

ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

199666

(11) (B2)

(22) Přihlášeno 01 03 77
(21) (PV 1352-79)

(40) Zveřejněno 31 10 79

(45) Vydáno 15 07 83

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

(72)

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

(73)

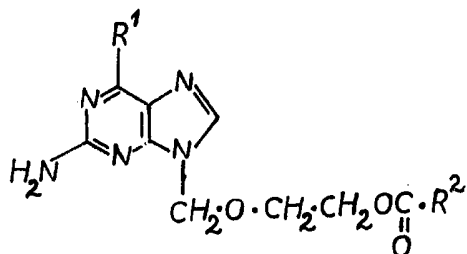
Majitel patentu THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, LONDÝN (Velká Británie)

(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 9-substituované puriny obecného vzorce I



(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 a RNA virů in vitro a proti DNA virům in vivo. Zejména jsou tyto sloučeniny účinné

2

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,

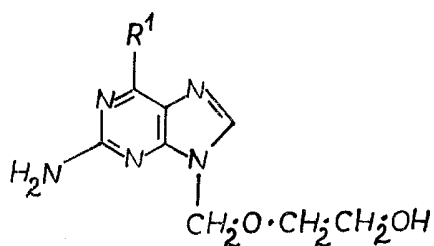
9-[2-(2,2-dimethylpropionyloxy)-ethoxymethyl]guanin a

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 kyselina 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 léčeni.

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



(V)

kde

R^1 má výše uvedený význam, esterifikuje reakcí s odpovídajícím acylačním činidlem k zavedení skupiny R^2 , a jestliže produktem je base, 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 basi nebo na jinou její sůl.

Při postupu podle předloženého vynálezu se alkohol vzorce V nechá reagovat s vhodným acylačním činidlem, jako je odpovídající karboxylová kyselina, anhydrid, acylhalogenid, smíšený anhydrid karboxylové kyseliny a uhlíčitě kyseliny nebo ester karboxylové kyseliny. Sloučeniny vzorce V se mohou připravit postupem popsáním v německém DOS 2 539 963.

Metoda se vztahuje na meziproducty, které se mohou připravit z jednoduše substituovaných purinů. Tyto puriny jsou samozřejmě snadno dostupné běžně známými postupy uvedenými v literatuře a učebnicích jako je „Heterocyclic compound — Fused Pyrimidines Part II Purines D. J. Brown (1971) vydavatel Wiley-Interscience“.

Biologický účinek sloučenin podle předloženého vynálezu je prokázán následujícím testem.

Inhibiční test na deskách byl proveden na VERO buňkách při kterém splývavá monovrstva buněk 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 μg /kotouček). Kultury se inkubují 96 až 120 hodin při 37 °C v atmosféře 5 % kysličníku uhličitého. Po této době se buňky fixují 10 % formalinem a pak se barví 0,05 % 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-hexanoyloxyethoxymethyl]-guanin	+
9-[2-propionyloxyethoxymethyl]-guanin	++
9-[2-[2,2-dimethylpropionyloxy]ethoxymethyl]guanin	+
9-[2-palmitoyloxyethoxymethyl]-guanin	+
9-[2-butyryloxyethoxymethyl]guanin	+

++ zóna větší než 25 mm v průměru
 + zóna 5 až 25 mm
 ± zóna 0 až 5 mm
 — negativní

Podle dalšího rysu se předložený vynález týká farmaceutické směsi obsahující sloučeninu vzorce 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 do nosu a pod. v závislosti na tom, zda se preparát má použít pro léčení vnitřní nebo vnější virové infekce.

Pro vnitřní infekce se směsi mohou aplikovat orálně nebo parenterálně v dávkách, vypočteno na volnou basí, od asi 0,1 do 250 miligramů 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 aplikace mohou jemné prášky nebo granule obsahovat ředící, dispergační a/nebo povrchově aktivní látky a mohou se 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 suspensí, ve kterých mohou být přítomna suspenzační činidla, ve formě tablet, které mohou obsahovat pojidla a mazadla nebo ve formě suspensí 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, pufry a pod.

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 se 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

Roztok 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guaninu (4,73 g) připravený podle postupů popsaných v DOS 2 539 963 v 97 % kyselině mravenčí (24 ml) se míchá přes noc při teplotě místnosti. Jantarový roztok se zředí asi 200 ml bezvodého etheru a ochladí. Vzniklá bílá sraženina se filtruje, vysuší a překrystaluje z bezvodého dimethylformamidu a získá se 9-(2-formyloxyethoxymethyl)guanin (3,6 gramů, t. t. 225 až 275 °C).

Příklad 2

Roztok 2-amino-9-(2-hydroxyethoxymethyl)adeninu (0,5 g) připravený postupem podle DOS 2 539 963 v 97 % kyselině mravenčí (2,5 ml) se míchá tři hodiny v lázni s ledem a pak přes noc při teplotě místnosti. Přidá se bezvodý ether (80 ml) a směs se ochladí. Pevný podíl se odfiltruje a rozpustí v horkém acetonitrilu (125 ml), zbylé pevné podíly se odfiltrují. Filtrát se nanese na ko-

lonu obsahující silikagel (14 g) v acetonitrilu.

Kolona se eluuje bezvodým acetonem. Eluát se odpaří a zbylé pevné látky se překrystalují z acetonitrilu a získá se 2-amino-9-(2-formyloxyethoxymethyl)adenin (93 mg, t. t. 238 až 240 °C).

Příklad 3

Příprava 9-(2-hexanoyloxyethoxymethyl)guaninu

9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanin (1,0 g) se připraví postupem popsaným v DOS 2 539 963 a rozpustí se v bezvodém dimethylformamidu (70 ml) zahříváním na parní lázni. Roztok se ochladí na teplotu místnosti a přidá se bezvodý pyridin (10 ml) a anhydrid kyseliny hexanové (9,4 g). Po čtyřdenním míchání při teplotě místnosti je podle kontroly chromatografií na tenké vrstvě ve směsi 10 % methanolu v chloroformu reakce u konce.

Žlutý reakční roztok se zředí ethylacetátem na objem 800 ml a chladí se několik dní. Jemný bílý prášek, který se vysráží, se odfiltruje, vysuší a překrystaluje z bezvodého acetonitrilu. Získá se 400 mg (28 %) bílých granulí t. t. 221 až 223 °C.

Příklad 4

Příprava 9-(2-tridekanoyloxyethoxymethyl)guaninu

9-(2-Hydroxyethoxymethyl)guanin (300 mg) připravený postupem podle německého DOS 2 539 963 se zahřívá v bezvodém dimethylformamidu (20 ml) a bezvodém pyridinu (30 mililitrů) na parní lázni až do rozpuštění. Roztok se ochladí na teplotu místnosti a přidá se tridekanoylchlorid (0,93 g). Roztok se míchá při teplotě místnosti až chromatografie na tenké vrstvě prokazuje, že reakce je skončena a vymizí výchozí materiál (18 hodin).

Roztok se odpaří a zbylý žlutý olej krystaluje z acetonitrilu a získá se krémově žlutý pevný produkt (375 mg). NMR analýza surového produktu ukazuje na přítomnost několika sloučenin. Čirá směs se pak čistí chromatografií na koloně.

Příklad 5

9-(2-Propionyloxyethoxymethyl)guanin

Směs 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guaninu (1,0 g) a bezvodého dimethylformamidu (50 mililitrů) se zahřívá na parní lázni až se převážná část pevné látky rozpustí. Pak se roztok ochladí na teplotu místnosti. Přidá se bezvodý pyridin (10 ml) a propionanhydrid (2,9 ml) a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Přidá se další anhydrid

kyseliny propionové (1,0 ml) a směs se míchá dalších 18 hodin. Reakční směs se zředí ethylacetátem, ochladí se a vzniklá pevná látka se odfiltruje. Krystalizací z dimethylformamidu se získá 9-[2-propionyloxyethoxymethyl]guanin (0,9 g) t. t. 223 až 226 stupňů Celsia.

Příklad 6

9-[2-(2,2-Dimethylpropionyloxy)ethoxymethyl]guanin

Směs 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guaninu (2,46 g), bezvodého pyridinu (400 ml) a anhydridu kyseliny pivalové (6,5 ml) se zahřívá na parní lázni po celkovou dobu 33 dnů. Jedenáctý den se přidá další pyridin (150 ml) a 27 den dimethylformamid (50 mililitrů). Těkavé podíly se odstraní za sníženého tlaku a zbylý pevný podíl se rozmělní s ethylacetátem. Nerozpustný pevný podíl se odfiltruje a rozpustí se ve směsi methanolu a acetonu. Přidá se silikagel (3 g) a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se nanesse na kolonu silikagelu (180 g) v acetonu. Elucí acetonem se získají nejprve frakce N,O-diacylovaného materiálu a pak následující frakce obsahující monoacylovaný produkt. Z této poslední frakce se odpaří aceton a odparek se překrystaluje ze směsi dimethylformamidu, acetonitrilu a ethylacetátu a získá se 9-[2-(2,2-dimethylpropionyloxy)ethoxymethyl]guanin (0,5 g) t. t. 245 až 246 °C.

Příklad 7

Příprava 9-(2-palmitoyloxyethoxymethyl)guaninu

9-(2-Hydroxyethoxymethyl)guanin (0,3 g) připravený postupem podle německého DOS 2 539 963 se částečně rozpustí v bezvodém dimethylformamidu (15 ml) a pyridinu (30 mililitrů) a zahřívá se 30 minut na parní lázni. Směs se ochladí ledovou lázní a za míchání se přidá palmitoylchlorid (1,1 g). Směs se ochladí na teplotu místnosti, míchá se 20 hodin až se veškerý pevný materiál rozpustí. Chromatografie na tenké vrstvě ukazuje na úplnou konversi výchozího materiálu.

Roztok se zředí ethylacetátem na objem 300 ml a chladí se pak přes noc. Filtrací se oddělí bílá pevná látka, 0,49 g.

Surový materiál se překrystaluje jednou z ethylacetátu a jednou z acetonu. Získá se analyticky čistý 9-(2-palmitoyloxyethoxymethyl)guanin (190 mg) (31 %), t. t. 190 až 210 °C.

NMR, UV a hmotová spektra jsou v soulase s požadovaným produktem.

Příklad 8

Příprava 9-(2-butyryloxyethoxymethyl)guaninu

Roztok methoxidu sodného v bezvodém methanolu (10 ml) se přidá k methanolicému roztoku 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guaninu při teplotě místnosti. Odstraněním rozpouštědla ve vakuu se získá sodná sůl purinu ve formě bílého prášku.

Výše připravená sodná sůl se suspenduje ve směsi ethylbutyrátu a bezvodého dimethylformamidu (20 ml) a za míchání se zahřeje k varu. Po 3 1/2 dnech je převážná část pevné látky rozpuštěna, reakční směs se zahustí ve vakuu k suchu a odparek se rozpustí v 2 N kyselině octové (15 ml). Odstraněním rozpouštědla ve vakuu se získá polopevná látka, která po zpracování vodou (15 ml) a SD3A (15 ml) ztuhne za odstranění rozpouštědel ve vakuu. Tento produkt se suspenduje v SD3A (25 ml), filtruje se a sušením ve vakuu se získá 195,2 mg tříslově zbarvené pevné látky t. t. 225 až 227,5 °C.

Příklad 9

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

Příklad 10

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

Příklad 11

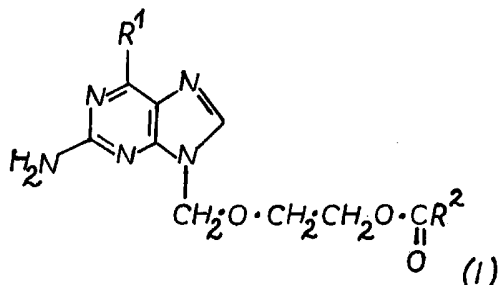
Tablety obsahující směs 9-(2-propionyloxyethoxymethyl)guaninu (100 mg), laktosy (200 mg), škrobu (50 mg), polyvinylpyrrolidonu (5 mg) a stearanu hořečnatého (4 mg) se připraví granulací za mokra.

Příklad 12

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

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

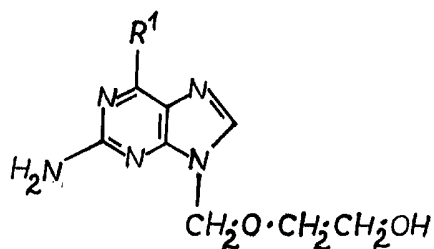
1. Způsob přípravy 9-substituovaných purinů obecného vzorce I



kde

R¹ je hydroxyskupina nebo aminoskupina,

R² je atom vodíku, nerozvětvený nebo rozvětvený alkyl s 2 až 16 atomy uhlíku a jejich soli, vyznačený tím, že se alkohol obecného vzorce V



(V)

kde

R¹ má výše uvedený význam, esterifikuje reakcí s odpovídajícím acylačním činidlem k zavedení skupiny R² a v případě, že produktem reakce je base, převede se tento produkt na sůl s kyselinou nebo alkalickým kovem nebo jestliže je produkt solí sloučeniny vzorce I, převede se případně tato sůl na její basi nebo jinou sůl.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačený tím, že se jako acylačního činidla používá odpovídající karboxylová kyselina, anhydrid, acylhalogenid, smíšený anhydrid karboxylové kyseliny a kyseliny uhličitě nebo ester karboxylové kyseliny.