

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

231968

(11) (B2)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 311/60



ORAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

(22) Přihlášeno 14 03 79

(21) (PV 430-80)

(32) (31) (33) Právo přednosti od 15 03 78
(10251-78) Velká Británie

(40) Zveřejněno 28 01 83

(45) Vydáno 15 12 86

(72)

Autor vynálezu

BATCHELOR JOHN FREDERICK, BECKENHAM, BAUER DENIS JOHN,
LEATHERHEAD, HODSON HAROLD FRANCIS, BECKENHAM,
SELWAY JOHN WILLIAM TALBOT, CRANBROOK,
YOUNG DAVID ALBERT BLAKER, WEST WICKHAM, (Velká Británie)

(73)

Majitel patentu

THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, LONDÝN (Velká Británie)

(54) Způsob výroby flavanových derivátů

1

Vynález se týká způsobu výroby protivi-
rových látek, vhodných jako účinná slož-
ka farmaceutických přípravků, účinných
proti rhinovirům.

Rhinoviry způsobují přibližně 70 % one-
mocnění, obvykle vnímaných jako nachla-
zení nebo zánět horních cest dýchacích,
přestože tyto choroby mohou být způsobe-
ny i jinými příčinami, například enteroviry,
coronaviry a alergickými reakcemi. Na vi-
ry jsou citliví všichni lidé a nákaza těmito
viry je nejčastější příčinou absence v za-
městnání a má proto velký hospodářský vý-
znam.

Infekce se přenáší při kašli nebo kýchá-
ní, kapénkovou infekcí tak, že kapénky jsou
vdechovány dalším člověkem a vyvolávají
nákazu dýchacích cest. Po inkubační době
48 hodin až 2 týdny se vyvinou u infikova-
né osoby příznaky jako bolest v krku, ka-
šel, kýchání, zánět sliznic a horečka, vzhle-
dem k sekundární bakteriální infekci.

Po nákaze určitým sérotypem rhinoviru
zůstává určitá odolnost, která však se ne-
týká odlišných sérotypů. Při kontinuální
reinfekci sérotypy, které v určité společ-
nosti převažují se tímto způsobem udržuje
odolnost proti virům u většiny členů této
společnosti. K další nákaze dojde pouze v
případě, že se objeví nový sérotyp, což se

2

stává průměrně dvakrát až třikrát za rok.

Protože neexistuje zkřížená imunita a
vzhledem k tomu, že je známo alespoň 120
od sebe odlišných imunologicky zjistitelných
rhinovirů, není možno provádět očkování.
Jako jeden ze způsobů snižování počtu one-
mocnění byl v některých případech v uzav-
řených prostorách desinfikován vzduch, to-
to opatření však bylo neúspěšné. Je zřejmé,
že jediná použitelná prevence by mohla spo-
čívat v objevení sloučeniny, kterou by bylo
možno podávat po delší dobu a která by by-
la účinná proti všem nebo alespoň téměř
všem běžným sérotypům rhinovirů. Přes roz-
sáhlý výzkum se prozatím takovou slouče-
ninu nepodařilo najít, takže zatím neexistu-
je žádná chemoterapeutická látka, kterou
by bylo možno zajisti ochranu proti nákaze.

Nyní bylo zjištěno, že flavan a různé de-
riváty této sloučeniny jsou účinné proti ně-
kterým virům, včetně těch, které způsobu-
jí infekci dýchacích cest, jako jsou picorna-
viry, mengoviry, arboviry, myxoviry, coro-
naviry, viry způsobující herpes a denoviry.
Tyto sloučeniny jsou zvláště účinné proti
rhinovirům, zvláště proti sérotypům 1B, 2
a 9. Kromě sloučenin, které spadají do té-
to třídy, byly dále připraveny a zkoumány
nové deriváty těchto látek. Bylo pozorová-
no, že tyto sloučeniny mohou inhibovat rhi-

noviry in vitro v tkáňové kultuře a některé z nich byly účinné i proti jiným virům, například proti virům, způsobujících opar, chřipku a spalničky.

Mimoto bylo možno prokázat, že některé sloučeniny jsou účinné proti rhinovirům in vivo, zejména v případě, že se podávají v dostatečné dávce lidem a jiným savcům. Flavan sám má dobrou účinnost proti rhinovirům, substituované deriváty mají účinnost podobnou nebo ještě lepší v závislosti na povaze a poloze jednotlivých substituentů.

Uvedené látky mají velmi nízkou toxicitu, LD₅₀ je vyšší než 500 mg/kg. Účinnost může být zjišťována běžnými testy na agarových plotnách s použitím kotoučů, při nichž se měří snížení počtu plaků po aplikaci účinné látky. Postupuje se tak, že se v Petriho misce vytvoří jednovrstevná buněčná kultura, která se infikuje suspenzí viru a pak se převrství živným agarem ve formě gelu. Tento gel zajistí, že se virus dále nešíří a vzniknou lokalizovaná poškození buněk nebo se tvoří plaky.

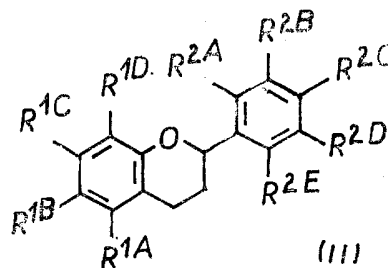
Při inhibici plaků se uloží na povrch gelu kotouč filtračního papíru, který při impregnaci roztokem účinné sloučeniny zadrží 0,01 ml použitého roztoku. Účinná látka pak může difundovat gelem tak, že nejvyšší koncentrace této látky bude v oblasti kotouče a nejnižší koncentrace u periferie použité misky. Účinnost použité sloučeniny je možno měřit poloměrem inhibice tvorby plaků od středu kotouče.

Při testu na snížení tvorby plaků se měří zjiitelná účinnost. Do gelu, kterým je kultura převrstvena, se včlení různé koncentrace účinných látek, obvykle jde o zlomky molární koncentrace. Potlačení tvorby plaků je obvykle přímo závislé na koncentraci použité sloučeniny. Počet plaků se obvykle uvádí v % ve srovnání s kontrolními zkouškami, takže je možno vytvořit křivku závislosti inhibice na koncentraci účinné látky. Z této křivky je možno stanovit účinnou dávku ED₅₀, při níž je počet plaků potlačen na 50 %.

V chemické literatuře je známa celá řada flavanů, o žádném z nich však dosud nebylo uváděno, že je možno jej užít k léčebným účelům s výjimkou 3,3',4,4',5,7-hexahydroxyflavanu, kterého je možno užít při žilních onemocněních, mimoto byl 3-hydroxyflavan úspěšně užít proti virovému zánětu jater [Lacant, 2, 1153 (1977)], dále byly 3,6-dialkyl- nebo 3,6-dialkoxyflavany (US patent č. 3 553 047) užívány po snížení hladiny cholesterolu v krvi, 1-epi-3',4',5',5,7-pentahydroxyflavan-3-ol, J. M. Gazave, Fruits, 32, 275 až 284 (1977), byl užít jako látka, zabráňující vzniku kurdějí a 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavan (francouzské patentové spisy č. 988 332 a 988 333) má vitamínům podobný účinek na krevní kapiláry.

Předmětem vynálezu je tedy způsob výro-

by flavanů nebo jejich derivátů obecného vzorce II



jakož i jejich z farmaceutického hlediska přijatelných solí,

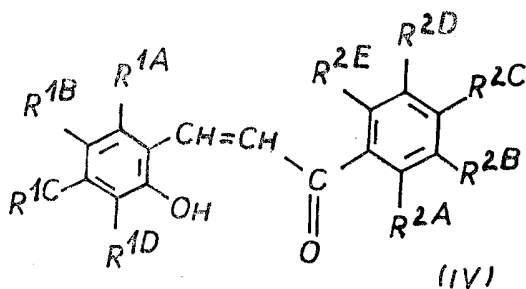
kde

R^{1A} až R^{1D} a R^{2A} až R^{2E} znamenají atomy vodíku, atomy halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, trifluormethylové skupiny, alkylové zbytky o 1 až 4 atomech uhlíku, alkoxylové zbytky o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupiny, mono- a dialkylaminoskupiny vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové skupině nebo hydroxyskupiny za předpokladu, že alespoň jedna ze skupin, avšak nejvýš 4 ze skupin R^{1A} až R^{1D} a R^{2A} až R^{2E} jsou odlišné od atomu vodíku s výjimkou následujících derivátů

6-aminoflavan,
4'-hydroxyflavan,
5-hydroxyflavan,
6-hydroxyflavan,
7-hydroxyflavan,
4'-methoxyflavan,
5-methoxyflavan,
6-methoxyflavan,
7-methoxyflavan,
8-methoxyflavan,
6-methylflavan,
8-methylflavan,
3',4'-dihydroxyflavan,
4',7'-dihydroxyflavan,
5,7-dihydroxyflavan,
3',4'-dimethoxyflavan,
4',6-dimethoxyflavan,
4',7-dimethoxyflavan,
4',8-dimethoxyflavan,
5,7-dimethoxyflavan,
7,8-dimethoxyflavan,
5,7-dimethylflavan,
6,8-dimethylflavan,
4'-hydroxy-6-methoxyflavan,
4'-hydroxy-7-methylflavan,
5-hydroxy-7-methoxyflavan,
4-methoxy-6-hydroxyflavan,
5'-isopropoxy-6-hydroxyflavan,
4-n-butoxy-6-hydroxyflavan,
4'-sek.butoxy-6-hydroxyflavan,
6-hydroxy-7-methoxyflavan,
4'-methoxy-7-hydroxyflavan,

5-methoxy-7-hydroxyflavan,
 5-methyl-7-hydroxyflavan,
 6-methyl-7-hydroxyflavan,
 7-hydroxy-8-methylflavan,
 6-ethyl-7-hydroxyflavan,
 6-n-butyl-7-hydroxyflavan,
 4'-methoxy-6-methylflavan,
 4'-methoxy-6-terc.butylflavan,
 4'-methoxy-7-methylflavan,
 5-methyl-8-isopropylflavan,
 6-terc.butyl-8-methylflavan,
 3',4',6-trihydroxyflavan,
 3',4',7-trihydroxyflavan,
 4',5,7-trihydroxyflavan,
 3',4',7-trimethoxyflavan,
 4',5,7-trimethoxyflavan,
 4',6,7-trimethoxyflavan,
 3',6-dimethoxy-4'-hydroxyflavan,
 4',5-dihydroxy-7-methoxyflavan,
 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavan,
 5-hydroxy-7-methoxy-8-methylflavan,
 5,8-dimethyl-7-hydroxyflavan,
 3',6-dimethoxy-4'-ethoxyflavan,
 6,8-dimethyl-4'-methoxyflavan,
 4',6-dimethoxy-8-methylflavan,
 3',4',5,7-tetrahydroxyflavan,
 3',4'-dihydroxy-5,7-dimethoxyflavan,
 3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavan,
 4',6-dihydroxy-5,7-dimethoxyflavan,
 3',4',5,7-tetramethoxyflavan,
 3',4',5',7-tetramethoxyflavan,
 5,6,7,8-tetrachlorflavan,
 4'-hydroxy-7-methoxyflavan,
 6-terc.butoxy-4'-methoxyflavan,
 6,4'-dihydroxyflavan,
 5-ethyl-7-hydroflavan,
 7-hydroxy-4'-methylflavan,
 4'-isobutoxy-6-methoxyflavan,
 7-hydroxy-5-methoxy-8-methylflavan,
 7,4'-dimethoxy-5-hydroxyflavan,
 3',4'-dimethoxy-6-methylflavan,
 5,7-dimethyl-6-hydroxyflavan,
 7-hydroxy-5-methoxy-6-methylflavan,
 4'-hydroxy-7-methoxy-8-methylflavan,
 7,8,4'-trihydroxyflavan,
 7,8,3'-trimethoxyflavan,
 5,7-dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavan,
 6,4'-dihydroxy-5,7-dimethylflavan,
 7,8,3',4'-tetramethoxyflavan,
 7,3',4',5'-tetramethoxyflavan,

vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce IV



kde

R^{1A} až R^{1D} a R^{2A} až R^{2E} mají svrchu uvedený význam, zpracuje působením hydridu kovu a pak kyseliny jako katalyzátoru cyklizace a popřípadě se převede získaná sloučenina obecného vzorce II na jinou sloučeninu obecného vzorce II a popřípadě se převede sloučenina obecného vzorce II s obsahem aminoskupiny nebo hydroxylové skupiny na sůl, přijatelnou z farmaceutického hlediska reakcí s příslušnou anorganickou nebo organickou kyselinou nebo zásadou ve vodném prostředí.

Sloučeniny obecného vzorce I mají s výhodou substituent R^1 v poloze 6 nebo 7 a/nebo substituent R^2 v polohách 2',3',4',5' nebo 6', zvláště výhodné polohy jsou polohy 6 a 4'. Bylo rovněž zjištěno, že může záviset na velikosti substituentu. Například v případě, že se substituenty nacházejí v polohách 4' a 6, je vyšší účinnost spojena se substituentem, jehož hodnota $[R]_D$ je nižší než 15, s výhodou nižší než 10.

Hodnota $[R]_D$ je opravený molekulární objem, tak jak je uvedeno v publikaci S. Glasstone, Text-book of Physical Chemistry, 2. vydání 1948, MacMillan, Londýn, str. 528. Je možno ji vypočítat z molární hmotnosti M , hustoty ρ a refrakčního indexu n podle rovnice:

$$[R]_D = \frac{M}{\rho} \times \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2}$$

Hodnoty pro celou řadu substituentů byly stanoveny Vogelem a uveřejněny v J. Chem. Soc. v průběhu roku 1948.

Výhodnými substituenty jsou atomy halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, trifluor-methylové skupiny, nižší alkyl, nižší alkoxyl, aminoskupiny nebo hydroxylové skupiny. Zvláště výhodnými skupinami jsou atomy chloru, nitroskupiny, kyanoskupiny a hydroxylové skupiny, nejvýhodnějším substituentem je atom chloru.

Volba počtu substituentů, jejich polohy a jejich typu se provádí tak, aby bylo možno zvýšit pravděpodobnost vyšší účinnosti. Je však třeba uvážit, že výsledné vlastnosti sloučeniny závisí také na jiných fyzikálních a biologických podmínkách.

Soli sloučenin obecného vzorce II je možno tvořit v případě, že sloučenina nese hydroxylovou skupinu nebo aminoskupinu. Farmaceuticky přijatelnými solemi jsou zejména soli s anorganickými kyselinami, například s kyselinou chlorovodíkovou nebo sírovou a s organickými kyselinami, například kyselinou mléčnou, maleinovou a octovou. Může jít také o soli se zásadami, například soli sodné nebo draselné.

Sloučeniny podle vynálezu mohou nést různé substituenty, přičemž se přihlíží k výhodným substituentům podle svrchu uvedených podmínek. Nejvýhodnějšími novými sloučeninami pokud jde o účinnost ve svrchu uvedených testech jsou 4'-fluorflavan, 3',4'-dichlor-6-methylflavan, 4'-methyl-7-me-

thylflavan, 6-chlor-4'-methoxyflavan, 6-methoxyflavan, 4'-methylflavan, 6-chlor-4'-methylflavan a 4',6-dichlorflavan.

Cyklizovat sloučeniny obecného vzorce IV lze působením kyseliny chlorovodíkové, čímž se získá flaviliová sůl, kterou je pak možno redukovat na flavan katalytickou hydrogenací, například způsobem, uvedeným v US patentu č. 3 555 047.

Chalkon je možno redukovat na dihydrochalkon katalytickou hydrogenací. Požadovaný flavan se pak získá tak, že se na dihydrochalkon působí chloridem zinečnatým v benzenu způsobem podle publikace Van Allan, Reynolds a Rogan, J. Org. Chem. [(1967) **32**, 1897].

Je také možno postupovat tak, že se na chalkon působí komplexním hydridem jako redukčním činidlem, je možno užít například borohydrid sodíku nebo kyanoborohydrid, čímž se získá odpovídající (2-hydroxy-fenyl)ethylfenylkarbinol. Ten se pak cyklizuje za použití kyseliny jako katalyzátoru, například kyseliny octové nebo kyseliny p-toluensulfonové, například způsobem podle publikace L. Jurd, Chem. and Ind., (1967) 2175.

Kombinovanou redukcí a cyklizací chalkonů obecného vzorce IV je možno provádět tak, že se na tyto sloučeniny působí směsí lithiualuminiumhydridu a chloridu hlinitého způsobem podle publikace M. M. Bokadia a dalších, J. Chem. Soc. (1962), 1658.

Redukce a cyklizace se s výhodou provádí tak, že se na sloučeninu obecného vzorce IV působí borohydridem sodíku v etheru, s výhodou tetrahydrofuranu s následnou cyklizací působením vhodné kyseliny, s výhodou kyseliny octové.

Chalkony a sloučeniny obecného vzorce IV byly připraveny Knoevenagelovou kondenzací příslušně substituovaného acetofenonu a derivátu benzaldehydu podle publikace Nielsen, Organic Reactions, (1968), **15**, 44. Způsob je katalyzován kyselinou nebo zásadou a provádí se ve vodném nebo organickém prostředí při použití organických nebo anorganických kyselin nebo zásad, například hydroxidů nebo alkoxidů alkalických kovů.

Svrchu uvedené výchozí látky a meziprodukty a deriváty acetofenonu a benzaldehydu, nutné k výrobě chalkonů vzorců IV jsou běžně dostupné nebo je možno je připravit známými způsoby [E. L. Martin, Organic Reactions, (1942) **1**, 161, E. Vedejs, Organic Reactions (1974), **22**, 412, B. L. Verma a další, Indian, J. Chem., (1962) **3** (12), 565, M. M. Bokadia a B. L. Verma, Chem. and Ind. (1964), 235, E. J. Keogh a další, Chem. and Ind. (1961) 2100, J. Chem. Soc. (1962), 1658, B. L. Verma a další, Indian, J. Chem. (1965) **3** (12) 565, J. W. Clark-Lewis a R. W. Jemison, Austral. J. Chem. (1968) **21**, 2247, J. W. Clarka a Lewise, M. Suzuki a další, Nippon Kagaku Zashi (1968) **89** (9), 878

až 882 a (1969) **90** (4), 397 až 400, R. Mozingo a H. Adkins, J. Am. Chem. Soc., (1938) **60**, 669, US patent č. 3 555 047, Van Allan, Reynolds a Regan, J. Org. Chem., (1967) **32**, 1897, L. Jurd, Chem. and Ind., (1967) 2175, M. M. Bokadia a další, J. Chem. Soc., (1962), 1658, R. R. Schmidt, Tet. Letters, (1969), **63**, 5279, K. Hultsch, J. prakt. Chem. (1941), **158**, 275, M. Wakselman a M. Vilkas, C. R. hebdom. Séances, Acad. Sci., (1964), **233**, 1523].

Sloučeniny, získané způsobem podle vynálezu je možno zpracovávat na farmaceutické přípravky, které obsahují jako účinnou složku sloučeninu obecného vzorce II, tautomer této sloučeniny nebo z farmaceutického hlediska přijatelnou sůl této sloučeniny. Farmaceutický přípravek obsahuje účinnou dávku sloučeniny obecného vzorce II a běžný farmaceutický nosič.

Pokud jde o pojem účinné dávky, míní se pod tímto názvem předem určené množství sloučeniny s protivirovým účinkem tak, aby přípravek byl účinný proti virům in vivo. Farmaceuticky přijatelné nosiče jsou známé látky, kterých se běžně užívá při výrobě farmaceutických přípravků a které mohou být pevné, kapalné nebo plynné. Jinak jsou tyto nosiče inertní, vzhledem k účinné látce a neškodné pro lidský organismus.

Farmaceutické přípravky s obsahem sloučenin, vyrobených způsobem podle vynálezu, je možno podávat parenterálně, perorálně, do nosu nebo ve formě čípků, ve formě inhalace, jako mazání, krém, prášek, aerosol, páry nebo nosní kapky a podobně.

Při celkové infekci nebo při ochraně proti této infekci se pohybuje dávka volného flavanu ve farmaceutických přípravcích v rozmezí 0,125 mikrogramů až 1,25 mg na 1 kilogram, s výhodou 0,25 mikrogramů až 0,125 mg na kg, zvláště 8 až 30 mikrogramů na kg hmotnosti, přípravek se užívá v několika denních dávkách v celkovém množství 10 mikrogramů až 100 mg, obvykle 0,1 až 10 mg na jednotlivou dávku.

V případě perorálního podání mohou prášky nebo granule obsahovat nosič, disperzní a/nebo povrchově aktivní prostředek a je možno je podávat ve vodě nebo v sirupu, dále je možno tímto materiálem plnit kapsle nebo vytvářet suspenze nevodné povahy, přičemž je možno užít suspenzní prostředek. Při výrobě tablet je možno užít plnivo a kluzné látky, ve všech případech je možno užít konzervační prostředek, chuťové a vonné látky, zahušťovadlo nebo emulgační prostředek. Výhodným typem přípravku je tableta, kapsle, nebo granule, všechny tyto formy mohou být pvlékané. Je možno užít také roztoku účinné látky v oleji.

Přípravky je možno podávat také do nosu s použitím inhalačních přístrojů, aerosolů nebo ve formě spraye nebo inhalací páry s obsahem sloučenin vzorce II.

Při parenterálním podání nebo v případě aerosolu nebo kapek je možno vytvořit vodný roztok o koncentraci 0,1 až 10 %, s vý-

hodou 0,1 až 1 %, zvláště 0,2 % (hmotnostní/objemová %). Roztok může obsahovat antioxidační látky, pufrů a podobně.

Vynález bude osvětlen následujícími příklady.

Příklad 1

Způsob výroby 5-brom-2-hydroxy-4'-methoxychalkonu

20,1 g 5-bromsalicylaldehydu a 15,0 g p-methoxyacetofenonu se rozpustí v 80 ml ethanolu a přidá se za stálého chlazení roztok 26,5 g hydroxidu draselného ve 40 ml

vody. Reakční směs se nechá stát přes noc a pak se okyslí přebytkem kyseliny chlorovodíkové. Vysrážený 5-brom-2-hydroxy-4'-methoxychalkon se oddělí filtrací, promyje se vodou a nechá se překrystalovat z ethanolu. Tímto způsobem se získá 27,5 g výsledného produktu o teplotě tání 177 až 179 stupňů Celsia.

Příklad 2 až 4

Sloučeniny z příkladů 2 až 4 byly připraveny způsobem podle příkladu 1 při použití příslušně substituovaných výchozích materiálů.

Příklad	Sloučenina	Teplota tání °C
2	2-hydroxychalkon	153 až 154
3	2-hydroxy-4'-methoxychalkon	144 až 146
4	2,4'-dimethyl-2-hydroxychalkon	122 až 123

Příklad 5

Příprava flavanu

28,5 g 2-hydroxychalkonu se míchá v 500 mililitrech ethanolu a po malých podílech se přidá 9,45 g borohydridu sodíku. Roztok, jehož barva se změní z červené na světle žlutou se nechá stát přes noc při teplotě místnosti. Pak se rozpouštědlo odpaří a odparek se extrahuje dichlormethanem, který se promyje vodou. Odpařením rozpouštědla se získá 24,4 g 3-(o-hydroxyfenyl)-1-fenyl-1-propanolu. 1,0 g tohoto karbinolu se rozpustí v koncentrované kyselině sírové a získaný roztok se nechá stát při teplotě místnosti 2 hodiny. Pak se roztok vlije do směsi vody a ledové drti, čímž vznikne lepkavý oranžově zbarvený produkt, který se oddělí filtrací, promyje se vodou, usuší a chromatografuje na kysličníku hlinitém, jako elučního činidla se užije toluenu. Odpařením získaného eluátu se získá 0,2 g flavanu, který se nechá překrystalovat z petroletheru o teplotě varu 40 až 60 °C, čímž se získá výsledný flavan o teplotě tání 42 až 43 °C.

Příklad 6

Způsob výroby 4'-methoxyflavanu

12,7 g 2-hydroxy-4'-methoxychalkonu se míchá ve 200 ml ethanolu a po částech se přidá 3,8 g borohydridu sodíku. Roztok se míchá při teplotě místnosti, rozpouštědlo se odpaří a odparek se promyje vodou a pak se nechá překrystalovat ze směsi vody a ethanolu, čímž se získá 8,60 g 3-(o-hydroxyfenyl)-1-(p-methoxyfenyl)-1-propanolu o teplotě tání 114 až 116 °C. Tento produkt se vaří pod zpětným chladičem 2 hodiny ve 100 ml kyseliny octové, vzniklý roztok se odpaří a odparek se chromatografuje na kysličníku hlinitém. Jako elučního činidla se u-

žije toluenu. Tímto způsobem se jako výsledný produkt získá 8,0 g 4'-methoxyflavanu o teplotě tání 82 až 83 °C.

Příklad 7

Způsob výroby 6-brom-4'-methoxyflavanu

16,7 g 5-brom-2-hydroxy-4'-methoxychalkonu se uvede v suspenzi ve 200 ml ethanolu a pak se po malých podílech přidá celkem 3,78 g borohydridu sodného. Výsledný roztok se míchá po dobu 30 minut, načež se nechá stát přes noc. Rozpouštědlo se odstraní odpařením a získaný odparek se rozpustí v chloroformu, chloroformový roztok se promyje vodou, načež se rozpouštědlo odpaří. Tímto způsobem se získá jako meziprodukt surový karbinol, který se vaří pod zpětným chladičem s kyselinou octovou 2 hodiny. Zchlazením tohoto roztoku dojde k vykrystalizování 6-brom-4'-methoxyflavanu, který se oddělí filtrací a usuší. Získá se 10,2 g produktu o teplotě tání 121 až 123 °C.

Příklad 8

Způsob výroby 2',4'-dimethylflavanu

8,20 g 2-hydroxy-2',4'-dimethylchalkonu se uvede v suspenzi ve 150 ml ethanolu, načež se po malých podílech přidá celkem 2,5 g borohydridu sodíku.

Směs se 30 minut míchá a výsledný roztok se nechá stát přes noc. Rozpouštědlo se oddestiluje, odparek se rozpustí v chloroformu a roztok se promyje vodou. Odpařením chloroformu se získá jako meziprodukt surový karbinol, který se vaří pod zpětným chladičem 2 hodiny se 100 ml kyseliny octové. Odpařením roztoku se získá olejovitý zbytek, který se chromatografuje na kysličníku hlinitém, elučním činidlem je toluen.

Hlavní frakce se po odpaření rozpouštědla destiluje ve vakuu, čímž se získá 4,8 g 2',4'-dimethylflavanu o teplotě varu 135 až 145 °Celsia při tlaku 107 Pa.

Příklady 9 až 54

Způsobem podle příkladů 5 až 8 lze získat i následující sloučeniny:

Příklad	Sloučenina	Teplota tání °C
9	4'-methylflavan	94
10	7-chlorflavan	37 až 40
11	6-chlor-4'-methylflavan	132 až 134
12	4',6-dichlorflavan	97 až 99
13	6-chlor-4'-methoxyflavan	83 až 84
14	4',6-dimethylflavan	90 až 91
15	4'-methoxy-6-methylflavan	57
16	4',7-dichlorflavan	62 až 65
17	7-chlor-4'-methylflavan	77 až 78
18	4'-chlor-6-methylflavan	89
19	3',4'-dichlorflavan	76
20	7-chlor-4'-methoxyflavan	84
21	2',4'-dichlorflavan	teplota varu 138 až 142 při tlaku 6,7 Pa
22	2',6'-dichlorflavan	87 až 89
23	4'-bromflavan	78 až 79
24	2'-methylflavan	73 až 75
25	3',4'-dichlor-6-methylflavan	teplota varu 170 až 180 při tlaku 20 Pa
26	4'-chlorflavan	76 až 77
27	4'-methoxyflavan	80 až 81
28	2'-chlorflavan	teplota varu 130 až 135 při tlaku 13,3 Pa
29	3'-chlorflavan	teplota varu 120 až 125 při tlaku 9,3 Pa
30	3'-methoxyflavan	53 až 55
31	4'-fluorflavan	66 až 67
32	4'-brom-6-chlorflavan	105 až 107
33	6-fluorflavan	66 až 68
34	6-bromflavan	58 až 59
35	6-brom-4'-methylflavan	129 až 130
36	6-brom-4'-chlorflavan	78 až 81
37	2'-methoxyflavan	80 až 81
38	3'-trifluormethylflavan	64 až 65
39	6-methoxyflavan	85 až 86
40	4',8-dichlorflavan	teplota varu 137 až 142 při tlaku 8 Pa
41	4'-hydroxyflavan	97 až 98
42	2'-hydroxyflavan	teplota varu 130 až 135 při tlaku 60 Pa
43	6-chlorflavan	71 až 72
44	6-methylflavan	teplota varu 138 až 148 při tlaku 67 Pa
45	3'-methylflavan	teplota varu 114 až 120 při tlaku 13 Pa
46	4'-(N,N-dimethylamino)flavan	77 až 78
47	4'-aminoflavan	85 až 87
48	4'-isopropylflavan	46 až 47
49	6-chlor-4'-isopropylflavan	117 až 119
50	6-ethylflavan	teplota varu 130 až 140 při tlaku 20 Pa
51	4',5,7-trihydroxyflavan	212 až 215
52	8-chlorflavan	teplota varu 155 až 160 při tlaku 10,7 Pa
53	6,8-dichlorflavan	74 až 76
54	4'-chlor-6-ethylflavan	61 až 63

Příklad 55

Pokusy in vivo

4',6-dichlorflavan byl rozpuštěn v olivovém oleji v koncentraci 3 mg/ml a 1 mg/ml. Vždy 0,1 ml těchto roztoků byl podán myši perorální cestou.

Jeden a půl hodiny po této dávce, 1 hodinu a pak každou hodinu až do 7. hodiny byla myšim odebrána z retroorbitální žilní pleteně krev. Pak byla krev odebrána ještě 24 hodiny po podání účinné látky. Krevní plasma byla zkoumána na protivirovou účinnost způsobem, který byl svrchu uveden. V průběhu 24 hodiny byl také shromažďován trus každé myši, tento trus byl rozetřen s co nejmenším množstvím absolutního alkoholu a vzniklá kapalina byla stejným způsobem zkoumána na protivirovou účinnost. Pak byly odstraněny žlučníky u všech myší a každý z nich byl extrahován 10 ml absolutního alkoholu. Získaný extrakt byl rovněž zkoumán na protivirovou účinnost svrchu uvedeným způsobem.

Po 2 hodinách po podání bylo možno pozorovat protivirový účinek v krevní plasmě, obsahu žlučníku i v trusu. Po kalibraci pomocí standardní křivky bylo možno prokázat, že koncentrace účinné látky v plasmě 1 hodinu po podání je 2 až 4 mikromoly u myší, kterým byla podána nižší dávka a 10 mikromolů u myší, kterým byla podána vyšší dávka (dávky jsou přibližně 30 mg/kg a 100 mg/kg tělesné hmotnosti myši).

Příklad 56

Intranazální aplikace — stimulace in vitro

Byly připraveny Petriho misky stejným způsobem jako v případě inhibičního testu a na povrchu gelu byla připravena jednobuněčná vrstva. 4',6-Dichlorflavan byl rozpuštěn v ethanolu a byl nanesen na Petriho misku v množství 1 μ g. Po odstranění ethanolu odpařením proniká dostatečné množství účinné látky do vrstvy gelu, takže je možno prokázat úplnou inhibici tvorby plaků.

Příklady 57 a 58

V následujících příkladech byly připraveny různé farmaceutické přípravky běžným způsobem a tyto přípravky byly určeny k podání savcům.

Příklad 57

Směs pro použití v inhalačním přístroji byla připravena z následujících složek:

Sloučenina	množství
4',6-dichlorflavan	0,6 g
isopropylmyristát	10 g
Polyoxyethylen(2)sorbitan monooleát	0,5 g
Sorbitan monooleát	0,5 g
kyselina methyl-p-hydroxybenzoová	0,1 g
voda do	100 ml

Příklad 58

Suspenze pro použití ve formě nosních kapek byla připravena z následujících složek:

Sloučenina	množství
4',6-dichlorflavan	0,6 g
Xanthanová pryž	0,1 g
chlorid sodný	0,5 g
laurylsíran sodný	0,1 g
kyselina methyl-p-hydroxybenzoová	0,1 g
voda do	100 ml

Xanthanová pryž je polysacharidová pryž, jejímiž hlavními hexózovými jednotkami jsou D-glukóza, D-mannóza a kyselina D-glukuronová. Pryž rovněž obsahuje pyrohroznar a je částečně acetylována.

Příklad 59

Kapsle 1

Sloučenina	množství
4',6-dichlorflavan	6 g
laktóza sušená rozprašováním	300 g

Do želatinových kapslí velikosti 0 se plní 500 mg směsi, kapsle obsahuje 10 mg účinné látky.

Příklad 60

Sloučenina	množství
4',6-dichlorflavan	6 g
laktóza sušená rozprašováním	208 g
kukuřičný škrob	20,8 g
polyvinylpyrrolidon	5,2 g

Želatinové kapsle velikosti 1 se plní 400 miligramů svrchu uvedené směsi. Kapsle obsahuje 10 mg účinné látky.

Příklad 61

Tablety s obsahem 4',6-dichlorflavanu

Směs k výrobě tablet s obsahem 10 mg

4',6-dichlorflavanu, 90 mg laktózy, 10 mg kukuřičného škrobu a 1 mg stearanu hořečnatého se připraví granulací za vlhka.

Příklady 62 až 112

Směs pro výrobu tablet, z nichž každá obsahuje některý z flavanových derivátů z příkladů 5 až 55 se připraví způsobem podle příkladu 60.

Příklad 113

Olejový roztok 4',6-dichlorflavanu je možno připravit z následujících složek:

Sloučenina	množství
4',6-dichlorflavan	1 g
olivový olej B. P.	1 g

Účinná látka se rozpustí v olivovém oleji pro perorální podání.

Příklad 114

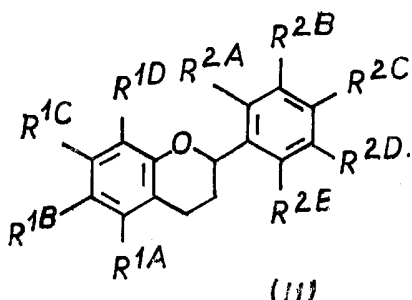
Různé flavanové deriváty byly zkoumány testem na inhibici plaků, tak jak byl svrchu popsán. ED₅₀ pro tyto sloučeniny proti rhinoviru sérotypu 1B jsou uvedeny v následující tabulce:

Flavanový derivát	ED ₅₀ (μM)
4',6-dichlor-	0,0014
4'-methyl-6-chlor-	0,0023

Flavanový derivát	ED ₅₀ (μM)
4'-methyl-	0,0125
6-methoxyl-	0,0125
4'-methoxy-6-chlor-	0,013
2'-methyl-	0,015
4'-chlor-7-methyl-	0,0155
3',4'-dichlor-6-methyl-	0,017
4'-fluor-	0,0175
4'-brom-6-chlor-	0,021
4'-brom-	0,036
4'-chlor-	0,04
3',4'-dichlor-	0,04
4',6-dimethyl-flavan	0,042
2',6'-dichlor-	0,046
4',7-dichlor-	0,048
4'-amino-	0,05
6-chlor-	0,05
4'-hydroxy-	0,06
2',4'-dichlor-	0,064
4'-acetoxy-	0,067
4'-methoxy-	0,07
7-chlor-	0,07
4'-methyl-7-chlor-	0,083
4'-methoxy-6-methyl-	0,1
2'-chlor-	0,112
3'-methoxy-	0,125
6-methyl-	0,15
4'-N,N-dimethylamino-	0,265
3'-chlor-	0,27
3'-methyl-	0,29
2'-methoxy-	0,37
2'-hydroxy-	0,78
3'-trifluormethyl-	1,4

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob výroby flavanových derivátů obecného vzorce II



jakož i jejich z farmaceutického hlediska přijatelných solí,

kde

R^{1A} až R^{1D} a R^{2A} až R^{2E} znamenají atomy vodíku, atomy halogenu, nitroskupiny, kyanoskupiny, trifluormethylové skupiny, alkylové zbytky o 1 až 4 atomech uhlíku, alkylové zbytky o 1 až 4 atomech uhlíku, aminoskupiny, mono- a dialkylaminoskupiny vždy o 1 až 4 atomech uhlíku v alkylové

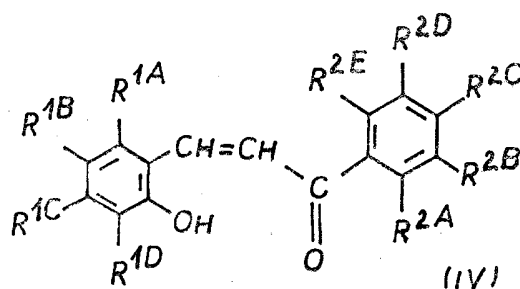
skupině nebo hydroxyskupiny za předpokladu, že alespoň jedna ze skupin, avšak nejvýše 4 ze skupin R^{1A} až R^{1D} a R^{2A} až R^{2E} jsou odlišné od atomu vodíku s výjimkou následujících derivátů

6-aminoflavan,
4'-hydroxyflavan,
5-hydroxyflavan,
6-hydroxyflavan,
7-hydroxyflavan,
4'-methoxyflavan,
5-methoxyflavan,
6-methoxyflavan,
7-methoxyflavan,
8-methoxyflavan,
6-methylflavan,
8-methylflavan,
3',4'-dihydroxyflavan,
4',7'-dihydroxyflavan,
5,7'-dihydroxyflavan,
3',4'-dimethoxyflavan,
4',6'-dimethoxyflavan,
4',7'-dimethoxyflavan,
4',8'-dimethoxyflavan,
5,7'-dimethoxyflavan,
7,8'-dimethoxyflavan,

5,7-dimethylflavan,
 6,8-dimethylflavan,
 4'-hydroxy-6-methoxyflavan,
 4'-hydroxy-7-methylflavan,
 5-hydroxy-7-methoxyflavan,
 4'-methoxy-6-hydroxyflavan,
 4'-isopropoxy-6-hydroxyflavan,
 4'-n-butoxy-6-hydroxyflavan,
 4'-sek.butoxy-6-hydroxyflavan,
 6-hydroxy-7-methoxyflavan,
 4'-methoxy-7-hydroxyflavan,
 5-methoxy-7-hydroxyflavan,
 5-methyl-7-hydroxyflavan,
 6-methyl-7-hydroxyflavan,
 7-hydroxy-8-methylflavan,
 6-ethyl-7-hydroxyflavan,
 6-n-butyl-7-hydroxyflavan,
 4'-methoxy-6-methylflavan,
 4'-methoxy-6-terc.butylflavan,
 4'-methoxy-7-methylflavan,
 5-methyl-8-isopropylflavan,
 6-terc.butyl-8-methylflavan,
 3',4',6-trihydroxyflavan,
 3',4',7-trihydroxyflavan,
 4',5,7-trihydroxyflavan,
 3',4',7-trimethoxyflavan,
 4',5,7-trimethoxyflavan,
 4',6,7-trimethoxyflavan,
 3',6-dimethoxy-4'-hydroxyflavan,
 4',5-dihydroxy-7-methoxyflavan,
 5,7-dihydroxy-4'-methoxyflavan,
 5-hydroxy-7-methoxy-8-methylflavan,
 5,8-dimethyl-7-hydroxyflavan,
 3',6-dimethoxy-4'-ethoxyflavan,
 6,8-dimethyl-4'-methoxyflavan,
 4',6-dimethoxy-8-methylflavan,
 3',4',5,7-tetrahydroxyflavan,
 3',4'-dihydroxy-5,7-dimethoxyflavan,
 3',5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavan,
 4',6-dihydroxy-5,7-dimethoxyflavan,
 3',4',5,7-tetramethoxyflavan,
 3',4',5',7-tetramethoxyflavan,
 5,6,7,8-tetrachlorflavan,
 4'-hydroxy-7-methoxyflavan,
 6-terc.butoxy-4'-methoxyflavan,
 6,4'-dihydroxyflavan,
 5-ethyl-7-hydroflavan,
 7-hydroxy-4'-methylflavan,
 4'-isobutoxy-6-methoxyflavan,
 7-hydroxy-5-methoxy-8-methylflavan,
 7,4'-dimethoxy-5-hydroxyflavan,
 3',4'-dimethoxy-6-methylflavan,

5,7-dimethyl-6-hydroxyflavan,
 7-hydroxy-5-methoxy-6-methylflavan,
 4'-hydroxy-7-methoxy-8-methylflavan,
 7,8,4'-trihydroxyflavan,
 7,8,3'-trimethoxyflavan,
 5,7-dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavan,
 6,4'-dihydroxy-5,7-dimethylflavan,
 7,8,3',4'-tetramethoxyflavan,
 7,3',4',5'-tetramethoxyflavan,

vyznačující se tím, že se sloučenina obecného vzorce IV



kde

R^{1A} až R^{1D} a R^{2A} až R^{2E} mají svrchu uvedený význam, zpracuje působením hydridu kovu a pak kyseliny jako katalyzátoru cyklizace a popřípadě se převede získaná sloučenina obecného vzorce II na jinou sloučeninu obecného vzorce II a popřípadě se převede sloučenina obecného vzorce II s obsahem aminoskupiny nebo hydroxylové skupiny na sůl, přijatelnou z farmaceutického hlediska, reakcí s příslušnou anorganickou nebo organickou kyselinou nebo zásadou ve vodném prostředí.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se redukce sloučeniny obecného vzorce IV provádí působením smíšeného hydridu kovu v etherovém rozpouštědle a následná cyklizace se provádí za použití kyseliny jako katalyzátoru.

3. Způsob podle bodu 2, vyznačující se tím, že se jako hydridu užije borohydridu sodíku, jako etherového rozpouštědla tetrahydrofuranu a jako kyseliny kyseliny octové.