

(19) DANMARK



(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT (11) 150304 B



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: 2277/82

(51) Int.Cl.⁴: C 07 D 473/18

(22) Indleveringsdag: 19 maj 1982

(41) Alm. tilgængelig: 22 nov 1982

(44) Fremlagt: 02 feb 1987

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 21 maj 1981 US 267210

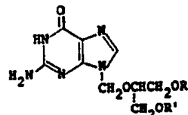
(71) Ansøger: *SYNTEX (U.S.A.) INC.; Palo Alto, US.

(72) Opfinder: Julien P. *Verheyden; US, John C. *Martin; US.

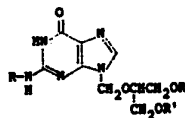
(74) Fuldmægtig: Th. Ostenfeld Patentbureau A/S

(54) Analogifremgangsmåde til fremstilling af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin eller farmaceutisk acceptable salte deraf

(57) Sammendrag:



hvor R' er en beskyttelsesgruppe såsom benzyl, eventuelt substitueret med 1 eller 2 alkoxygrupper, hvor alkyl er som heri defineret, fortrinsvis methoxy, eller lavere alkylgrupper, hvor alkyl er defineret som en ligekædet eller forgrenet carbonhydriddkæde med 1-4 carbonatomer, fortrinsvis methyl, hvorved fås 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin, eller ved at
c) der foretages dearylkylering og dearylering af en forbindelse med den almene formel



hvor R og R' er som ovenfor defineret, hvorved fås 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin, eller ved at

d) 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt, eller ved at

e) et salt af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxy)guanin, eller ved at

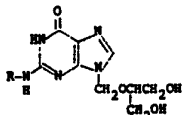
f) et salt af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt heraf.

Mellemproduktet til fremstilling af forbindelsen 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin af forbindelsen med den almene formel IX

2277-82

Der fremstilles forbindelsen 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin og farmaceutisk acceptable salte heraf ved, at

a) der foretages deacylering af en forbindelse med den almene formel

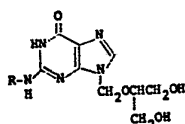


hvor R er defineret som en acylgruppe, R-C=O, hvor R" er en ligekædet eller forgrenet carbonhydriddkæde med 1-10 carbonatomer, hvorved fås 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin, eller at

b) der foretages dearylkylering af en forbindelse med den almene formel

DK 150304 B

2277-82

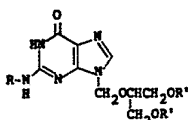


IX

Forbindelsen 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin og de farmaceutisk acceptable salte heraf er nyttige som antivirale midler.

og salte heraf, hvor R er en acylgruppe, $R''C=O$, i hvilken R'' er en ligekædet eller forgrenet carbonhydratkæde med 1-10 carbonatomer. Disse mellemprodukter fremstilles ved at

a) der foretages dearalkylering af en forbindelse med den almene formel VIII



VIII

hvor R er som ovenfor defineret, og R' er en beskyttelsesgruppe såsom benzyl eventuelt substitueret med 1 eller 2 alkoxygrupper, eller lavere alkylgrupper, hvor alkyl er defineret som en ligekædet eller forgrenet carbonhydratkæde med 1-4 carbonatomer, eller ved at

b) en forbindelse med den almene formel VIII omsættes med en Lewis-syre, eller ved at

c) en forbindelse med den almene formel VIII omsættes med eddikesyre, eller ved at

d) en forbindelse med den almene formel IX omdannes til dens salt, eller ved at

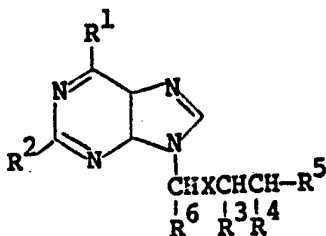
e) saltet dannes til den tilsvarende frie forbindelse med den almene formel IX.

Den foreliggende opfindelse angår en analogifremgangsmåde til fremstilling af det hidtil ukendte 9-1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin eller farmaceutisk acceptable salte deraf, der er nyttige som antivirale midler.

05 Virale infektioner er vidt udbredte og resulterer i meget varierende symptomer. Nogle virale infektioner overvindes let af kroppens forsvarsmekanismer, mens andre af mere alvorlig natur fører til permanent skade, fx blindhed, og endog død. En sådan familie af vira, der kan forårsage alvorlige infektioner, er Herpes virusgruppen.

10 De for tiden anvendte midler til behandling af virusinfektioner er i mange tilfælde ineffektive eller, hvis de er effektive, nødvendige i store og/eller vedvarende doser, der fremkalder alvorlige bivirkninger og/eller toxicitet. Der er derfor brug for et effektivt antiviralt middel, der er effektivt ved lavere doser end de hidtil tilgængelige midler, hvorved chancen for mulige bivirkninger og toxicitet formindskes.

20 USA-Patentskrift nr. 4.199.574 beskriver forbindelser repræsenteret ved den følgende almene formel



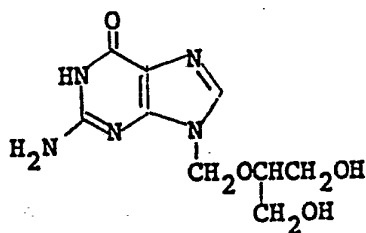
25 hvor X er svovl eller oxygen, R^1 er hydrogen, halogen, hydroxy, alkoxy, azid, thio, alkylthio, amino, alkylamino eller dialkylamino; R^2 er hydrogen, halogen, alkylthio, acylamino, amino eller azid; R^3 er hydrogen, ligekædet eller forgrenet eller cyclisk alkyl, hydroxyalkyl, benzyloxyalkyl eller phenyl; R^4 er hydrogen, hydroxy eller alkyl; R^5 er hydrogen, hydroxy, amino, alkyl, hydroxyalkyl, benzyloxy, benzoyloxy, benzoyloxymethyl, sulfamoyloxy, phosphat, carboxypropionamyloxy, ligekædet eller cyclisk acyloxy med 1-8 carbonatomer som
30 fx acetoxyl eller en substitueret carbamoylgruppe med den almene
35

formel NHCO-Z , hvor Z er alkyl, aryl eller aralkyl eventuelt substitueret med én eller flere sulfonyl, amino, carbamoyl eller halogen; R^5 er hydrogen eller alkyl, med det forbehold, at når X er oxygen og R^2 , R^3 , R^4 og R^6 er hydrogen, er R^1 ikke amino eller methylamino, når R^5 er hydrogen eller hydroxy, eller et salt heraf.

Klassen af forbindelser repræsenteret ved den ovenstående almene formel og de farmaceutisk acceptable syreadditionssalte heraf er beskrevet som havende antiviral aktivitet. Jfr. ligeledes Tetrahedron Letters, 21, 327-30 (1980).

Det har nu overraskende vist sig, at forbindelsen 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin og dens salte er et særlig aktivt antiviralt middel. Forbindelsens selektive aktivitet er særlig tydelig, når forbindelsen sammenlignes med de strukturelt mest beslægtede forbindelser beskrevet i USA-patentskrift nr. 4.199.574 i et antiviralt forsøg, hvilket forsøg i detaljer er vist efter eksemplerne 1-2.

Den foreliggende opfindelse angår derfor en analogifremgangsmåde til fremstilling af forbindelsen 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin, der kan repræsenteres ved formlen I



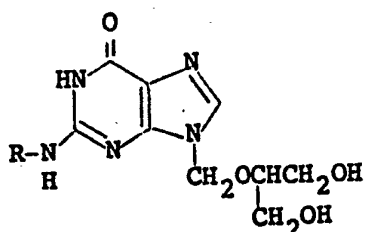
eller farmaceutisk acceptable salte deraf.

De ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser kan formuleres til farmaceutiske præparater. Disse præparater kan indeholde andre farmaceutisk aktive ingredienser med samme indikation. I de fleste tilfælde vil sådanne præparater indeholde hensigtsmæssige farmaceutiske bæremidler eller excipienser.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen er ejendommelig ved, at

a) der foretages deacylering af en forbindelse med den almene formel

05



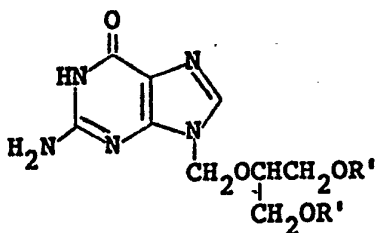
10

hvor R er en acylgruppe, $R''C=O$, hvor R'' er en ligekædet eller forgrenet carbonhydrickæde med 1-10 carbonatomer, hvorefter forbindelsen om ønsket omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt deraf, eller at

15

b) der foretages dearalkylering af en forbindelse med den almene formel

20



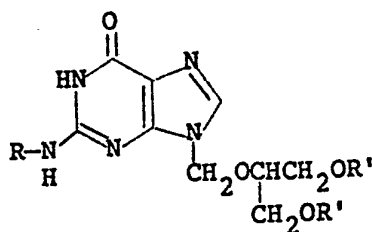
25

hvor R' er en aralkylgruppe, som eventuelt er substitueret med 1 eller 2 alkoxygrupper med 1-4 carbonatomer i alkyl delen, fortrinsvis methoxy, eller C_{1-4} alkylgrupper, hvor alkyl er defineret som en ligekædet eller forgrenet carbonhydrickæde, fortrinsvis methyl, eller ved at

30

c) der foretages samtidig dearylalkylering og deacylering af en forbindelse med den almene formel

35



05

hvor R og R' er som ovenfor defineret, eller ved at

10 d) 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt, eller ved at

e) et salt af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxy)guanin, eller ved at

15

f) et salt af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt heraf.

20

De følgende betegnelser, som anvendt i beskrivelsen, vil, medmindre andet er angivet, have den her anførte betydning.

"Farmaceutisk acceptable salte" refererer til sådanne salte, som har den fri forbindelses biologiske effektivitet og egenskaber, og som ikke er biologisk eller på anden måde uønskede. Saltene kan enten være
 25 syreadditionssalte eller uorganiske metalsalte, fortrinsvis jordalkalimetalsalte. Passende syrer til saltdannelse er uorganiske syrer, såsom saltsyre, brombrintesyre, svovlsyre, salpetersyre, phosphorsyre og lignende, og organiske syrer såsom trifluoreddikesyre, methansulfonsyre, ethansulfonsyre, p-toluensulfonsyre og lignende. Passende
 30 baser til saltdannelse er organiske baser, uorganiske metalbaser såsom kobber eller sølvbaser, og alkalimetalbaser såsom alkalimetalhydroxider, fx natriumhydroxid, kaliumhydroxid og lignende.

35

Forbindelsen fremstillet ved den foreliggende opfindelse og karakteriseret ved formel I i det ovenstående og de farmaceutisk acceptable salte heraf udmærker sig ved opdagelsen af, at 1,3-dihydroxy-2-propoxymethylgruppens substitution i 9-stillingen på guaninkernen overraskende giver en yderst aktiv forbindelse.

Forbindelsen med formelen I og de farmaceutisk acceptable salte heraf udviser stærk antiviral aktivitet, når de indgives til dyr, især pattedyr (ikke-menneskelig eller mennesker), koldblodede dyr såsom fisk, og fugle, fortrinsvis mennesker. Fx udviser forbindelser fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fortræffelig aktivitet mod Herpes Simplex virus I og II og beslægtede vira såsom cytomegalovirus, Epstein-Barr virus og varicella Zoster virus.

Farmaceutiske præparater, både veterinære og humane, indeholdende den til antiviral brug hensigtsmæssige forbindelse fremstilles ved almindeligt kendte metoder, og kan indeholde excipienser, der er velkendte inden for teknikken. Et almindeligt anerkendt kompendium over sådanne metoder og ingredienser er Remington's Pharmaceutical Sciences af E.W. Martin (Mark Publ. Co., 15. udgave, 1975).

På grundlag af de ifølge opfindelsen fremstillede forbindelser kan farmaceutiske præparater også indeholde andre antiviralt aktive substanser. I almindelighed kan det farmaceutiske præparat indeholde 0,1-90 vægtprocent af den aktive substans.

Forbindelserne fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen kan indgives parenteralt (fx ved intravenøs, intraperitoneal eller intramuskulær injektion), oralt, topisk eller rektalt, afhængig af hvorvidt præparatet anvendes til at behandle interne eller eksterne virale infektioner.

Ved interne infektioner indgives præparaterne oralt eller parenteralt i dosisniveauer, beregnet som fri base, på ca. 0,1-300 mg/kg, fortrinsvis 1,0-30 mg/kg pattedyrskropsvægt, og kan hos mennesker anvendes i form af enhedsdosis, indgivet én til fire gange daglig i mængder på 1-250 mg pr. enhedsdosis. Til oral indgivelse kan fine pulvere eller granuler indeholde fortyndings-, dispergerings- og/eller overfladeaktive midler, og kan præsenteres i en mikstur, i vand eller i en sirup; i kapsler eller pakker i tør tilstand eller i en ikke-vandig opløsning eller suspension, hvor suspenderingsmidler kan indbefattes; i tabletter hvor bindemidler og smøremidler kan indbefattes; eller i en suspension i vand eller en sirup. Hvis det er ønskeligt eller nødvendigt kan der indbefattes smagsstoffer, konserveringsmidler, suspenderingsmidler, fortykningsmidler eller emulgeringsmidler. Tabletter og granuler foretrækkes, og disse kan være overtrukne.

Til parenteral indgivelse eller til indgivelse som dråber, som fx øjeninfektioner, kan forbindelserne præsenteres i vandig opløsning i en koncentration på 0,1-10%, fortrinsvis ca. 0,1-7%. Opløsningen kan indeholde antioxidant, puffere, osv.

05

Alternativt ved øjeninfektioner eller infektioner i andre ydre væv, fx munden og huden, vil præparaterne fortrinsvis appliceres topisk på den inficerede del af patientens krop som en salve, creme, aerosol eller pudder, fortrinsvis som en salve eller creme. Forbindelserne kan præsenteres i en salve, fx med en vandopløselig salvebase, eller i en creme, fx med en olie-i-vand cremebase, i koncentrationer på ca. 0,01-10%; fortrinsvis 0,1-7%, især omkring ca. 0,5% w/v. Desuden kan viralinfektion af øjet, såsom Herpetic keratitis, behandles ved anvendelse af et præparat med kontrolleret frigivelse som beskrevet i USA-patentskrift nr. 4.217.898.

15

Præparaterne med indhold af forbindelserne fremstillet ifølge den foreliggende opfindelse er også nyttige ved behandling af ikke-humane pattedyr, fugle som fx kyllinger og kalkuner, og koldblodede dyr såsom fisk. Virale fuglesygdomme såsom New Castle-sygdommen, Marek's sygdom og lignende forhindres og/eller behandles med forbindelser, fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, ved metoder, der er velkendte inden for veterinærteknikken, såsom dypning af de uklækkede æg i en opløsning indeholdende forbindelsen, eller ved tilsætning af forbindelsen fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen til foder eller drikkevand.

20

25

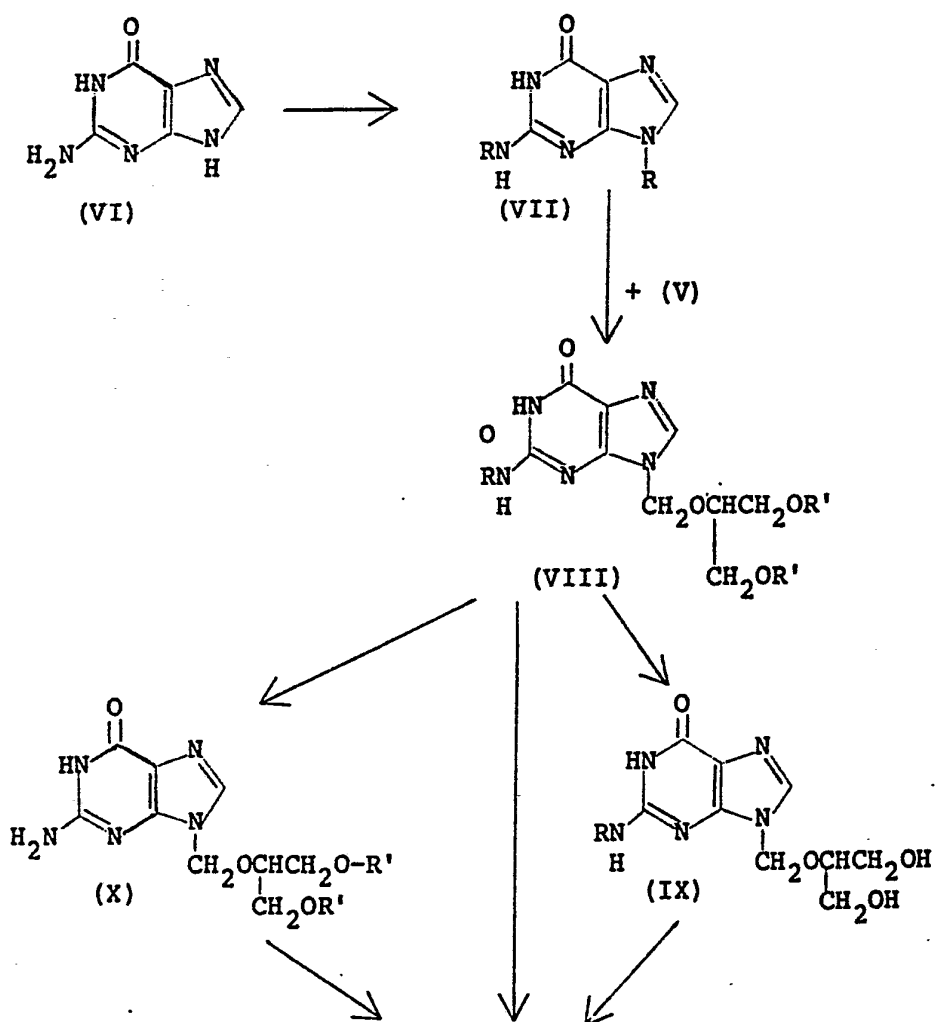
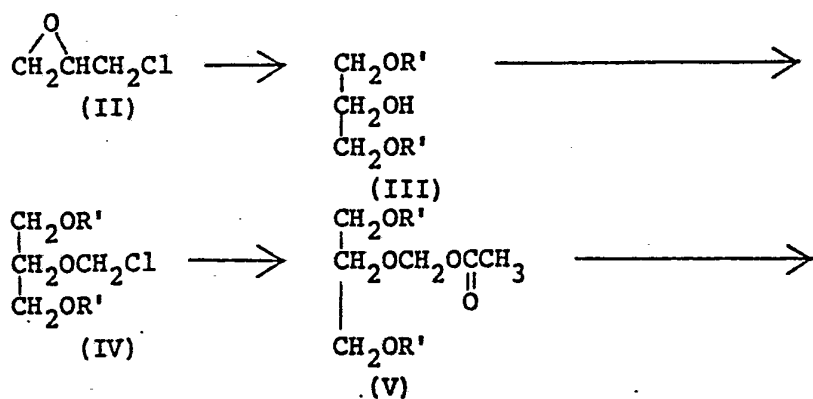
Fisk, der befinder sig i et begrænset område såsom en dam, akvarium eller lagertank, kan også behandles for virusinfektioner såsom herpeslignende vira, fx channel catfish virus (CCV), herpesvirus salomonis, Nerka virus og lignende ved tilsætning af forbindelsen direkte til vandet i dammen, akvariet eller lagertanken eller ved inkorporering af forbindelsen i foderet.

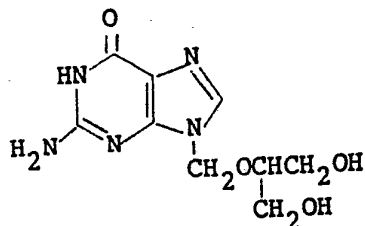
30

Forbindelsen med formlen I kan fremstilles ifølge nedenstående reaktionsskema, hvor R er en acylgruppe, $R^{\prime\prime}C=O$, i hvilken R" er en ligekædet eller forgrenet carbonhydriderkæde med 1-10 carbon-

35

atomer, og R' er en aralkylgruppe, som eventuelt er substitueret med 1 eller 2 alkoxygrupper med 1-4 carbonatomer i alkyliden, fortrinsvis methoxy, eller C₁₋₄ alkylgrupper, hvor alkyl er en ligekædet eller forgrenet carbonhydridkæde, fortrinsvis methyl.





Forbindelsen med den almene formel III fremstilles ved dråbevis til-
sætning af epichlorhydrin II til en opløsning af et alkalimetalsalt, for-
trinsvis natriumsaltet, af benzylalkohol eventuelt substitueret som
5 ovenfor defineret i et opløsningmiddel såsom dimethylformamid, di-
methylacetamid, hexamethylphosphoramid, dimethylsulfoxid, sulfolan,
tetrahydrofuran og dioxan ved en temperatur på ca. 0-100°C, for-
trinsvis ved ca. 15-40°C. Reaktionsblandingen omrøres i ca. 10-24
timer, fortrinsvis ca. 12-18 timer ved en temperatur på ca. 0-100°C,
10 fortrinsvis ca. 20-50°C.

Forbindelsen med den almene formel III chlormethyleres til en forbin-
delse med den almene formel IV ved at boble tør hydrogenchloridgas
gennem en opløsning af forbindelsen og paraformaldehyd opløst i et
halogeneret carbonhydridopløsningsmiddel såsom dichlorethan, chloro-
15 form, dichlormethan og 1,1,2-trichlorethan afkølet til en temperatur
på ca. 0-25°C, fortrinsvis ved en temperatur på omkring 0°C. Hydro-
genchloridgassen tilsættes over en periode på 30 minutter til 3 timer,
fortrinsvis over 1-2 timer indtil paraformaldehydet er opløst. Opløs-
ningen holdes ved en temperatur på ca. 0-10°C i 12-48 timer, for-
20 trinsvis ved ca. 0-5°C i ca. 16-24 timer.

Forbindelsen med den almene formel V fremstilles ved at lade et
alkalimetalacetat, såsom natriumacetat, reagere med forbindelsen med
den almene formel IV opløst i et opløsningsmiddel såsom dimethylform-
amid, tetrahydrofuran, dimethylacetamid, hexamethylphosphoramid,
25 dimethylsulfoxid, sulfolan og dioxan ved en temperatur på ca. 0-45°C,
fortrinsvis ved ca. 0-25°C. Opløsningen omrøres i omkring 5-24 timer,
fortrinsvis ca. 10-18 timer ved en temperatur på ca. 10-30°C, for-
trinsvis ved en temperatur på ca. 15-25°C.

Forbindelsen med den almene formel VII fremstilles ved opvarmning af guanin VI sammen med et carboxylsyreanhydrid med 2-20 carbonatomer såsom eddikesyreanhydrid, smørsyreanhydrid, valeriansyreanhydrid, caprylsyreanhydrid, fortrinsvis eddikesyreanhydrid, i ren form
5 ved tilbagesvalingstemperatur i ca. 10-24 timer, fortrinsvis ca. 12-18 timer.

Forbindelsen med den almene formel VIII dannes ved omsætning af N²,9-diacylguanin med den almene formel VII med forbindelsen med den almene formel V i ren form eller i et opløsningsmiddel såsom
10 dioxan, sulfolan og lignende i nærværelse af en katalytisk mængde af en syre såsom bis(p-nitrophenyl)phosphat, toluensulfonsyre, methylphosphonsyre, eller dichloreddikesyre, fortrinsvis bis(p-nitrophenyl)phosphat ved en temperatur på ca. 75-200°C, fortrinsvis ved ca. 110-180°C. Reaktionen udføres normalt ved anvendelse af 0,8-1,2 mol
15 af forbindelsen V til 1 mol af forbindelsen VII.

Beskyttelsesgrupperne kan begge fjernes på én gang, eller aralkyl og derefter acyl, eller acyl og derefter aralkyl.

Aralkylbeskyttelsesgrupperne (R') kan fjernes først fra forbindelsen
20 med den almene formel VIII ved én af flere metoder; en katalytisk hydrogeneringsreaktion med Lewis-syre eller acetolyse, hvorved fås forbindelsen med den almene formel IX. Den katalytiske hydrogenering udføres generelt i nærværelse af en hydrogeneringskatalysator såsom palladium, platin, rhodium eller nikkel på en bærer såsom carbon og i
25 tilstedeværelse af et for forbindelsen med den almene formel IX inert opløsningsmiddel. Hydrogen tilsættes til opløsningen ved et tryk på $0,1-1,38 \times 10^6$ N/m², fortrinsvis ved et tryk på $0,2-0,55 \times 10^6$ N/m². Reaktionstemperaturen er sædvanligvis i området 0-50°C. Ved de foretrukne betingelser tilsættes palladium på carbon i en opslæmning
30 til en opløsning af forbindelsen med den almene formel VIII opløst i et opløsningsmiddel såsom en vandig lavere alkylalkohol, hvor alkyl er defineret som en ligekædet eller forgrenet carbonhydrid med 1-4 carbonatomer, fortrinsvis vandig methanol.

Forbindelsen med den almene formel I kan fremstilles ved deacylering af forbindelsen IX ved at fjerne beskyttelsesgruppen R efter en metode, der er kendt per se. Denne fjernelse kan effektueres under solvolytiske betingelser, hvorved et hensigtsmæssigt opløsningsmiddel
5 genetablerer aminofunktionen i guaninringsystemets 2-stilling. Sådanne opløsningsmidler omfatter vand eller lavere alkanoler med 1-4 carbon-atomer. Solvolysen kan udføres under sure eller basiske betingelser. Reaktionstemperaturerne vælges sædvanligvis i området 0-50°C, fortrinsvis 10-30°C. Særlig foretrukket er området 15-25°C. Basisk
10 solvolyse foretrækkes. Hensigtsmæssige baser omfatter alkalimetallhydroxider, alkalimetallcarbonater og ammoniak. Lavere alkanoler er de foretrukne opløsningsmidler, især methanol. Ved de foretrukne betingelser omrøres en opløsning af forbindelsen med den almene formel IX og basen i ca. 1-36 timer, fortrinsvis ca. 10-24 timer ved en temperatur på ca. 10-30°C, fortrinsvis ved en temperatur på ca. 15-25°C.
15

Acylbeskyttelsesgruppen kan fjernes først, jfr. de samme betingelser som beskrevet ovenfor.

Aralkylbeskyttelsesgruppen (R') kan fjernes fra forbindelsen med den almene formel X ved en fremgangsmåde kendt per se på en af flere
20 måder; katalytisk hydrogenering, reaktion med Lewis-syrer eller acetylse, hvorved fås forbindelsen med den almene formel I. Den katalytiske hydrogenering udføres generelt i nærværelse af en hydrogeneringskatalysator såsom palladium, platin, rhodium eller nikkel på en bærer såsom carbon og i nærværelse af et for forbindelsen X inert
25 opløsningsmiddel. Hydrogen tilsættes opløsningen ved et tryk på 0,1-1,38 x 10⁶ N/m², fortrinsvis ved et tryk på 0,2-0,55 x 10⁶ N/m². Reaktionstemperaturen er sædvanligvis i området 0-50°C. Under foretrukne betingelser tilsættes palladium på carbon i en opslæmning til en opløsning af forbindelsen med den almene formel X opløst i et
30 opløsningsmiddel såsom en vandig lavere alkylalkohol, hvor alkyl er defineret som en ligekædet eller forgrenet carbonhydridkæde med 1-4 carbonatomer, fortrinsvis vandig methanol.

Både acyl- og aralkylbeskyttelsesgrupperne kan fjernes fra forbindelsen med den almene formel VIII i et trin, hvorved fås forbindelsen
35 med formlen I.

Forbindelsen med den almene formel VIII tilbagesvales (ved en temperatur mellem -25° og 40°C) i en opløsning af natrium i flydende ammoniak, i hvilken natrium er til stede i et lille overskud, hvor der til opløsningen er tilsat en lille mængde af en protonkilde såsom en

5 lavere alkylalkohol, hvor alkyl er en ligekædet eller forgrenet hydrocarbonkæde med 1-4 carbonatomer, fortrinsvis ethanol eller methanol. Ammoniakken afdampes og remanensen tritureres med ammoniumchlorid, hvorved dannes en remanens, der er forbindelsen med formlen I.

- De farmaceutisk acceptable salte af forbindelsen I fremstilles ved at
- 10 omsætte forbindelsen med formlen I med en hensigtsmæssig base eller syre som ovenfor defineret. Denne omdannelse kan udføres i et opløsningsmiddel, hvorved omtrent støkiometrisk ækvivalente mængder af basen eller syren tilsættes forbindelsen med formlen I i et passende inert opløsningsmiddel ved en temperatur på $0-50^{\circ}\text{C}$.
- 15 På samme måde kan forbindelsen med formlen I frigøres fra salte af forbindelserne med formlen I ved tilsætning af en støkiometrisk ækvivalent mængde base til et syreadditionssalt eller tilsætning af syre til et salt af en forbindelse med formlen I med en base, i et opløsningsmiddel ved en temperatur på $0-50^{\circ}\text{C}$.
- 20 Ligeledes kan et salt af forbindelsen med formlen I omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt af formlen I fx ved konventionel dobbeltsaltdekomponering, hvorved anionen eller kationen af udgangssaltet erstattes med den farmaceutisk acceptable anion eller kation. Den dobbelte saltdekomponering udnytter sædvanligvis det faktum, at det
- 25 mindre opløselige salt fremstilles ud fra det mere opløselige salt ved dobbelt dekomponering ved temperaturer på $0-50^{\circ}\text{C}$.

I det følgende beskrives fremstillingen af udgangsmaterialerne og forbindelsen med den almene formel I.

FREMSTILLING 1

Fremstilling af 1,3-di-O-benzylglycerol

- Natriumhydrid (100 g (50% dispersion i mineralsk olie), 2,08 mol) vaskedes to gange med 1 liter hexan og tørredes derefter under nitrogen. Tørt dimethylformamid (1,5 l) tilsættes. Derefter tilsættes benzylalkohol (400 ml) med en sådan hastighed, at temperaturen blev holdt under 50°C. Tilsætningen tog 2 timer. Epichlorhydrin (92,5 g, 1 mol) tilsættes derefter dråbevis over 1/2 time med samtidig isafkøling for at holde temperaturen under 40°C. Opløsningen omrørtes derefter i 16 timer ved 21°C, og derefter i 2 1/2 time ved 50°C. Dimethylformamiden fjernedes derefter ved afdampning ved reduceret tryk. Den olieagtige remanens opløstes i 2,5 liter diethylether. Den organiske opløsning vaskedes med 2 liter vand, 2 liter 2% 's saltsyre, 2 liter 1% natriumbicarbonat og 1 liter saltopløsning, tørredes over natriumsulfat og koncentreredes til en brun olie. Destillationen gav 147,8 g 1,3-di-O-benzylglycerol (kogepunkt 170-180°C 1 torr).

FREMSTILLING 2

Fremstilling af 1,3-di-O-benzyl-2-O-chlormethylglycerol

- Tør hydrogenchloridgas bobledes i 1 1/2 time gennem en opløsning af 1,3-di-O-benzylglycerol fra fremstilling 1 (15 g, 55 millimol) og paraformaldehyd (3,3 g, 110 millimol) i 175 ml 1,2-dichlorethan ved 0°C. Opløsningen henstilledes derefter i en tilproppet kolbe i 21 timer ved 4°C. Derefter tørredes opløsningen over magnesiumsulfat ved opvarmning til 21°C, filtreredes og koncentreredes, hvorved der blev opnået 17,5 g 1,3-di-O-benzyl-2-O-chlormethylglycerol.

FREMSTILLING 3

Fremstilling af 2-O-acetoxymethyl-1,3-di-O-benzylglycerol

- Til en opløsning af 1,3-di-O-benzyl-2-O-chlormethylglycerol fra fremstilling 2 (17,5 g, 55 millimol) i 400 ml dimethylformamid ved 0°C og
- 5 under et tørrerør tilsattes natriumacetat (6 g). Opløsningen opvarmedes derefter til 21°C og omrørtes magnetisk i 15 timer. Opløsningsmidlet fjernedes ved afdampning under reduceret tryk og den olieagtige remanens opløstes i 450 g diethylether. Etheropløsningen vaskedes én gang med 750 ml vand, to gange med 250 ml vand og én gang
- 10 med 250 ml saltopløsning, tørredes over natriumsulfat og koncentreredes, hvorved der blev opnået 19 g 2-O-acetoxymethyl-1,3-di-O-benzylglycerol i form af en olie.

FREMSTILLING 4

Fremstilling af N²,9-diacetylguanin

- 15 Guanin (20 g, 0,132 mol) blev blandet med 300 ml eddikesyreanhydrid, og opløsningen opvarmedes ved tilbagesvaling i 16 timer. Blandingen blev afkølet, og overskuddet af eddikesyreanhydrid fjernedes ved afdampning under reduceret tryk. Remanensen omkrystalliseredes fra dimethylsulfoxid, hvilket gav 25,6 g N²,9-diacetylguanin.

20 EKSEMPEL 1

A) Fremstilling af N²-acetyl-9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxymethyl)-guanin

- N²,9-Diacetylguanin fra fremstilling 4 (15,61 g, 66 millimol), 2-O-acetoxymethyl-1,3-di-O-benzylglycerol fra fremstilling 3 (19 g, 55
- 25 millimol) og bis(p-nitrophenyl)phosphat (0,5 g) blandedes ved omrøring sammen med 150 ml diethylether. Opløsningsmidlet fjernedes ved inddampning, og remanensen opvarmedes i et 175°C oliebad i 1 1/2 timer under en nitrogenstrøm. Søjlechromatografi elueret med

methanol/methylenchlorid (1:9) efterfulgt af omkrystallisering fra ethylacetat gav 4,76 g N²-acetyl-9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxymethyl)guanin, smeltepunkt 145-146°C.

B) Fremstilling af N²-acetyl-9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin

- 5 Til en opløsning af N²-acetyl-9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxymethyl)guanin (4,62 g, 9,67 millimol) i 150 ml methanol og 40 ml vand tilsattes 20% palladiumhydroxid på carbon som en opslæmning i 10 ml vand. Blandingen hydrogeneredes på en Parr hydrogenator ved $0,41 \times 10^6$ N/m² hydrogentryk i 38 timer, filtreredes gennem Celite® og koncentreredes til et fast hvidt stof. Omkrystallisering af methanol/ethyl-
- 10 acetat gav 1,4 g N²-acetyl-9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin, smeltepunkt 205-208°C. Moderluden reduceredes yderligere med 10% palladium på carbon (1 g) i 150 ml methanol og 50 ml vand ved $0,41 \times 10^6$ N/m² i 47 timer. Det totale udbytte af N²-acetyl-9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin var 2,11 g.
- 15

C) Fremstilling af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin

- N²-Acetyl-9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin (721,9 mg, 2,4 millimol) blev omrørt med 50 ml methanolisk ammoniakopløsning (methanol mættet med ammoniak ved 0°C) i 17 timer ved 21°C. Opløsningen
- 20 koncentreredes til et fast hvidt stof, og remanensen omkrystalliseredes fra methanol, hvilket gav 582,3 mg 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin, smeltepunkt 250°C (dekomponering).

D) Fremstilling af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin, natriumsalt

- 9-(1,3-Dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin opløstes i en opløsning af 1
- 25 molækvivalent natriumhydroxid i vand. Opløsningen lyofiliseredes, hvilket gav 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin natriumsalt i form af et hvidt pulver.

EKSEMPEL 2

05 Natriumsaltet af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin opløstes i den mindst mulige mængde vand, og der tilsattes fortyndet saltsyre for at justere pH-værdien til 7. 9-(1,3-Dihydroxy-2-propoxymethyl)gu-
anin, smeltepunkt 250°C (dekomponering) udkrystalliseredes fra opløsningen.

10 Den exceptionelle antivirale aktivitet af forbindelserne fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen illustreres ved det følgende biologiske forsøg:

15 I HEp-2-cellekulturer fremstilledes Herpes simplex virus 2 stamme G til infektion. Virus adsorberedes i 1 time, der anbragtes frisk medium på cellerne, og de inkuberedes derefter ved 35°C, indtil alle celler var inficerede. Cellesuspensionen blev frosset til -70°C, optøet og
centrifugeret for at fjerne cellestumper. Supernatantvæsken opdeltes i portioner og oplagredes frossent ved -70°C, indtil den skulle bruges. En $10^{6,7}$ fortynding af supernatantvæsken fremkaldte en 50% cellekul-
turinficerende dosis (CCID₅₀) i HEp-2-celler og en $10^{3,7}$ fortynding
20 fremkaldte en 50% dødelig infektion (LC₅₀) i mus.

Grupper på 20 Swiss Webster hunmus (15-17 g) blev inficeret intra-
peritonealt ved hjælp af 0,2 ml EMEM indeholdende 10 LC₅₀/mus
virus. Mus inficeret med $10^{0,5}$ mere eller mindre virus end 10 LC₅₀-
25 infektionen tjente som virulentkontrol for at sikre, at modellen virke-
de korrekt.

Behandling med testforbindelser begyndte 6 timer efter inficering. Musene, der var i grupper på 20, blev indgivet forbindelserne sub-
cutant i saltopløsning i mængder på 5 mg/kg, 10 mg/kg og 20 mg/kg.
30 En gruppe på 20 mus brugtes som kontrolgruppe og blev indgivet saltopløsning subcutant. Behandlingen gentoges 24, 48, 72 og 96 timer efter infektion.

35 Testforbindelser var forbindelser fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen samt tre forbindelser beskrevet i USA-patentskrift nr. 4.199.574, der har strukturel lighed med forbindelserne fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

	Testforbindelse	Dosis	Overlevende (af 20) dage efter infektion		
			12	14	21
05	Ubehandlede kontroldyr		0	0	0
	9-(1,3-dibenzoxy-2-propoxy-	5 mg/kg	2	2	2
	methyl)adenin	10 mg/kg	1	0	0
		20 mg/kg	1	1	1
10	9-(1,3-dibenzoxy-2-propoxy	5 mg/kg	2	0	0
	methyl)-6-mercaptopurin	10 mg/kg	0	0	0
		20 mg/kg	1	0	0
	9-(1-hydroxy-2-ethoxy	5 mg/kg	1	1	1
15	methyl)guanin	10 mg/kg	3	3	3
		20 mg/kg	5	4	4
	9-(1,3-dihydroxy-2-propoxy	5 mg/kg	15	14	14
	methyl)guanin	10 mg/kg	19	18	18
20		20 mg/kg	19	18	15

I de ovennævnte resultater viser en sammenligning mellem antallet af overlevende dyr, der er blevet indgivet forbindelsen fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen, og antallet af overlevende dyr, der blev indgivet de tre tidligere kendte forbindelser, klart den overlegne antivirale aktivitet hos forbindelsen fremstillet ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen.

EKSEMPEL 3

30 A) Katalytisk dearylalkylering.

En blanding af 9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxymethyl)guanin (0,87 g, 2 mmol) og 20 % Pd(OH)₂/c (1 g) i ethanol (20 ml) plus cyclohexan (10 ml) opvarmedes til tilbagesvaling i 24 timer. Dernæst fortyndes blandingen med vand (100 ml) og filtreredes, mens den var varm. Filtratet afkøledes, og der opsamledes 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin.

B) Dearylalkylering ved hjælp af en Lewissyre.

- 05 Til en opløsning af 9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxymethyl)guanin
(0,87 g, 2 mmol) i methylenchlorid (100 ml) ved -78°C sættes BBr_3
(4 mmol). Efter 24 timer tilsættes opløsningen methanol (5 ml) og
inddampedes. Remanensen vaskedes to gange med methylenchlorid
10 (20 ml) og omkrystalliseredes dernæst fra vand, hvilket gav
9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin.

EKSEMPEL 4

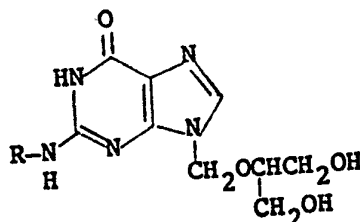
- 15 Samtidig dearylalkylering og deacylering.

- En opløsning af N^2 -acetyl-9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxymethyl)guanin
(0,31 g, 0,65 mmol) i ammoniak (10 ml) plus ethanol (0,1 ml) under
tilbagesvaling behandledes med natrium, indtil opløsningen forblev
20 blå. Reaktionen standsedes med ammoniumchlorid (0,3 g), methanol
tilsættes, og opløsningen inddampedes. Remanensen omkrystalliseres
des fra vand, hvilket gav 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin.

PATENTKRAV

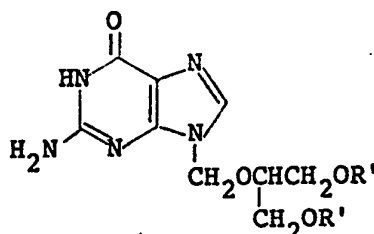
1. Analogifremgangsmåde til fremstilling af 9-(1,3-dihydroxy-2-proxymethyl)guanin eller farmaceutisk acceptable salte deraf, KENDETEGNET ved, at

- a) der foretages deacylering af en forbindelse med den almene formel



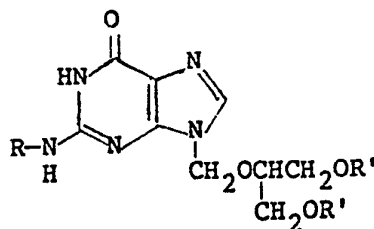
hvor R er en acylgruppe $R''C=O$, hvor R'' er en ligekædet eller forgrenet carbonhydridkæde med 1-10 carbonatomer, hvorefter forbindelsen om ønsket omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt deraf, eller at

- b) der foretages dearalkylering af en forbindelse med den almene formel



hvor R' er en aralkylgruppe, som eventuelt er substitueret med 1 eller 2 alkoxygrupper med 1-4 carbonatomer i alkyliden, fortrinsvis methoxy, eller C_{1-4} alkylgrupper, hvor alkyl er en ligekædet eller forgrenet carbonhydridkæde, fortrinsvis methyl, eller ved at

- c) der foretages samtidig dearylalkylering og deacylering af en forbindelse med den almene formel



- 05
- hvor R og R' er som ovenfor defineret, eller ved at
- d) 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt, eller ved at
 - e) et salt af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxy)guanin, eller ved at
 - f) et salt af 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin omdannes til et farmaceutisk acceptabelt salt deraf.

Fremdragne publikationer:
