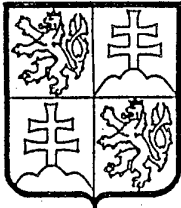


ČESKÁ A SLOVENSKÁ
FEDERATIVNÍ
REPUBLIKA
(19)

PATENTOVÝ SPIS 276 072



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

(21) Číslo přihlášky : 3871-90. M

(22) Přihlášeno : 06 08 90

(30) Prioritní data :

(40) Zveřejněno : 18 03 92

(47) Uděleno : 22 01 92

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 18 03 92

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :

C 07 F 9/40

(73) Majitel patentu : ÚSTAV ORGANICKE CHEMIE A BIOCHEMIE ČSAV,
PRAHA

(72) Původce vynálezu : ALEXANDR PETR ing.,
HOLÝ ANTONÍN RNDr. DrSc.,
DVORÁKOVÁ HANA ing., PRAHA

(54) Název vynálezu : (2R)-2-[Di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-
-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropan
a způsob jeho přípravy

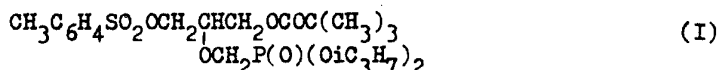
(57) Anotace :

(2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-
-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypro-
pan a způsob jeho přípravy. Látku lze
s výhodou použít k výrobě virostatik (S)-
-N-(3-hydroxy-2-fosfonylmethoxypropyl)de-
rivátů heterocyklických purinových a pyri-
midinových bází.

Vynález se týká (2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropanu, způsobu jeho přípravy a použití k výrobě virostatik (S)-N-(3-hydroxy-2-fosfonylmethoxypropyl)derivátů heterocyklických purinových a pyrimidinových bází.

Mezi látkami s významným účinkem proti virům působícím řadu vážných onemocnění člověka i zvířat zaujímá významné místo skupina (S)-N-(3-hydroxy-2-fosfonylmethoxypropyl)-derivátů heterocyklických purinových a pyrimidinových bází (HPMP-derivátů). Tyto látky byly dosud připravovány z (S)-N-(2,3-dihydroxypropyl)derivátů purinových a pyrimidinových bází zejména reakcí jejich 3'-O-chlormethylfosfonyl esterů s vodnými roztoky hydroxidů alkalických (čs. autorské osvědčení č. 233665) nebo z N,O³-ditritylderivátů reakcí s dialkylestery kyseliny p-toluensulfonyloxymethanfosfonové nebo methansulfonyloxymethanfosfonové (R. R. Webb R. R., J. C. Martin: Tetrahedron Lett. 28, 4963 (1987)) v přítomnosti hydridu sodného následovanou odstraněním chránicích skupin postupně kyselou nebo alkalickou hydrolyzou a nakonec bromtrimethylsilanem (A. Holý, H. Dvořáková, I. Rosenberg: Collect. Czech. Chem. Commun. 54, 2470 (1989)). Nevýhodou tohoto postupu je nutnost předchozí přípravy opticky aktivního (S)-N-(2,3-dihydroxypropyl)derivátu (A. Holý, Collect. Czech. Commun. 40, 187 (1975); Collect. Czech. Chem. Commun. 43, 3103 (1978)) případně jeho více-
stupňové chránění (A. Holý, I. Rosenberg, Collect. Czech. Chem. Commun. 52, 2775 (1987); A. Holý, H. Dvořáková, I. Rosenberg, Collect. Czech. Chem. Commun. 54, 2470 (1989)). Jiným možným řešením je kondenzace heterocyklické báze (jejího silylderivátu nebo alkalické soli) s vhodným opticky aktivním organofosforečným synthonem, který má preformovanou strukturu postranního řetězce HPMP-derivátu. Takový přístup používá např. chránicí skupiny benzylové, která je stabilní v průběhu přípravy synthonu i další kondenzaci; nevýhodou tohoto postupu je nutnost odstraňovat tuto skupinu hydrogenací, která v některých případech destruuje heterocyklickou bázi, snižuje výtěžek reakce a komplikuje izolaci čistého produktu (J. J. Bronson, I. Ghazzouli, M. J. M. Hitchcock, R. R. Webb, J. C. Martin: J. Med. Chem. 32, 1457 (1989)).

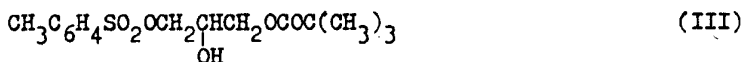
Tuto nevýhodu odstraňuje předmětný vynález (2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropanu vzorce I



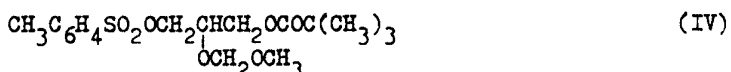
a způsobu jeho přípravy, vyznačujícího se tím, že se (2R)-3-O-p-toluensulfonyloxy-1,2-propanediol vzorce II



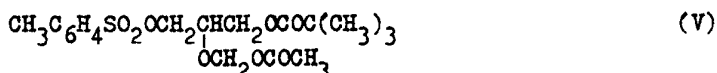
uvede do reakce s ekvimolárním množstvím N-trimethylacetylimidazolu v přítomnosti terciárního aminu, s výhodou triethylaminu, v inertním organickém aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dichlormethanu, získaný (2R)-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxy-2-propanol vzorce III



se uvede do reakce s dimethoxymethanem v přítomnosti oxidu fosforečného v inertním organickém rozpouštědle, s výhodou v dichlormethanu a získaný (2R)-2-methoxymethoxy-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropan vzorce IV



se uvede do reakce s anhydridem kyseliny octové v přítomnosti Lewisovy kyseliny, s výhodou etherátu fluoridu boritého při teplotě -5 °C až +5 °C, získaný (2R)-2-acetoxymethoxy-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropan vzorce V



se zahřívá s bromtrimethylsilanem na teplotu 100 °C až 120 °C s výhodou v toluenu, po odpa-

ření těkavých složek ve vakuu se zbytek zahřívá s tri(2-propyl)fosfitem na teplotu 100 °C až 120 °C a látka vzorce I se izoluje chromatografií nebo molekulární destilací.

Dále je předmětem vynálezu způsob použití látky vzorce I k přípravě (S)-N-(3-hydroxy-2-fosfonylmethoxypropyl)derivátů heterocyklických purinových a pyrimidinových bází obecného vzorce VI



kde B je purin-9-ylový, purin-7-ylový, pyrimidin-1-ylový, pyrimidin-3-ylový zbytek a jejich aza i deazaanalogy, vyznačující se tím, že se látka vzorce I uvede do reakce se sodnou solí purinové nebo pyrimidinové heterocyklické báze nebo jejího aza či deazaanalogu, nebo se směsí této báze a uhličitanu alkalického kovu, s výhodou uhličitanu sodného, draselného nebo cesného, a to v dimethylformamidu při teplotách 60 °C až 120 °C, směs se po odpaření rozpouštědla ve vakuu zpracuje nejprve methoxidem sodným v methanolu a poté bromtrimethylsilanem v inertním organickém rozpouštědle, s výhodou v acetonitrilu, načež se produkt obecného vzorce VI získá chromatografií, s výhodou na ionexech.

Problémem k řešení při návrhu organofosforečného synthonu vhodného pro přípravu HPMP-derivátů obecného vzorce VI je (a) volba vhodné reaktivní skupiny schopné substituovat aktivovanou formu heterocyklické báze, (b) volba vhodné chránicí skupiny na primární hydroxylové funkci, kterou by bylo možno jednoznačně regiospecificky zavést a po reakci odstranit způsobem nedestruujícím produkt vzorce VI, (c) volba vhodných esterových chránicích skupin na zbytku fosfonové kyseliny, (d) provedení celé sekvence syntézy chirálního synthonu ze snadno dostupné chirální sloučeniny a se zachováním optické čistoty synthonu i konečného produktu s (2S)-konfigurací a (e) možnost provedení kondenzace synthonu s bází a celého dalšího zpracování jak ve velkém měřítku, tak i v mikroměřítku za podmínek vhodných pro přípravu látek značených radionuklidy.

Z výsledků dřívějších prací je pro požadovanou N-substituci heterocyklických bází zřejmě výhodné použití chlor-, p-toluensulfonyloxy nebo methansulfonyloxy skupiny jako reaktivní skupiny v synthonu I. p-Toluensulfonyloxyderiváty jsou snadno dostupné z alkoholů a dobře se čistí. Proto se jako výchozí surovina pro přípravu synthonu I s výhodou použije chirální (R)-3-p-toluensulfonyloxy-1,2-propandiol vzorce II, který lze snadno připravit z (R)-4-hydroxymethyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxolanu (2,3-O-isopropyliden-D-glycerolu) postupně tosyací (A. Holý: Collect. Czech. Chem. Commun. **40**, 187 (1975)) a kyselou hydrolyzou.

K této reakci lze s výhodou použít kyselého katexu (např. Dowexu 50 x 8) v H⁺-formě, čímž se výrazně zjednoduší zpracování. Tak např. se směs 50 g (R)-4-p-toluensulfonyloxymethyl-2,2-dimethyl-1,3-dioxolanu a 10 g Dowexu 50 x 8 (H⁺-forma) v 200 ml methanolu míchá 7 h při 60 °C, odpaří se ve vakuu a zbytek se v chloroformu filtruje přes sloupec 100 ml silikagelu, filtrát se vysuší síranem hořečnatým, filtruje a filtrát se odpaří při 40 °C/2 kPa. Získá se 41,4 g (96 %) sirupovitého (R)-3-p-toluensulfonyloxy-1,2-propandiolu (II) zcela čistého podle chromatografie na tenké vrstvě silikagelu ve směsi chloroform-methanol, 19:1. $[\alpha]_D^{20} = -10,0^\circ$ (c=5,0, methanol).

Chránicí skupina primární hydroxylové skupiny v synthonu musí být stabilní za podmínek následné reakční sekvence. Tyto podmínky splňuje trimethylacetyllová skupina, kterou lze odštěpit teprve methanolysou. Selektivní trimethylacetylací látky II na primární hydroxylové skupině lze s výhodou provést N-trimethylacetylimidazolem, získaným působením trimethylacetylchloridu na dva ekvivalenty imidazolu v chloroformu. Tento produkt je natolik stálý, že může být zbaven hydrochloridu imidazolu z chloroformového roztoku extrakcí vodou. Tak např. se ke směsi 12,1 g trimethylacetylchloridu v 200 ml chloroformu přidá 13,6 g imidazolu, míchá se 2 h při teplotě místnosti, extrahuje se ledovou vodou (3 x 50 ml), suší síranem hořečnatým a chloroform se odpaří ve vakuu. Získá se 14,1 g (93 %) N-trimethylacetylimidazolu.

Reakce látky II s tímto imidazolidem probíhá při teplotě místnosti v methylenchloridu

v přítomnosti triethylaminu poměrně pomalu, ale selektivně na primární hydroxylové skupině za vzniku produktu vzorce III. Jako vedlejší produkt této reakce vzniká v malém množství (<3 %) 1,2-disubstituovaný derivát, který lze snadno odstranit po odpaření chromatografií odparku směsi na silikagelu chloroformem. Reakce látky II s trimethylacetylchloridem v přítomnosti triethylaminu probíhá sice výrazně rychleji, ale i při 0 °C vzniká jako vedlejší produkt 6% 1,2-disubstituovaného derivátu a 2 % nežádoucího isomerního 2-O-trimethylacetylderivátu.

Zavedení fosfonylmethyletherové funkce na hydroxylovou skupinu v poloze 2 látky III se provede nepřímou cestou, vycházející z klíčového meziproductu, 2-methoxymethyletheru vzorce IV. Ten se z látky III snadno připraví kyselé katalyzovanou reacetací dimethoxymethanem v přítomnosti oxidu fosforečného. Reakce je sice heterogenní, ale produkt IV se získá ve vysokém výtěžku chromatografií organické (methylenchloridové fáze).

Methoxymethylskupina v látce IV se nechá reakcí s anhydridem kyseliny octové v přítomnosti Lewisovy kyseliny, např. etherátem fluoridu boritého, transformovat na acetoxy-methylderivát V, který se ihned dále převede působením bromtrimethylsilanu na reaktivní 2-brommethylether. Tato reakce probíhá i při poměrně vysoké teplotě pomalu, její průběh je nutné sledovat tenkovrstvou chromatografií. Rozpouštědlo a acetoxytrimethylsilan se odpaří ve vakuu a surový produkt se bezprostředně nechá reagovat s trialkylfosfitem. Jako nejvhodnější se jeví použití tri(2-propyl)fosfitu, který je dostatečně reaktivní, 2-brompropan vznikající při reakci je snadno těkavý a lze ho odstraňovat, a vzniklý di(2-propyl)ester fosfonové kyseliny v synthonu vzorce I není schopen sám alkylace heterocyklických bází, jak to činí např. ethyl nebo zvláště methylestery. Synthony analogické látce I s jinými esterovými funkcemi, např. dimethyl, diethyl, di(2,2-dimethylpropyl)estery a pod. mohou však být připraveny obdobnou reakcí s příslušným trialkylfosfitem. Tato reakce probíhá hladce a po jejím ukončení a odpaření těkavých složek se konečný produkt, synthon I, získá chromatografií na silikagelu.

Všechny stupně této reakční sekvence přípravy látky I probíhají s vysokými výtěžky, takže konečný výtěžek vztažený na výchozí látku II přesahuje 40 %. Reakční stupně nevyžadují zvláštních surovin ani zařízení, optická čistota konečného produktu I je určena optickou čistotou látky II.

Dokladem je optická čistota známých látek vzorce VI, které se ze synthonu I připraví kondenzací se sodnou solí heterocyklické báze. Reakce probíhá v dimethylformamidu se suspenzí sole získané in situ reakcí báze s ekvimolárním množstvím hydridu sodného. Použije se ekvimolárního množství látky I a reakce se provede při 80 °C až 100 °C za vyloučení přístupu vlhkosti. U pyrimidinových derivátů je nejdůležitější zabezpečit průběh reakce v poloze N1, čehož se nejlépe dosáhne užitím O⁴-alkyl-2-pyrimidonů. Vzniklé N1-substituované deriváty mohou pak být využity dvojím způsobem: kyselou hydrolyzou vodnou minerální kyselinou nebo např. zředěnou kyselinou octovou vznikají deriváty uracilu nebo thyminu, kdežto amonolýzou, např. alkoholickými roztoky amoniaku (nebo primárních či sekundárních aminů) za zvýšené teploty v tlakové nádobě se hladce převedou na deriváty cytosinu, 5-methylcytosinu, resp. jejich N-substituovaných analogů. V purinové řadě probíhá alkylace látkou vzorce I u některých bází (např. adenin, 2,6-diaminopurin, 6-methylthiopurin, 3-deazaadenin) jednotně do polohy N9, u jiných (hypoxanthin) do polohy N7, v ostatních případech (např. guanin, 2-aminopurin, 1-deazaadenin) vzniká směs N9- a N7-isomerů. V takových případech je nutno volit nepřímé způsoby, založené na dodatečné konverzi heterocyklické báze u látek obecného vzorce VI nebo jejich na bázi modifikovaných prekursorů. Tak je tomu při přípravě hypoxanthinového nebo xanthinového derivátu deaminací sloučeniny, obsahující kruh adeninový nebo guaninový působením kyseliny dusité nebo jejích esterů, nebo při syntéze 2-hydroxyadeninového derivátu specifickou deaminací sloučeniny I odvozené od 2,6-diaminopurinu. Guanin-9-ylový derivát i jeho N7-isomer se získají snadno hydrolyzou sloučeniny, získané z 2-amino-6-chlorpurinu. Z téhož meziproductu lze připravit 2-amino-6-substituované deriváty: např. přes 2-amino-6-azidopuronový derivát se získá hydrogenací derivát 2,6-diaminopurinu.

Intermediát získaný kondenzací látky I s bázi se buď izoluje chromatografií a dále zpracuje podle níže uvedeného způsobu, nebo se reakční směs zpracuje přímo methanolýzou (odštěpí se trimethylacetyl skupina). Tato směs se deionizuje, např. na sloupci katexu (např. Dowexu 50) v H^+ -cyklu a izoluje se di(2-propyl)ester látky VI, dostatečně stabilní, aby snesl bez rozkladu např. eluci zředěným (1 : 10) vodným amoniakem z ionexu. Esterové skupiny se z tohoto meziproductu po vysušení odštěpí reakcí s bromtrimethylsilanem např. v acetonitrilu a po odpaření, hydrolyze zbytku a deionizací se čistý produkt vzorce VI izoluje ionexovou chromatografií nebo preparativní chromatografií na hydrofobisovaném silikagelu.

Optická čistota takto připravených látek vzorce VI se prokáže např. pomocí HPLC v 4 mM síranu měďnatém a 4 mM L-fenylalaninu při pH 3,1. Výše uvedený postup poskytuje látky VI s optickou čistotou >95 %.

V dalším je předmět vynálezu doložen příklady provedení, aniž se tím jakkoli omezuje.

Příklad 1

K roztoku 41,4 g (168 mmol) (2R)-3-O-p-toluensulfonyloxy-1,2-propandiolu a 25,6 g N-trimethylacetylimidazolu v 250 ml suchého dichlormethanu se přidá 20 ml triethylaminu a směs se ponechá stát 7 dní při teplotě místnosti (do vymizení výchozí látky podle chromatografie na destičkách silikagelu (dále TLC) (např. Silufol UV254) v soustavě (S1) chloroform-methanol (95 : 5) ($R_F = 0,45$). Přidá se 10 ml methanolu, odpaří ve vakuu a zbytek se v 50 ml chloroformu filtruje přes sloupec 400 ml silikagelu chloroformem. Odpaří se a suší ve vakuu. Získá se 48,3 g (146 mmol, 88 %) (2R)-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxy-2-propanolu, $[\alpha]_D^{20} = -2,0^\circ$ ($c = 0,5$, chloroform). K tomuto produktu v 300 ml dichlormethanu se přidá 25 ml dimethoxymethanu a za míchání se přisype 13 g (90 mmol) oxidu fosforečného. Míchá se 30 min, směs se filtruje přes vrstvu křemeliny, promyje se chloroformem (200 ml), filtrát se odpaří ve vakuu a v 50 ml chloroformu se filtruje přes sloupec 200 ml silikagelu chloroformem. Získá se 48,1 g (128,5 mmol, 88 %) (2R)-2-methoxymethoxy-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropanu, $[\alpha]_D^{20} = -2,0^\circ$ ($c = 0,58$, chloroform), TLC v S1, $R_F = 0,70$. K tomuto produktu se přidá 17 ml anhydridu kyseliny octové, ochladí se na $0^\circ C$, přidá 4,4 ml etherátu fluoridu boritého a míchá se 2 h při $0^\circ C$. Směs se vlije do suspenze 20 g hydrogenuhličitanu sodného ve 100 ml ledové vody, extrahuje se 3 x 30 ml etheru, spojené extrakty se vytřepou nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (20 ml), vodou (20 ml) a suší se síranem hořečnatým. Směs se filtruje, promyje etherem (50 ml) a filtrát se odpaří ve vakuu. Získá se 49,7 g (123,5 mmol, 96 %) (2R)-2-acetoxymethoxy-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropanu, $[\alpha]_D^{20} = -3,0^\circ$ ($c = 0,47$, chloroform). K tomuto produktu se přidá 100 ml toluenu a 28,4 ml bromtrimethylsilanu a směs se zahřívá v refluxu pod zpětným chladičem s chlorkalciovým uzávěrem v atmosféře argonu 48 h (do vymizení předchozí látky podle TLC v soustavě S1. Pak se teplota sníží na $40^\circ C$, ve vakuu se odpaří, kódestiluje s toluenem (50 ml) pod argonem, přidá se 30,8 ml tri(2-propyl)fosfitu a směs se zahřívá za míchání 2 h na $100^\circ C$. Průběh se kontroluje TLC v chloroformu (S2). Směs se odpaří ve vakuu, kódestiluje s toluenem (50 ml) a zbytek v 50 ml chloroformu se filtruje přes sloupec 200 ml silikagelu směsí chloroformu s rostoucí koncentrací ethylacetátu (do 20 %). Po odpaření ve vakuu a sušení se získá 52 g (102 mmol, 83 %) (2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropanu, $[\alpha]_D^{20} = 0,5$, ($c = 0,40$, chloroform).

Příklad 2

Směs 0,27 g (2 mmol) adeninu a 0,048 g hydridu sodného v 5 ml dimethylformamidu se zahřívá 1 h na $80^\circ C$, přidá se roztok 1,16 g (2 mmol) (2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropanu v 5 ml dimethylformamidu a směs se zahřívá 50 h na $100^\circ C$. Odpaří se ve vakuu a zbytek se čistí chromatografií na silikagelu chloroformem s rostoucí koncentrací methanolu (do konečné koncentrace 5 %, v/v). Získaný produkt (TLC v S3, chloroform-methanol, 4 : 1, $R_F = 0,80$) se po odpaření rozpustí v 5 ml methanolu, přidá se 2 ml 0,1M methoxidu sodného v methanolu a směs se míchá 5 h. Neutralizuje se přidáním katexu (Dowexu 50) v H^+ -formě, suspenze se nanese na 20 ml téhož ionexu, promyje se

vodou do poklesu UV-absorbce eluátu při 254 nm na původní hodnotu a pak se sloupec eluuje zředěným (1 : 10, v/v) vodným amoniakem. Jímá se UV-absorbující eluát, odpaří se a vysuší ve vakuu. K odparku se přidá 8 ml acetonitrilu a 0,7 ml bromtrimethylsilanu, směs se ponechá stát 24 h při teplotě místnosti, znovu se odpaří, k destiluje s acetonitrilem (5 ml), k odparku se přidá voda (20 ml) a triethylamin (2 ml) a směs se ponechá stát 30 min. Odpaří se ve vakuu a zbytek se v 10 ml vody vnese na sloupec 20 ml katexy (Dowexu 50) v H⁺-formě. Produkt se deionisuje stejně jako je uvedeno výše a získaný surový odparek látky VI se rozpustí v 10 ml vody, alkalizuje se amoniakem na pH 9 až 10 a tento roztok se vnese na sloupec (20 ml) anexu (Dowexu 1) v acetátové formě. Sloupec se promyje vodou do poklesu UV-absorbce eluátu při 254 nm na původní hodnotu a pak se eluuje lineárním gradientem kyseliny octové (do 0,5 M, celkový objem 500 ml). Jímá se hlavní UV-absorbující pík, odpaří se, k destiluje vodou a krystaluje z vody přidáním ethanolu (5 obj. dílů). Produkt se odsaje, promyje ethanolem a etherem a vysuší ve vakuu. Získá se 0,55 g (64 %) 9-(S)-(2-fosfonylmethoxy-3-hydroxypropyl)adeninu (volná kyselina), podle HPLC analýzy (viz výše) obsahuje <4,5 % (R)-enantiomeru. $[\alpha]_D^{20} = -23,5^\circ$ (c = 5,1, 0,1 M HCl). Pro C₉H₁₄N₅O₅P.H₂O (321,2) vypočteno: 33,65 % C, 5,02 % H, 21,79 % N, 9,65 % P; nalezeno 33,56 % C, 4,96 % H, 21,84 % N, 9,79 % P.

Příklad 3

Směs 0,24 g 4-methoxy-2-pyrimidonu a 48 mg hydridu sodného v 5 ml dimethylformamidu se zahřívá 1 h na 80 až 90 °C, přidá se 1,16 g (2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypopropanu v 5 ml dimethylformamidu a směs se zahřívá 50 h na 100 °C. Odpaří se ve vakuu a zbytek se čistí chromatografií na silikagelu chloroformem s rostoucí koncentrací methanolu (do konečné koncentrace 5 %, v/v). Získaný produkt se po odpaření rozpustí v 5 ml 30% methanolického amoniaku a směs se zahřívá v zatavené ampuli 12 h na 100 °C. Po odpaření ve vakuu se směs vysuší ve vakuu. K odparku se přidá 8 ml acetonitrilu a 0,7 ml bromtrimethylsilanu, směs se ponechá stát 24 h při teplotě místnosti, znovu se odpaří, k destiluje s acetonitrilem (5 ml), k odparku se přidá voda (20 ml) a triethylamin (2 ml) a směs se ponechá stát 30 min. Další zpracování se provede podle příkladu 2. Získá se 0,22 g (37 %) 1-(S)-(2-fosfonylmethoxy-3-hydroxypropyl)cytosinu (volná kyselina), podle HPLC analýzy (viz výše) obsahuje <3 % (R)-enantiomeru. Pro C₈H₁₄N₃O₆P.H₂O (297,3) vypočteno: 32,32 % C, 5,43 % H, 14,14 % N, 10,44 % P; nalezeno: 32,56 % C, 4,96 % H, 13,84 % N, 10,3 % P.

Příklad 4

Směs 237,3 mg cytosinu (2,1 mmol) a 340 mg (2,1 mmol) uhličitanu cesného v 6 ml dimethylformamidu se míchá 2 h na 110 °C, přidá se 1,16 g (2,1 mmol) (2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypopropanu v 5 ml dimethylformamidu a směs se zahřívá 72 h na 100 °C. Odpaří se ve vakuu a zbytek se čistí chromatografií na silikagelu chloroformem s rostoucí koncentrací methanolu. Další zpracování (reakce s bromtrimethylsilanem, deionizace a čištění na anexu) se provede podle příkladu 2. Získá se 0,33 g (52 %) 1-(S)-(2-fosfonylmethoxy-3-hydroxypropyl)cytosinu (volná kyselina), podle HPLC analýzy (viz výše) obsahuje <1 % (R)-enantiomeru.

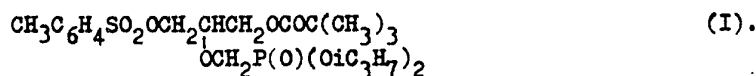
Příklad 5

Směs 1,3 g (10 mmol) 3-deazaadeninu, 400 mg 60% disperze hydridu sodného (10 mmol) v parafinu a 35 ml dimethylformamidu se míchá 1 h při 80 °C. Přidá se 5,6 g (11 mmol) (2R)-2-[di(2-propyl)fosfonylmethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypopropanu a směs se zahřívá 32 h na 100 °C. Odpaří se ve vakuu a zbytek se k destiluje toluenem (3 x 50 ml) ve vakuu. Odparek se adsorbuje na 25 ml silikagelu a čistí chromatografií na 100 ml sloupci silikagelu chloroformem s rostoucí koncentrací ethanolu; produkt se eluuje směsí chloroform-ethanol (48 : 2). Získá se 2,2 g (47 %) olejovitého di(2-propyl)esteru 9-(S)-(2-fosfonylmethoxy-3-hydroxypropyl)-N6-benzoyl-3-deazaadeninu. Tento produkt se ponechá stát 20 h při 20 °C s 20 ml 0,1 mol.l⁻¹ methoxidu sodného v methanolu, neutralizuje se přidáním Dowexu 50 x 8 (H⁺-forma), suspenze se alkalizuje triethylaminem, filtruje, promyje

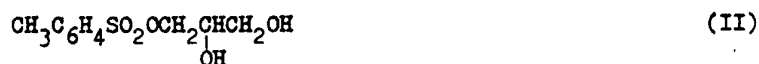
methanolem (200 ml) a filtrát se odpaří ve vakuu. Získá se 1,78 g (4,6 mmol) di(2-propyl)-esteru 9-(S)-(2-fosfonymethoxy-3-hydroxypropyl)-3-deazaadeninu. Přidá se 50 ml acetonitrilu a 5 ml bromtrimethylsilanu a roztok se ponechá stát při 20 °C 20 h. Znovu se odpaří, k destiluje s acetonitrilem (3 x 25 ml), k odparku se přidá voda (50 ml) a triethylamin do pH 8, a směs se ponechá stát 1 h. Odpaří se ve vakuu a zbytek se v 20 ml vody vnese na sloupec 100 ml katexu (Dowexu 50) v H⁺-formě. Produkt se deionizuje stejně jako je uvedeno v příkladu 2 a získaný surový odparek se rozpustí v 20 ml vody, alkalizuje se amoniakem na pH 9 až 10 a tento roztok se vnese na sloupec (100 ml) anexu (Dowexu 1) v acetátové formě. Sloupec se promyje vodou do poklesu UV-absorbce eluátu při 254 nm na původní hodnotu a pak se eluuje 0,5 mol.l⁻¹ kyselinou octovou. Jímá se hlavní UV-absorbující pík, odpaří se, k destiluje vodou a krystaluje z vody přidáním ethanolu (5 obj. dílů). Produkt se odsaje, promyje ethanolem a etherem a vysuší ve vakuu. Získá se 0,56 g (41 %) 9-(S)-(2-fosfonymethoxy-3-hydroxypropyl)-3-deazaadeninu (volná kyselina), podle HPLC analýzy (viz výše) obsahuje <4,5 % (R)-enantiomeru. $[\alpha]_D^{20} = -16,8^\circ$ (c = 0,5, 0,1 M HCl). Pro C₁₀H₁₃N₄O₅P.3H₂O (354,3) vypočteno: 15,80 % N, 8,75 % P; nalezeno: 14,71 % N, 8,75 % P. UV-Spektrum (pH 2): $\lambda_{\max} 262 \text{ nm}$ ($\epsilon_{\max} 11600$).

P A T E N T O V É N Á R O K Y

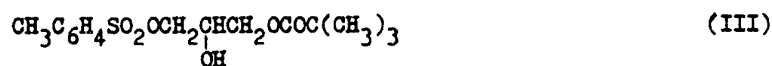
1. (2R)-2-[Di(2-propyl)fosfonymethoxy]-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropan vzorce I



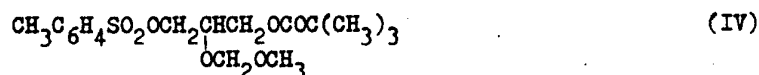
2. Způsob přípravy látky vzorce I podle bodu 1, vyznačující se tím, že se (2R)-3-O-p-toluensulfonyloxy-1,2-propandiol vzorce II



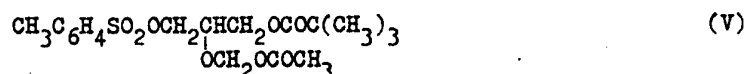
uvede do reakce s ekvimolárním množstvím N-trimethylacetylimidazolu v přítomnosti terciárního aminu, s výhodou triethylaminu, v inertním organickém aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dichlormethanu, získaný (2R)-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxy-2-propanol vzorce III



se uvede do reakce s dimethoxymethanem v přítomnosti oxidu fosforečného v inertním organickém rozpouštědle, s výhodou v dichlormethanu a získaný (2R)-2-methoxymethoxy-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropan vzorce IV



se uvede do reakce s anhydridem kyseliny octové v přítomnosti Lewisovy kyseliny, s výhodou etherátu fluoridu boritého při teplotě -5 °C až +5 °C, získaný (2R)-2-acetoxymethoxy-3-p-toluensulfonyloxy-1-trimethylacetoxypropan vzorce V



se zahřívá s bromtrimethylsilanem na teplotu 100 °C až 120 °C s výhodou v toluenu, po odpaření těkavých složek ve vakuu se zbytek zahřívá s tri-(2-propyl)fosfitem na teplotu 100 °C až 120 °C a látka vzorce I se izoluje chromatografií nebo molekulární destilací.

3. Způsob přípravy (S)-N-(3-hydroxy-2-fosfonymethoxypropyl)derivátů heterocyklických

purinových a pyrimidinových bází obecného vzorce VI



kde B je purin-9-ylový, purin-7-ylový, pyrimidin 1-ylový, pyrimidin-3-ylový zbytek a jejich aza i deazaanalogy, vyznačující se tím, že se látka vzorce I uvede do reakce se sodnou solí purinové nebo pyrimidinové heterocyklické báze nebo jejího aza či deazaanalogu, nebo se směsí této báze a uhličitanu alkalického kovu, s výhodou uhličitanu sodného, draselného nebo cesného, a to v dimethylformamidu při teplotách 60 °C až 120 °C, směs se po odpaření rozpouštědla ve vakuu zpracuje nejprve methoxidem sodným v methanolu a poté bromtrimethylsilanem v inertním organickém rozpouštědle, s výhodou v acetonitrilu, načež se produkt obecného vzorce VI získá chromatografií, s výhodou na ionexech.