



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

199665
(11) (B2)

(22) Přihlášeno 01 03 77
(21) (PV 1359-77)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 473/02
(C 07 D 473/02,
473/16, 473/18)

(40) Zveřejněno 31 10 79

(45) Vydáno 15 07 83

(72)
Autor vynálezu

SCHAEFFER HOWARD JOHN, RICHMOND (Sp. st. a.)

(73)
Majitel patentu

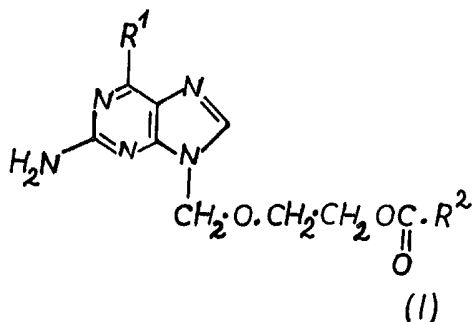
THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, LONDÝN (Velká Británie)

(54) Způsob přípravy 9-substituovaných purinů

1

Předložený vynález se týká 9-substituovaných purinů a jejich farmaceuticky vhodných solí a způsobů jejich přípravy. Zejména se předložený vynález týká esterů 9-(2-hydroxyethoxymethyl)derivátů guaninu a 2,6-diaminopurinu a farmaceuticky vhodných solí těchto sloučenin.

Nyní bylo nalezeno, že substituované puriny obecného vzorce I



kde

R¹ je hydroxyl nebo aminoskupina,

R² je atom vodíku, nerozvětvený nebo rozvětvený alkyl s 2 až 16 atomy uhlíku, mají antivirový účinek proti různým druhům DNA

2

a RNA virů in vitro a proti DNA virům in vivo. Zejména jsou tyto sloučeniny účinné proti herpes, vakcinia a rhino virům, přičemž viry herpes zahrnují simplex, zoster a varicella u savců, které způsobují onemocnění jako je například herpetická keratitida u králíků a herpetická encefalitida u myši.

Podle předloženého vynálezu se připravují sloučeniny obecného vzorce I, kde R¹ a R² mají význam uvedený výše nebo jejich soli, zejména ve formě farmaceuticky vhodných solí.

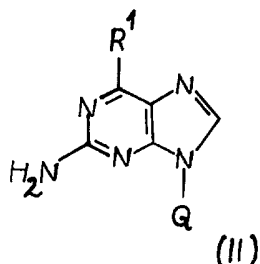
Sloučeniny vzorce I, kde R¹ je hydroxyl nebo jejich sůl jsou výhodné a stejně tak sloučeniny, kde R² je atom vodíku nebo alkyl s rozvětveným nebo nerozvětveným řetězcem s 2 až 8 atomy uhlíku a nejvýhodnější jsou sloučeniny, které mají 2 až 4 atomy uhlíku.

Nejvýhodnější sloučeniny jsou 9-(2-formyloxyethoxymethyl)guanin, 9-(2-propionyloxyethoxymethyl)guanin, 9-[2-(2,2-dimethylpropionyloxy)ethoxymethyl]guanin a 2-amino-9-(2-formyloxyethoxymethyl)adenin, zejména pro jejich význačný antivirový účinek proti Herpes.

Soli, které jsou zejména vhodné pro terapeutické použití jsou soli farmaceuticky vhodných organických kyselin, jako je ky-

selina mléčná, octová, malonová nebo p-toluensulfonová, jakož i soli farmaceuticky vhodných minerálních kyselin, jako je kyselina chlorovodíková nebo kyselina sírová. Jestliže R^1 je hydroxyl, mohou se použít farmaceuticky vhodné soli s alkalickými kovy, nejlépe sodné soli. Ostatní soli se mohou také připravit a pak se mohou převést na soli přímo použitelné pro účely léčení.

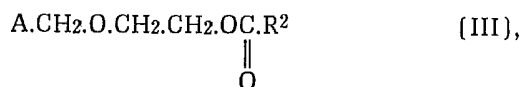
Předložený vynález se týká způsobu přípravy 9-substituovaného purinu vzorce I, jak byl definován výše, který se vyznačuje tím, že se sloučenina obecného vzorce II



kde

R^1 má význam uvedený výše a

Q je atom vodíku nebo alkalického kovu, nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



kde

A je odstupující atom nebo skupina a

R^2 má význam uvedený výše, a jestliže produktem je báze, převede se případně tento produkt na sůl s kyselinou nebo sůl s alkalickým kovem nebo jestliže produkt je sůl sloučeniny vzorce I, převede se tato sůl případně na bázi nebo na jinou její sůl.

Při této metodě je odstupující skupina A s výhodou reaktivní zbytek organické nebo anorganické kyseliny a může být tedy atom halogenu nebo sulfonátová skupina a Q je atom vodíku nebo alkalického kovu, s výhodou sodík. Výhodná metoda zahrnuje kondenzaci purinu obsahujícího požadovanou 2- a 6-substituci s acylem chráněným 2-halogenmethoxyethanolem nebo acylem chráněným acyloxymethoxyethanolem, například 2-propionyloxyethoxymethylchloridem nebo butyryloxymethylacetátem v silně polárním rozpouštědle jako je dimethylformamid (DMF) a v přítomnosti báze, například hydridu sodného. Reakce se s výhodou provádí při teplotě místnosti po delší dobu, například několik hodin nebo i dní, požadovanou pro získání dostatečného výtěžku.

Metoda se vztahuje na meziprodukty, které se mohou připravit z jednoduše substituívaných purinů. Tyto puriny jsou samo-

zřejmě snadno dostupné běžně známými postupy uvedenými v literatuře a učebnicích jako je „Heterocyclic compounds — Fused Pyrimidines Part II Purines D. J. Brown [1971] vydavatel Wiley—Interscience”.

Účinek sloučenin podle předloženého vynálezu je prokázán následujícím testem:

Inhibiční test na deskách

Inhibiční test na deskách byl proveden na VERO buňkách, při kterém splývavá monovrstva se infikuje dostatečným množstvím viru tak, že vznikne stejnoměrný povlak na desce. Po přidání pevné vrstvy pro překrytí se do středu desky na pevnou krycí vrstvu umístí kotouček z filtračního papíru impregnovaný roztokem testované sloučeniny (50 μ g/kotouček). Kultury se inkubují 96 až 120 hodin při 37 °C v atmosféře 5 % kyslíčnicku uhličitého. Po této době se buňky fixují 10% formalinem a pak se barví 0,05 proc. methylčervení. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 1.

Tabulka 1

Sloučenina	Účinek na herpes
9-(2-formyloxyethoxymethyl)guanin	++
2-amino-9-(2-hydroxyethoxymethyl)-adenin	+
9-(2-hexanoyloxymethyl)guanin	+
9-(2-propionyloxyethoxymethyl)-guanin	++
9-[2-(2,2-dimethylpropinoyloxy)ethoxymethyl]-guanin	+
9-(2-palmitoyloxyethoxymethyl)guanin	+
9-(2-butyryloxyethoxymethyl)guanin	+
++	zóna větší než 25 mm v průměru
+	zóna 5—25 mm
±	zóna 0—5 mm
—	negativní

Podle dalšího rysu se předložený vynález týká farmaceutické směsi obsahující sloučeninu vzorec I jak je definována výše nebo farmaceuticky vhodnou sůl spolu s farmaceuticky vhodným nosičem. Podle určitého rysu farmaceutická směs zahrnuje sloučeninu vzorce I v účinné jednotkové dávkové formě.

Jak bylo použito výše, výraz „účinná jednotková dávka“ označuje předem stanovené antivirové množství dostatečné pro účinek proti virům in vivo. Farmaceuticky vhodné nosiče jsou látky použitelné pro aplikace jako léčiva a mohou být pevné, kapalné nebo plynné, a které jsou jinak inertní a farmaceuticky vhodné a snášenlivé s aktivními složkami.

Farmaceutické směsi se mohou podávat parenterálně, orálně, používat jako čípky nebo pesary, mohou se aplikovat topicky jako mastě, krémy, aerosoly, prášky nebo se mohou aplikovat jako kapky do očí nebo no-

su apod. v závislosti na tom, zda se preparát má použít pro léčení vnitřní nebo vnější virové infekce.

Pro vnitřní infekce se směsí mohou aplikovat orálně nebo parenterálně v dávkách, vypočteno na volnou bázi, od asi 0,1 do 250 mg na kg, s výhodou 1 až 50 mg/kg tělesné hmotnosti savce a při použití v jednotkových dávkových formách u lidí se mohou tyto podávat několikrát denně v množství od 1 do 250 mg na jednotkovou dávku.

Pro orální aplikaci mohou jemné prášky nebo granule obsahovat ředící, dispergační a/nebo povrchově aktivní látky a mohou upravit na vypití jako doušek, ve vodě nebo v sirupu, mohou být obsaženy v pevném stavu v kapslích nebo oplatkách nebo ve formě nevodných roztoků nebo suspenzí, ve kterých mohou být přítomna suspenzační činidla, ve formě tablet, které mohou obsahovat pojidla a mazadla, nebo ve formě suspenzí ve vodě nebo sirupu. Jestliže je zapotřebí nebo nutné, mohou být přítomna ještě chuťová, konzervační, suspenzační, zahušťovací nebo emulgační činidla. Tablety a granule jsou nejvýhodnější a tyto mohou být povlečené.

Pro parenterální aplikaci nebo pro aplikaci ve formě kapek, například pro oční infekce, mohou být sloučeniny přítomné ve formě vodného roztoku v koncentraci od asi 0,1 do 10 %, s výhodou od 0,1 do 1 %, nejlépe od 0,2 % hmot./obj. Roztok může obsahovat antioxidační látky, pufrý apod.

Alternativně pro infekci očí nebo jiné vnější tkáně, například úst a kůže se směsí s výhodou aplikují na infikovanou část těla pacienta ve formě masti, například v základu pro mastě rozpustném ve vodě nebo ve formě krému, například jako olej ve vodném krémovém základu v koncentraci od 0,1 do 10 %, s výhodou od 0,3 do 3 %, nejlépe 1 % hmot./obj.

Podle dalšího rysu s předložený vynález týká způsobu léčení virových infekcí u savců, který se vyznačuje tím, že se aplikuje účinná jednotková dávka, jak byla definována výše, sloučeniny vzorce I nebo její farmaceuticky vhodné soli. Aplikace je s výhodou topická nebo orální nebo parenterální.

Předložený vynález je blíže objasněn v následujících příkladech.

Příklad 1

Příprava 9-(2-propionyloxyethoxymethyl)guaninu.

A. Ethylenglykol (31 g), kyselina propionová (18,5 g) a 7,5 g silného katexu v 100 ml toluenu se za míchání zahřívá k varu 18 hodin za použití Dean Starkova návstave.

Toluen se odstraní odpařením a zbylá kapalina se destiluje. Po počátečním předku ethylenglykolu následuje destilace požado-

vaného produktu monopropionátu ethylenglykolu. Pro stanovení čistoty se používá NMR analýza.

Výtěžek 70 %.

B. Bezvodý chlorovodík se zavádí do míchané suspenze (0 °C) monopropionátu ethylenglykolu (7,1 g) připravené výše a paraformaldehydu (1,8 g) v dichlormethanu (50 ml) tak dlouho, až se veškerá pevná látka rozpustí a směs se nasýtí chlorovodíkem. Po vysušení molekulárními síty a chloridem vápenatým se směs filtruje a rozpouštědlo se odpaří při 30 °C.

Zbylý olej 2-propionyloxyethoxymethylchlorid se přímo použije dále. Výtěžek 60 proc.

C. Hydrid sodný (2,53 g) 57 % disperze v minerálním oleji se promyje bezvodým hexanem a přidá se k roztoku guaninu (4,53 g) v 100 ml bezvodého dimethylsulfoxidu a směs se míchá 23 hodin při 30 °C.

2-Propionyloxyethoxymethylchlorid (5,5 g) se přidá a reakční směs se míchá 18 hodin při 20 °C. Roztok se filtruje a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Odparek se ochladí v lázni s ledem, rozpustí se ve vodě a neutralizuje se kyselinou octovou.

Po jednohodinovém stání se produkt odfiltruje, promyje vodou a vysuší. Krystalizací (3×) z vroucího acetonitrilu se získá 9-(2-propionyloxyethoxymethyl)guanin. Výtěžek 35 %, t. t. 223 až 226 °C.

Příklad 2

Příprava 9-(2-dodekanoyloxyethoxymethyl)-2,6-diaminopurinu.

I. Bezvodý chlorovodík se zavádí do ochlazené (0 °C) suspenze monododekanoátu ethylenglykolu (14,66 g) a paraformaldehydu (1,8 g) v dichlormethanu (50 ml), až se veškeré pevné látky rozpustí a směs se nasýtí chlorovodíkem.

Po vysušení roztoku molekulárními síty a chloridem vápenatým se směs filtruje a rozpouštědlo se odpaří při 30 °C.

Zbylý olej, 2-dodekanoyloxyethoxymethylchlorid se použije přímo. Výtěžek 75 %.

II. Bezvodý roztok 2,6-diaminopurinu v dimethylformamidu se připraví zahříváním 3,54 g monohydrátu v 250 ml rozpouštědla, na parní lázni až se veškerá pevná látka rozpustí, ochladí se a nechá stát 18 hodin nad čerstvě vysušenými molekulárními síty.

K této směsi se přidá 0,95 g 57 % disperze hydridu sodného v minerálním oleji. Po míchání suspenze přes noc se přikape 2-dodekanoyloxyethoxymethylchlorid (6,35 g) a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti.

Pevné podíly se odfiltrují, promyjí chlo-roformem a spojené promývací roztoky a matečné louhy se odpaří při 60 °C.

Zbylý olej se krystaluje z ethanolu. Výtěžek 20 %.

Příklad 3

Tablety obsahující směs 9-(2-formyloxyethoxymethyl)guaninu (100 mg), laktósy (200 mg), škrobu (50 mg), polyvinylpyrrolidonu (5 mg) a stearátu hořečnatého (4 mg) se připraví granulací za mokra.

Příklad 4

Tablety obsahující směs 2-amino-9-{2-formyloxyethoxymethyl}adeninu (100 mg), laktósy (200 mg), škrobu (50 mg), polyvinylpyrrolidonu (5 mg) a stearátu hořečnatého (4 mg) se připraví granulací za mokra.

Příklad 5

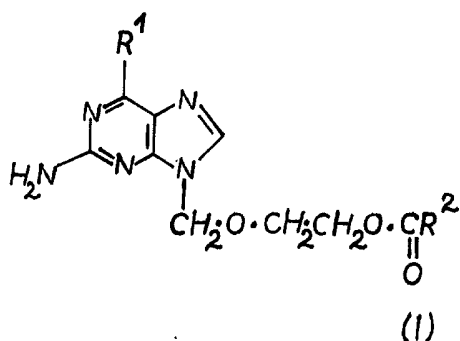
Tablety obsahující směs 9-(2-propionyloxyethoxymethyl)guaninu (100 mg), laktósy (200 mg), škrobu (50 mg) polyvinylpyrrolidonu (5 mg) a stearátu hořečnatého (4 mg) se připraví granulací za mokra.

Příklad 6

Tablety obsahující směs 9-[2-(2,2-dimethylpropionyloxy)ethoxymethyl]guaninu (100 mg), laktósy (200 mg), škrobu (50 mg), polyvinylpyrrolidonu (5 mg) a stearátu hořečnatého (4 mg) se připraví granulací za mokra.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

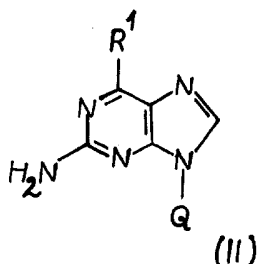
1. Způsob přípravy 9-substituovaných purinů obecného vzorce I



kde

R^1 je hydroxyskupina nebo aminoskupina,

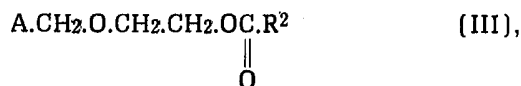
R^2 je atom vodíku, nerozvětvený nebo rozvětvený alkyl s 2 až 16 atomy uhlíku a jejich soli, vyznačený tím, že se sloučenina obecného vzorce II



kde

R^1 má výše uvedený význam a

Q je atom vodíku nebo alkalického kovu, nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



kde

A je odstupující atom nebo skupina a

R^2 má výše uvedený význam, a v případě, že produktem výše uvedené reakce je báze, převede se popřípadě tento produkt na sůl s kyselinou nebo alkalickým kovem nebo jestliže je produkt solí sloučeniny vzorce I, převede se popřípadě tato sůl na její bázi nebo na jinou sůl.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se vychází ze sloučenin vzorců II a III, kde odstupující atom nebo skupina A je reaktivní zbytek organické nebo anorganické kyseliny, Q je atom vodíku nebo alkalického kovu a R^1 a R^2 mají výše uvedené významy.

3. Způsob podle bodu 2, vyznačený tím, že se vychází ze sloučeniny vzorce III, kde odstupující atom nebo skupina A je atom halogenu nebo sulfonátová skupina a R^2 má výše uvedený význam.

4. Způsob podle bodu 3, vyznačený tím, že se vychází ze sloučenin vzorců II a III, kde A je atom halogenu, Q je atom vodíku, R^1 a R^2 mají výše uvedené významy a reakce se provádí v přítomnosti báze.