml varmt ethylacetat. Til den varme opløsning sættes hexan, indtil krystallisationen starter. Efter opbevaring ved 5 0°C vaskes det krystallinske bundfald med hexan og tørres i vakuum. Efter oparbejdning af moderluden fås i alt 30,1 g (69% af det teoretiske) 5'-deoxy-5'-iod-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin, smeltepunkt 192-194°C.

En opløsning af 48 g 5'-deoxy-5'-iod-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin i 500 ml methanol og 20 ml triethylamin hydrogeneres ved stuetemperatur og ved atmosfæretryk i 30 minutter i nærværelse af 25 g 5%'s palladium/kul under stadig omrøring. Katalysatoren fjernes derefter ved filtrering over Celite®, og filtratet inddampes til tørhed og behandles med 200 ml ethylacetat. Produktet lades henstå natten over, 15 krystallerne frafiltreres, og filtratet inddampes til ca. 100 ml og lades henstå endnu en nat. De på ny dannede krystaller frafiltreres, og filtratet inddampes til tørhed under reduceret tryk. Der fås 31 g (93% af det teoretiske) 5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin i form af et skum. Dette materiale karakteriseres ved dannelse af et kry- 20 stallinsk picratsalt, smeltepunkt 168-170°C.

Omdannelse til antitumorvirksomt 5'-deoxy-5-fluorcytidin.

31 g 5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin behandles i 40 minutter med 200 ml 90%'s trifluoreddikesyre. Opløsningen inddampes til tørhed, og remanensen inddampes flere gange med ethanol til 25 fjernelse af vand og trifluoreddikesyre og opløses endelig i 400 ml ethylacetat. Der indstilles på alkalisk reaktion med triethylamin, hvorefter krystallisationen starter efter nogle minutters forløb. Efter opbevaring natten over vaskes krystallerne med ethylacetat og tørres i vakuum. Der fås 14 g (49% af det teoretiske) 5'-deoxy-5-fluorcytidin. 30 Yderligere materiale fås ved chromatografi af moderludopløsnin- gerne på 600 g silicagelsøjle og eluering med 4 liter ethylacetat samt 4 liter ethylacetat/methanol i forholdet 5:1 (v/v). De relevante fraktioner inddampes til tørhed og hældes over en søjle med "Dowex"® 50 (H⁺-form, 2,3 x 60 cm). Der vaskes først med vand og derefter med

1N ammoniakopløsning. De ammoniakalske fraktioner inddampes til tørhed, og remanensen omkrystalliseres af methanol. På denne måde fås yderligere 6,7 g 5'-deoxy-5-fluorcytidin. Totaludbytte: 20,7 g (78% af det teoretiske), smeltepunkt 209-211°C.

5 EKSEMPEL 2

En suspension af 50 g 5-fluoruridin og 39,3 g p-toluensulfonsyre-monohydrat i 750 ml acetone og 94 ml 2,2-dimethoxypropan omrøres ved stuetemperatur i 50 minutter. Til den klare opløsning sættes en overskydende mængde fast natriumhydrogencarbonat, og blandingen omrøres så længe, at den reagerer neutralt. Den faste remanens fjernes derefter ved filtrering og vaskes med acetone, og filtratet inddampes til tørhed. Den faste remanens omkrystalliseres af 2 liter ethylacetat, og der fås 48 g (83% af det teoretiske) 2',3'-O-isopropyliden-5-fluoruridin, smeltepunkt 196-197°C.

15 En opløsning af 46,4 g 2',3'-O-isopropyliden-5-fluoruridin i 250 ml tørt dimethylformamid behandles med 86,7 g MTPI og holdes i 50 minutter ved stuetemperatur. 30 minutter efter tilsætning af 200 ml ethanol inddampes opløsningen, og den olieagtige remanens fordeles mellem 1 liter ethylacetat og 1 liter 5%'s vandigt natriumthiosulfat.

20 Ethylacetatfasen vaskes to gange med 1 liter vand, tørres over natriumsulfat og inddampes til tørhed. Den olieagtige remanens krystalliseres af 350 ml ethylacetat. Der fås 52,9 g (85% af det teoretiske) 5'-deoxy-5'-iod-2',3'-O-isopropyliden-5-fluoruridin, smeltepunkt 202-203,5°C.

25 En opløsning af 24 g 5'-deoxy-5'-iod-2',3'-O-isopropyliden-5-fluoruridin i 800 ml methanol og 15 ml triethylamin hydrogeneres i 90 minutter ved stuetemperatur og under atmosfæretryk samt under stadig omrøring i nærværelse af 12 g 5%'s palladium/kul. Katalysatoren frafiltreres over Celite® og vaskes med methanol, medens filtratet inddampes til tørhed, og remanensen behandles i 1 time med 200 ml ethylacetat.

30 Det krystallinske bundfald frafiltreres, og filtratet inddampes til ca. det halve, lades henstå natten over og filtreres igen. Dette filtrat

inddampes til tørhed under reduceret tryk, og der fås 5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluoruridin [UV-spektrum (CH₃OH): λ_{\max} = 204 nm (ϵ = 10900) og 267 nm (ϵ = 8670). IR-Spektrum (KBr): 3380, 3200, 1710 og 1670 cm⁻¹].

5 Omdannelse til antitumorvirksomt 5'-deoxy-5-fluoruridin.

Den på den ovenfor beskrevne måde vundne forbindelse behandles i 1 time med 200 ml 90%'s vandig trifluoreddikesyre. Produktet inddampes til tørhed, inddampes flere gange med ethanol med henblik på fjernelse af vand og trifluoreddikesyre og krystalliseres af ethylacetat.

10 Der fås 11,35 g 5'-deoxy-5-fluoruridin, smeltepunkt 189-190°C.

PATENTKRAV

Ribofuranosylderivater til anvendelse som mellemprodukter ved fremstilling af 5'-deoxy-5-fluorcytidin eller 5'-deoxy-5-fluoruridin eller fysiologisk tolerable syreadditionssalte deraf,

15 k e n d e t e g n e t ved, at de er enten 5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluorcytidin eller 5'-deoxy-2',3'-O-isopropyliden-5-fluoruridin.

Fremdragne publikationer:
