

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

Egz. SŁUŻBOWY

143 974

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 83 01 31 /P. 253390/

Pierwszeństwo: 82 02 01
Stany Zjednoczone Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 86 02 11

Opis patentowy opublikowano: 88 08 31

Int. Cl.⁴ C07D 473/16
C07D 473/18

Twórcy wynalazku: Julien Pierre Henri Verheyden,
John Charles Martin

Uprawniony z patentu: Syntex /U.S.A./ Inc.,
Palo Alto /Stany Zjednoczone Ameryki/

SPOSÓB WYTWARZANIA NOWYCH 9-/1,3-DWUACYLOKSY-2-PROPOKSYMETYLO/-PURYN

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych 9-/1,3-dwuacyloksy-2-propoksymetylo/-puryn o ogólnym wzorze 1, w którym R^1 i R^2 oznaczają grupy o wzorze $-C(O)R^7$, w którym R^7 oznacza atom wodoru, rodnik alkilowy o 1-19 atomach węgla, grupę alkoksyalکیلową o 2-9 atomach węgla, rodnik alkenylowy o 2-19 atomach węgla, rodnik fenyłowy, rodnik 1-adamantylowy, grupę 2-karboksyetylową lub grupę karboksymetylową, R^3 oznacza atom wodoru, atom chlorowca, grupę tio, niższą grupę alkilotio o 1-6 atomach węgla, grupę azydo, grupę o wzorze $-NR^9R^{10}$, w którym R^9 i R^{10} są jednakowe lub różne i oznaczają atomy wodoru lub niższe rodniki alkilowe o 1-6 atomach węgla, albo R^3 oznacza grupę o wzorze $-NHC(O)R^8$, w którym R^8 oznacza atom wodoru, rodnik alkilowy o 1-19 atomach węgla lub rodnik 1-adamantylowy, R^6 oznacza atom wodoru, atom chlorowca, niższą grupę alkoksylową o 1-6 atomach węgla, grupę azydo, grupę tio, niższą grupę alkilotio o 1-6 atomach węgla, grupę o wzorze $-NR^9R^{10}$, w którym R^9 i R^{10} mają wyżej podane znaczenie, albo R^6 oznacza grupę o wzorze $-NHC(O)R^8$, w którym R^8 ma wyżej podane znaczenie i R^4 razem z R^5 oznaczają pojedyncze wiązanie, albo R^4 oznacza atom wodoru, a R^5 razem z R^6 oznaczają grupę keto. Przedmiotem wynalazku jest także sposób wytwarzania addycyjnych soli związków o wyżej opisanym wzorze 1 z kwasami, zwłaszcza soli farmakologicznie dopuszczalnych, jak również soli z metalami alkalicznymi.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku mają właściwości przeciwwirusowe i osadzone na odpowiednich, nietoksycznych nośnikach stanowią cenne środki do zwalczania zakażeń wirusowych.

Zakażenia wirusowe są szeroko rozpowszechnione i mają wiele różnych objawów. Niektóre zakażenia wirusowe są łatwo zwalczane przez mechanizm samoobrony organizmu, ale gdy mechanizm ten jest osłabiony, wówczas zakażenie takie mogą powodować trwałe szkody, np. ślepotę lub nawet śmierć. Jedną z rodzin wirusów mogących powodować poważne zakażenia, jest grupa wirusów opryszczki.

Znane leki, stosowane do zwalczania zakażeń wirusowych, są w wielu przypadkach nieskuteczne, albo są skuteczne tylko wtedy, gdy podaje się je w dużych ilościach i/albo w sposób ciągły, co powoduje poważne objawy uboczne i/albo zatrucia. Środki zawierające nowe związki, wytwarzane sposobem według wynalazku, nie mają tych wad, gdyż są skuteczne już przy małych dawkach, co zmniejsza niebezpieczeństwo występowania objawów ubocznych i zatruć.

Z opisu patentowego St.Zjedn.Am. nr 4 199 574 znane są związki o ogólnym wzorze 2, w którym X oznacza atom siarki lub tlenu, R^1 oznacza atom wodoru, atom chlorowca, grupę hydroksylową, azydo, tio, alkilotio, aminową, alkiloaminową lub dwualkiloaminową, R^2 oznacza atom wodoru, atom chlorowca, grupę alkilotio, acyloaminową, aminową lub azydo, R^3 oznacza atom wodoru, rodnik alkilowy o łańcuchu prostym lub rozgałęzionym, rodnik cykloalkilowy, hydroksyalkilowy, benzyloksyalkilowy albo fenyłowy, R^4 oznacza atom wodoru, rodnik hydroksylowy lub alkilowy, R^5 oznacza atom wodoru, grupę hydroksylową, aminową, alkilową, hydroksyalkilową, benzyloksylową, benzoiloksylową, benzoiloksymetylową, sulfamoiloksylową, fosforanową, karboksypropiamyloksylową, grupę acyloksylową o łańcuchu prostym lub cykliczną, zawierającą 1-8 atomów węgla, np. grupę acetoksylową lub podstawioną grupę karbamoilową o wzorze $-NHCO-Z$, w którym Z oznacza rodnik alkilowy, aryłowy lub aralkilowy, ewentualnie podstawiony jedną lub większą liczbą grup sulfonylowych, aminowych lub karbamoilowych albo atomów chlorowca, a R^6 oznacza atom wodoru lub rodnik alkilowy, przy czym gdy X oznacza atom tlenu, R^2 , R^3 , R^4 i R^6 oznaczają atomy wodoru, a R^5 oznacza atom wodoru lub grupę hydroksylową, wówczas R^1 nie oznacza grupy aminowej lub metyloaminowej. Z podanego wyżej opisu patentowego znane są również sole związków o wzorze 2. Związki te oraz ich sole są opisane jako mające właściwości przeciwwirusowe. Patrz również Tetrahedron Letters, 21, 327-330 /1980/ oraz opisy patentowe St.Zjedn.Am. nr nr 4 294 831 i 4 347 360.

Związki o wzorze 1 różnią się swą budową od znanych związków o wzorze 2. W niżej podanym opisie i w zastrzeżeniach, o ile nie podano inaczej, określenie "rodnik alkilowy" oznacza jednowartościowy podstawnik w postaci rodnika o łańcuchu prostym lub rozgałęzionym, zawierającego tylko atomy węgla i wodoru, bez wiązań nienasyconych i o 1-19 atomach węgla. Przykładami takich rodników alkilowych są rodniki takie jak metylowy, etylowy, propylowy, izopropylowy, butylowy, izobutylowy, II-rzęd. butylowy, III-rzęd. butylowy, n-pentylowy, n-heksylowy i izoheksylowy, 2-metylo-2-propylowy, n-oktyłowy, n-decylowy, n-tetradecylowy i n-nonadecylowy. Określenie "niższy rodnik alkilowy" oznacza rodniki takie jak wyżej opisane, ale zawierające tylko 1-6 atomów węgla. Określenie "rodnik alkenylowy" oznacza jednowartościowy podstawnik w postaci rodnika o łańcuchu prostym lub rozgałęzionym, zawierającego tylko atomy węgla i wodoru oraz mającego co najmniej jedno podwójne wiązanie i zawierającego 2-19 atomów węgla. Przykładami takich rodników są rodniki takie jak propenylowy, pentenylowy, heptenylowy, dodecenylowy, dodekadienylowy, pentadecenylowy i pentadekadienylowy. Określenie "rodnik 1-adamantylowy" oznacza rodnik o budowie pierścieniowej przedstawionej wzorem 3.

Określenie "niższa grupa alkoksylowa" oznacza grupy o wzorze niższy alkil-O, w którym "niższy alkil" ma znaczenie podane wyżej dla niższego rodnika alkilowego. Przykładami niższych grup alkoksylowych są grupy takie jak metoksylowa, etoksylowa, izobutoksylowa i n-heksylowa. Określenie "grupa alkoksyalkilowa" oznacza grupy o wzorze alkilo-O-alkilen, w którym rodnik alkilowy ma wyżej podane znaczenie, a rodnik alkilenowy jest dwuwartościowym rodnikiem alkilowym. Przykładami grup alkoksyalkilowych są grupy takie jak metoksymetylowa, izopropoksymetylowa, n-oktanyloksymetylowa i etoksypropylowa. Określenie "niższa grupa alkilotio" oznacza grupy o wzorze niższy alkil-S, w którym "niższy alkil" ma znaczenie podane wyżej dla niższego rodnika alkilowego. Przykładami niższych grup alkilotio są grupy takie jak metylotio, n-propylotio i n-pentylotio. Grupa "tio" oznacza grupę o wzorze $-SH$,

grupa "aminowa" oznacza grupę o wzorze $-NH_2$, a grupa "azydo" oznacza grupę o wzorze N_3 . Określenie "atom chlorowca" oznacza atom fluoru, chloru lub bromu, a określenie "grupa 2-karboksyetylowa" oznacza grupę o wzorze $HOOCCH_2CH_2-$.

Określenie "farmakologicznie dopuszczalne sole addycyjne z kwasami" oznacza takie sole, które mają biologiczne działanie i właściwości wolnego związku i które nie są niepożądane ze względów biologicznych lub innych. Kwasami odpowiednimi do wytwarzania takich soli są kwasy nieorganiczne, np. takie jak kwas solny, bromowodorowy, siarkowy i fosforowy, a także kwasy organiczne, np. kwas trójfluoroocetowy, metanosulfonowy, etanosulfonowy i p-toluenosulfonowy. Określenie "farmakologicznie dopuszczalne sole z metalami alkalicznymi" oznacza metaliczne sole wolnej grupy karboksylowej, znajdujące się w grupie karboksyetylowej lub karboksymetylowej. Przykładami metali alkalicznych są tu sód i potas.

Gdy w związkach o wzorze 1 R^5 i R^6 tworzą razem grupę keto, wówczas związki takie mogą występować w postaci tautomerów hydroksylowych, ale dla uproszczenia przyjmuje się, że grupa keto oznacza obie postacie tautomeryczne.

Korzystne właściwości mają związki o wzorze 1, w którym R^3 oznacza grupę aminową, R^4 oznacza atom wodoru, a R^5 razem z R^6 oznacza grupę keto, zaś R^1 i R^2 mają wyżej podane znaczenie. Są to związki o wzorze 1a, w którym R^1 i R^2 mają wyżej podane znaczenie. Inną grupę związków o korzystnych właściwościach stanowią związki o wzorze 1, w którym R^3 oznacza grupę aminową, R^6 oznacza atom wodoru, grupę tio lub grupę $-NH_2$, a R^4 razem z R^5 stanowią pojedyncze wiązanie. Z obu tych grup podgrupę związków o korzystnych właściwościach stanowią te, w których R^1 i R^2 oznaczają grupy o wzorze $-C(O)R^7$, przy czym R^7 korzystnie oznacza rodnik alkilowy o 1-5 atomach węgla, a zwłaszcza rodnik metylowy lub etylowy.

Związki o wzorze 1 i ich farmakologicznie dopuszczalne sole przejawiają silne działanie przeciwwirusowe przy podawaniu ich zwierzętom ciepłokrwistym i zimnokrwistym, zwłaszcza ssakom, ptakom i rybam, a w szczególności ludziom. Na przykład, związki wytwarzane sposobem według wynalazku wykazują bardzo silne działanie przeciwko wirusom opryszczki Herpes Simplex I i II oraz wirusom pokrewnym, takim jak wirusy atakujące komórki żerne, wirus Epstein-Barr, wirus Zoster ospy wietrznej oraz wirusy powodujące zapalenia wątroby. Szczególnie cenne właściwości przeciwwirusowe wykazują związki o wzorze 1, w którym R^1 i R^2 oznaczają grupy o wzorze $-C(O)R^7$, w którym R^7 oznacza rodnik etylowy. Związki te stanowią dwuistry kwasu propionowego i są rozpuszczalne w wodzie lepiej niż można tego oczekiwać na podstawie rozpuszczalności ich najbliższych homologów. Dzięki temu są one łatwe do podawania, zwłaszcza do podawania pozajelitowego, a poza tym są one łatwiej przyswajalne.

Środki lecznicze, zarówno weterynaryjne jak i dla medycyny ludzkiej, zawierające związki o wzorze 1 i przeznaczone do zwalczania wirusów, wytwarza się znanymi sposobami, przy użyciu znanych rozcieńczalników lub nośników. Zestawienie takich sposobów i stosowanych dodatków zawiera publikacja E.W.Martin'a w Remington's Pharmaceutical Sciences /Mark Publ. CO., wydanie 15, 1975/. Przy wytwarzaniu środków leczniczych zawierających związki o wzorze 1 można też stosować lipozomy i postępować znanymi metodami, np. opisanymi przez Szoka, F.Jr. i współpracowników w Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 9, 467-508 /1980/, S.E. Schullery i współpracowników w Biochemistry 19, 3919-3923 /1980 oraz przez G.Gregoriadin'a i współpracowników w Liposomes in Biological Systems, wyd. John Wiley and Sons /1980/.

Środki zawierające związki wytwarzane sposobem według wynalazku można podawać pozajelitowo, np. dożylnie podskórnie, dootrzewnowo i domięśniowo, a także doustnie, miejscowo, doodbytniczo i donosowo.

Doustnie lub pozajelitowo podaje się te środki w dawkach od około 0,1 do 300 mg, korzystnie 1,0-30 mg na 1 kg ciała ssaka, w przeliczeniu na związek o wzorze 1 w postaci wolnej zasady. Przy podawaniu ludziom stosuje się 1-5 dawek dziennie, stosując dawki 1-500 mg. Do podawania doustnego stosuje się środki w postaci proszków lub granulatu, z dodatkiem rozcieńczalników i/ albo substancji powierzchniowo-czynnych, np. w postaci ekstraktów, mieszanin z wodą lub syropów. Można też stosować środki w postaci stałej lub w roztworach albo

zawiesinach w rozcieńczalnikach innych niż woda, ewentualnie z dodatkiem substancji ułatwiających wytwarzanie zawiesin. Środki te można też stosować w postaci tabletek lub aerozolu. Korzystnie stosuje się tabletki lub granulaty, ewentualnie mające powłoki. Zawartość związków o wzorze 1 w tych środkach wynosi od 0,1 do 99% wagowych, a nawet do 99,9% wagowych. Korzystnie zawartość ta wynosi 10-95% wagowych.

Do podawania pozajelitowego stosuje się preparaty w postaci kropeł, np. przy zakażeniu oczu, przy czym preparaty takie stanowią roztwory wodne o zawartości związków o wzorze 1. wynoszącej około 0,1-10%, korzystnie 0,1-7% wagowych. Roztwory te mogą zawierać przeciwutleniacze, substancje buforujące i inne dodatki.

Przy zakażeniach oczu i innych tkanek zewnętrznych, np. ust lub skóry, środki te można stosować miejscowo w postaci maści, kremu, aerozolu lub proszku, korzystnie w postaci maści lub kremu. Środki w postaci maści mogą zawierać związki o wzorze 1 i rozpuszczalną w wodzie podstawę maści, zaś w środkach w postaci kremów jako podstawę stosuje się np. olej w wodzie. Zawartość związków o wzorze 1 w takich preparatach wynosi około 0,1-10%, korzystnie 0,1-7%, a zwłaszcza około 3,0% wagowo/objętościowych. Związki o wzorze 1 można też stosować metodą opóźnionego wyzwalamia, znaną z opisu patentowego St.Zjedn.Am. nr 4 217 898.

Przy podawaniu w postaci aerozolu substancja czynna znajduje się w preparacie korzystnie silnie rozdrobniona w substancji czynnej powierzchniowo i w nośniku napędzającym. Stężenie czynnej substancji wynosi 0,01-20%, korzystnie 0,04-1,0% w stosunku wagowym. Substancje powierzchniowo czynne stosowane w takich środkach powinny być oczywiście nietoksyczne i korzystnie rozpuszczalne w nośniku. Przykładami takich substancji są estry lub niepełne estry kwasów tłuszczowych o 6-22 atomach węgla, takich jak kwas kapronowy, heptanokarboksylowy, laurynowy, palmitynowy, stearynowy, linolowy, linolenowy, oleostearynowy i olejowy, z alifatycznymi alkoholami wielowodorotlenowymi albo i ich cyklicznymi bezwodnikami, np. takimi jak glikol etylenowy, gliceryna, erytryt, arabit, mannit, sorbit, bezwodniki heksytowe pochodzące z sorbitu i pochodne polioksyetylenowe lub polioksypropylenowe takich estrów. Można też stosować estry mieszane, np. mieszane albo naturalne glicerydy. Substancja powierzchniowo czynna może stanowić 0,1-20%, korzystnie 0,25%-5% wagowych preparatu. Jako nośniki napędzające stosuje się zwykle takie, które w warunkach otoczenia są gazami, a pod zwiększonym ciśnieniem są skroplone. Odpowiednimi do tego celu są niższe alkan, zawierające do 5 atomów węgla, np. butan i propan, a korzystnie alkan fluorowane lub fluorochlorowane, np. freon. Można też stosować mieszaniny takich nośników. Pojemnik zaopatrzonego w odpowiedni zawór wypełnia się nośnikiem zawierającym silnie rozdrobniony związek o wzorze 1 oraz substancję powierzchniowo czynną. Składniki te utrzymuje się w pojemniku pod zwiększonym ciśnieniem i uwalnia przez otwarcie zaworu.

Związki wytwarzane sposobem według wynalazku są przydatne do zwalczania schorzeń wirusowych nie tylko u ludzi, ale również u zwierząt ssących, ptaków i zwierząt zimnokrwistych. Związki te działają u zwierząt, np. na następujące wirusy z grupy Herpesvirus: wirus 1 wiewiórkowatych, wirus 1 świnek morskich, wirus 1 i wirus 2 bażanta /choroba Marek'a/, wirus 1 indyka, wirus 1 kaczki, wirus 1 ryby zębacza, wirusy 1,2 i 3 koni, wirusy 1,2,3 i 4 bydła, wirusy 1 i 2 świń, wirus 1 gryzoni, wirus 1 owiec, wirus 1 psów i wirus 1 kotów.

Schorzenia wirusowe u ptactwa, np. chorobę Marek'a, zwalcza się lub zapobiega takim chorobom, podając ptakom znanymi sposobami, np. przez wstrzykiwanie, albo w wodzie do picia, środki zawierające związki o wzorze 1.

Ryby znajdujące się w zbiornikach zamkniętych, takich jak stawy lub akwaria, można chronić przed zakażeniami wirusowymi, takimi jak wirus zębacza, herpes virus salomones, wirus Nerka itp., przez podawanie związków o wzorze 1 do wody w zbiorniku lub wraz z pokarmem.

Zgodnie z wynalazkiem, związki o wzorze 1, w którym wszystkie symbole mają wyżej podane znaczenie, wytwarza się działając na związek o wzorze 4, w którym R^3 , R^4 , R^5 i R^6 mają wyżej podane znaczenie, kompleksowym związkiem dwucykloheksylokarbodwumidu z kwasem karboksylowym.

Zgodnie z wynalazkiem, reakcję prowadzi się w ten sposób, że kwas karboksylowy w nadmiarze dwucykloheksylokarbodwuimidu w stosunku molowym, dodaje się do roztworu związku wyjściowego w rozpuszczalniku, np. w dwumetyloformamidzie lub w dwumetyloacetamidzie i mieszając utrzymuje w temperaturze 35-75°C, korzystnie 40-60°C w ciągu 16-72, korzystnie 24-60 godzin. Wytrącony dwueter odsącza się. Otrzymane związki o wzorze 1 ewentualnie przeprowadza się w ich sole addycyjne z kwasami lub w sole z metalami alkalicznymi, albo otrzymane sole addycyjne lub sole z metalami alkalicznymi, przeprowadza się w wolne związki o wzorze 1.

P r z y k ł a d I. 9-/1,3-dwu-n-heksadekanoiloksy-2-propoksymetylo/guanina.

Do 50 mg 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaniny w 5 ml N,N-dwumetyloformamidu dodaje się 290 mg dwucykloheksylokarbodwuimidu i 300 mg kwasu n-pentadekanokarboksylowego i miesza roztwór w temperaturze 50°C w ciągu 50 godzin, po czym wlewa do wody z lodem i trzykrotnie ekstrahuje chlorkiem metylowym. Połączone wyciągi odparowuje się i pozostałość oczyszcza na płytkach z żelu krzemionkowego, rozwijając mieszaniną metanolu z chlorkiem metylenu 1:9. Otrzymuje się 140 mg związku podanego w tytule przykładu, topniejącego w temperaturze 150-154°C.

W sposób analogiczny do wyżej opisanego, stosując odpowiednie kwasy karboksylowe i związki o wzorze 4, wytwarza się następujące związki: 9-/1,3-dwu-n-oktanoiloksy-2-propoksymetylo/-guaninę o temperaturze topnienia 165-166°C, 9-/1,3-dwu-n-dekanoiloksy-2-propoksymetylo/-guaninę o temperaturze topnienia 158-160°C, 9-/1,3-dwu-n-dodekanoiloksy-2-propoksymetylo/-guaninę o temperaturze topnienia 162-164°C i 9-/1,3-dwu-n-tetradekanoiloksy-2-propoksymetylo/-guaninę o temperaturze topnienia 137-140°C.

P r z y k ł a d II. Do roztworu 1,0 g 9-/1,3-dwu-n-oktanoiloksy-2-propoksymetylo/-guaniny w 20 ml metanolu dodaje się 3% roztwór chlorowodoru w metanolu, w ilości 2 razy większej od wynikającej z obliczeń stechiometrycznych, po czym dodaje się eter dwuetylowy aż do całkowitego wytrącenia produktu. Osad odsącza się, przemywa eterem, suszy na powietrzu i przekrystalizowuje, otrzymując chlorowodorek 9-/1,3-dwu-n-oktanoiloksy-2-propoksymetylo/guaniny.

W podobny sposób można wszystkie związki o wzorze 1 w postaci wolnych zasad przeprowadzać w sole addycyjne z kwasami, stosując odpowiednie kwasy, jak np. kwas solny, bromowodorowy, siarkowy, fosforowy, octowy, propionowy, glikolowy, pirogronowy, szczawiowy, malonowy, bursztynowy, jabłkowy, maleinowy, fumarowy, winowy, cytrynowy, benzoesowy, cynamonowy, migdałowy, metanosulfonowy, etanosulfonowy i p-toluenosulfonowy.

P r z y k ł a d III. Do zawiesiny 1,0 g chlorowodoru 9-/1,3-dwu-n-oktanoiloksy-2-propoksymetylo/guaniny w 50 ml eteru dodaje się mieszając rozcieńczony wodny roztwór węglanu potasowego w ilości dwukrotnie większej od obliczonej stechiometrycznie i miesza się aż do całkowitego rozpuszczenia się soli. Następnie oddziela się warstwę eterową, przemywa ją dwukrotnie wodą, suszy nad $MgSO_4$ i odparowuje. Otrzymuje się 9-/1,3-dwu-n-oktanoiloksy-2-propoksymetylo/guaninę w postaci wolnej zasady.

W podobny sposób wytwarza się sole z metalami alkalicznymi dwuestrów o wzorze 1, zwłaszcza tych w których R^1 i R^2 oznaczają grupy o wzorze $-C/O/R^7$, w którym R^7 oznacza rodnik 1-adamantylowy lub 2-metylo-2-propylowy.

P r z y k ł a d IV. Silne działanie przeciwwirusowe związków wytwarzanych sposobem według wynalazku uwidoczniają niżej opisane próby.

Do prób przygotowuje się wirus opryszczki zwykłej Herpes virus 2, szczep G, w kulturach komórek HEp-2. Wirus adsorbuje się w ciągu 1 godziny, po czym na komórki nakłada się świeże środowiska i prowadzi hodowlę w temperaturze 35°C aż do zakażenia wszystkich komórek. Następnie zawiesinę komórek zamraża się w temperaturze -70°C, po czym odmraża i wiruje, w celu usunięcia resztek komórek. Z cieczy sporządza się próbki o określonych różnych stężeniach i próbki te przechowuje w temperaturze -70°C do dalszego użytku. Odwirowana ciecz rozcieńczona w stosunku $10^{-6,7}$ daje w komórkach HEp-2 50% hodowlę o stężeniu nieskutecznym /CCID₅₀/, zaś przy rozcieńczeniu $10^{-3,7}$ stanowi dawkę, która w przypadku myszy jest w 50% dawką śmiertelną /LC₅₀/.

Grupom po 20 sztuk samic myszy gatunku Swiss Webster, o masie ciała po 15-17 g, podawano dootrzewnowo 0,2 ml EMEM z zawartością 10 wspomnianych wyżej dawek LC_{50} . W celach porównawczych innym myszom podawano dawki $10^{-2}LC_{50}$, aby móc stwierdzić działanie przeciwwirusowe. Po upływie 6 godzin podawano myszom badane związki. Mysiom w grupach po 20 sztuk podawano te związki podskórnie w roztworze w solance, stosując badane związki w ilości 20 mg na 1 kg ciała myszy. Jednej grupie myszy podano samą solankę. Zabiegi te stosowano po upływie 24, 48, 72 i 96 godzin od chwili zakażenia myszy wirusem. W badaniach stosowano związki o wzorze 1, w którym oba podstawniki R^1 i R^2 są jednakowe i mają znaczenie podane w tablicy 1, R^3 oznacza grupę NH_2 , R^4 oznacza atom wodoru, a R^5 i R^6 razem oznaczają grupę keto. W tablicy tej podano wyniki prób, określone po upływie 21 dni od zakażenia. Podany w tablicy nośnik SSV jest nośnikiem wytwarzanym przez Syntex Inc., stosowanym przy wytwarzaniu zawiesin.

T a b l i c a 1

Podstawniki R^1 i R^2 we wzorze 1	Dawka badanego środka mg/kg	Przeciętna liczba dni utrzymywania myszy przy życiu przy podawaniu im	
		nośnika SSV	badanego związku
dwuacetyloksy	20	$8,6 \pm 1,0^a$	$11,7 \pm 2,8$
dwupropanoiloksy	20	$8,6 \pm 1,0$	$12,1 \pm 1,5$
dwubutanoiloksy	20	$8,6 \pm 1,0$	$13,6 \pm 4,3$
dwuheksanoiloksy	20	$8,6 \pm 1,0$	$13,4 \pm 5,6$
dwu-2,2-dwumetylopropanoiloksy	20	$8,3 \pm 0,9$	$12,5 \pm 4,4$
dwu-1-adamantylokarbonyloksy	20	$8,3 \pm 0,9$	$14,7 \pm 2,1$

a/ jedno typowe odchylenie.

Wyniki podane w tablicy 1 świadczą o tym, że przez podanie badanych środków zwiększa się liczbę myszy utrzymanych przy życiu, w porównaniu z liczbą myszy, którym podano sam nośnik.

P r z y k ł a d V. Grupom po 5 samców myszy Swiss Webster /Simonsen/ o masie ciała po około 25 g podawano podskórnie związki o wzorze 1, w którym oba podstawniki R^1 i R^2 mają znaczenie podane w tablicy 2, a R^3 , R^4 , R^5 i R^6 mają znaczenie podane w przykładzie IV. Związki te podawano tylko raz i następnie obserwowano myszy w ciągu 21 dni. Nie stwierdzono żadnych przypadków śmiertelnych przy dawkach podanych w tej tablicy. Związki te nie działają więc toksycznie.

T a b l i c a 2

Podstawniki R ¹ i R ² we wzorze 1	Dawka mg/kg	Liczba myszy	Liczba przypadków śmiertelnych	LD ₅₀
dwu-2,2-dwumetylo- propanoiloksy	415 830 1660 3320	5 5 5 5	0 0 0 0	3320 mg/kg
dwu-1-adamantyl- karbonyloksy	568 1136 2272 4544	5 5 5 5	0 0 0 0	4544 mg/kg
dwu-n-dekanoiloksy	497 994 1988 3976	5 5 5 5	0 0 0 0	3976 mg/kg
Próba kontrolna	-	5	0	

Z a s t r z e ż e n i e p a t e n t o w e

Sposób wytwarzania nowych 9-/1,3-dwuacyloksy-2-propoksymetylo/-puryn o ogólnym wzorze 1, w którym R¹ i R² oznaczają grupy o wzorze -C(O)/R⁷, w którym R⁷ oznacza atom wodoru, rodnik alkilowy o 1-19 atomach węgla, grupę alkoksyalikilową o 2-9 atomach węgla, rodnik alkenylowy o 2-19 atomach węgla, rodnik fenylowy, rodnik 1-adamantylowy, grupę 2-karboksyetylową lub grupę karboksymetylową, R³ oznacza atom wodoru, atom chlorowca, grupę tio, niższą grupę alkilotio o 1-6 atomach węgla, grupę azydo, grupę o wzorze -NR⁹R¹⁰, w którym R⁹ i R¹⁰ są jednokowe lub różne i oznaczają atomy wodoru lub niższe grupy alkilowe o 1-6 atomach węgla, albo R³ oznacza grupę o wzorze -NHC(O)/R⁸, w którym R⁸ oznacza atom wodoru, rodnik alkilowy o 1-19 atomach węgla lub rodnik 1-adamantylowy, R⁶ oznacza atom wodoru, atom chlorowca, niższą grupę alkoksylową o 1-6 atomach węgla, grupę azydo, grupę tio, niższą grupę alkilotio o 1-6 atomach węgla, grupę o wzorze -NR⁹R¹⁰, w którym R⁹ i R¹⁰ mają wyżej podane znaczenie, albo grupę o wzorze -NHC(O)/R⁸, w którym R⁸ ma wyżej podane znaczenie, a R⁴ i R⁵ razem oznaczają pojedyncze wiązanie, albo R⁴ oznacza atom wodoru i R⁵ razem z R⁶ oznaczają grupę keto, jak również soli tych związków z metalami albo addycyjnych soli z kwasami, z n a m i e n n y t y m, że związek o wzorze 4, w którym R³, R⁴, R⁵ i R⁶ mają wyżej podane znaczenie, poddaje się reakcji z kompleksowym związkiem dwucykloheksylokarbodwuimidu z kwasem karboksylowym, po czym otrzymany związek o wzorze 1 ewentualnie przeprowadza się w jego sól addycyjną z kwasem lub w sól z metalem alkalicznym, albo wytworzoną sól addycyjną z kwasem lub sól z metalem alkalicznym przeprowadza się w wolny związek o wzorze 1.

