

Настоящее изобретение относится к анти-вирусным препаратам и, главным образом, к производным ациклических нуклеозидов, находящим применение в борьбе с герпесом и ретровирусными инфекциями. Настоящее изобретение предусматривает новые соединения, фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, способы лечения или профилактики вирусных инфекций с их использованием, способы их получения, а также способы получения новых промежуточных соединений.

Практическое использование ациклических нуклеозидов ограничено их относительно умеренным фармакокинетическими свойствами. В общем плане, для решения такой проблемы был применен ряд подходов с использованием пролекарств, целью которых являлось улучшение биоприменимости ациклических нуклеозидов. Один из таких подходов заключается в получении сложноэфирных производных, особенно алифатических сложных эфиров, одной или более гидроксигрупп ациклической боковой цепи.

В Европейском патенте EP 165 289 описывается перспективный антигерпесный агент 9-[4-гидрокси-(2-гидроксиметил)бутил]гуанин, известный под названием H2G. В Европейском патенте EP 186 640 описывается 6-деокси H2G. В Европейском патенте EP 343 133 указывается, что такие соединения, особенно R(-)-энантиомер, также обладают активностью против таких ретровирусных инфекций, как HIV. Различные производные H2G, такие как фосфонаты, алифатические сложные эфиры (например, диацетат и дипропионат), а также простые эфиры по гидроксигруппам ациклической боковой цепи раскрыты в EP 343 133. В указанном патенте также описываются способы получения таких производных, заключающиеся в конденсации ациклической боковой цепи по N-9-положению типичного 6-галогенированного пуринового фрагмента, или, в альтернативном случае, в замыкании имидазольного цикла пиримидина или фуразано-[3,4-d]-припиримидинового фрагмента, или замыкании пиримидинового кольца имидазольного фрагмента, в том случае, когда ациклическая боковая цепь уже присутствует в предшествующем пиримидиновом или имидазольном фрагментах, соответственно. В соответствии с наиболее широкими аспектами каждого из таких способов, ациклическая боковая цепь является предварительно замещенной, однако, в специальных примерах показано одностадийное диацилирование H2G с помощью уксусного или пропионового ангидрида и ДМФ.

Harnden с сотр., J. Med. Chem. 32, 1738 (1989) сообщают об исследовании ряда низших алифатических сложных эфиров ациклического нуклеозида, 9-[4-гидрокси-(3-гидроксиметил)бутил]гуанина, известного также под названием пенцикловира, и его 6-деокси аналога. Фамцик-

ловир, торговый антивирусный агент, представляет собой диацетильное производное 6-деокси пенцикловира.

Benjamin с сотр., Pharm. Res. 4 № 2, 120 (1987) описывает низшие алифатические сложные эфиры 9-[(1,3-дигидрокси-2-пропокси)метил]гуанина, известного также под названием ганцикловира. Отмечается, что предпочтительным сложным эфиром является дипропионат.

Lake-Bakaar с сотр., раскрывает в Antimicrob. Agents Chemo-ther. 33 № 1, 110-112 (1989) диацетатные и дипропионатные производные H2G, и также моноацетатные и диацетатные производные 6-деокси H2G. Сообщается, что диацетатные и дипропионатные производные H2G обеспечивают лишь незначительное улучшение биоприменимости по сравнению с H2G.

В международной патентной заявке WO 94/24134, опубликованной 27 октября 1994г., раскрываются алифатические сложноэфирные пролекарства 6-деокси-N-7 аналога ганцикловира, включающие ди-пивалоил, ди-валероил, моновалероил, моноолеоил и моностеароильные сложные эфиры.

В обеих международных заявках на патенты WO 93/07163, опубликованной 15 апреля 1993г., и WO 94/22887, опубликованной 13 октября 1994г., описываются моносложноэфирные производные нуклеозидных аналогов - производных мононенасыщенных C18 или C20 жирных кислот. В патенте США № 5,216,142, от 1 июня 1993г. также описываются моносложноэфирные производные жирных кислот нуклеозидных аналогов.

Второй подход, используемый для получения пролекарств ациклических нуклеозидов, включает получение аминокислотных сложных эфиров по одной или более гидроксигруппам ациклической боковой цепи. В Европейском патенте EP 99 493 описываются аминокислотные сложные эфиры ацикловира, а в заявке на Европейский патент EP 308 065, опубликованной 22 марта 1989г., раскрываются валиновый и изолейциновый эфиры ацикловира.

В заявке на Европейский патент EP 375 329, опубликованной 27 июня 1990г., раскрываются аминокислотные сложноэфирные производные ганцикловира, включающие ди-валин, ди-изолейцин, ди-глицин и ди-аланин сложноэфирные производные. В международной заявке на патент WO 95/09855, опубликованной 13 апреля 1995г., описываются сложноэфирные производные пенцикловира, включающие моно-валин и ди-валин сложноэфирные производные.

В DE 19526163, опубликованной 1 февраля 1996г., а также в патенте США № 5,543,414 от 6 августа 1996г., описываются ахиральные аминокислотные сложные эфиры ганцикловира.

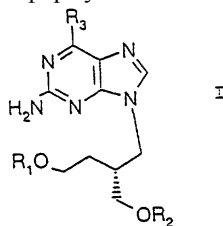
В заявке на Европейский патент EP 694 547, опубликованной 31 января 1996г., раскрывается моно-L-валиновый сложный эфир ган-

цикловира и его получение из ди-валилганцикловира.

В заявке на Европейский патент EP 654 473, опубликованной 24 мая 1995 г., описываются различные бис аминокислотные сложноэфирные производные 9-[1',2'-бисгидроксиметил]циклопропан-1'-ил]метилгуанина.

В международной патентной заявке WO 95/22330, опубликованной 24 августа 1995 г., описываются алифатические сложные эфиры, аминокислотные сложные эфиры, а также сложные ацетат/валинаты сложные эфиры ациклического нуклеозида, 9-[3,3-дигидроксиметил-4-гидроксидибут-1-ил]гуанина. В этой работе указывается, что биоприменимость понижается в том случае, когда один из валиновых эфиров тривалинового производного заменяют на ацетатную сложноэфирную группу.

Установлено, что ди-сложноэфирные производные H2G со специальной комбинацией аминокислотного сложного эфира и сложного эфира жирной кислоты, позволяют значительно улучшить оральную биодоступность в сравнении с родственными соединениями (H2G). Задачей настоящего изобретения является создание новых соединений формулы I



в которой

а) R₁ представляет собой -C(O)CH(CH₂(CH₃)₂)NH₂ или -C(O)CH(CH₂(CH₃)CH₂CH₃)NH₂ и R₂ представляет собой -C(O)C₃-C₂₁ насыщенный или моновенасыщенный, необязательно, замещенный алкил; или

б) R₁ представляет собой -C(O)C₃-C₂₁ насыщенный или моновенасыщенный, необязательно, замещенный алкил, а R₂ представляет собой -C(O)CH(CH₂(CH₃)₂)NH₂ или -C(O)CH(CH₂(CH₃)CH₂CH₃)NH₂; и R₃ представляет собой OH или H;

а также их фармацевтически приемлемые соли. Благоприятное влияние при оральном применении смешанных сложных эфиров жирных кислот и аминокислот настоящего изобретения является особенно неожиданным в сравнении с соответствующим применением сложных эфиров жирных кислот. На основании результатов анализа мочевой регенерации (таблица 1A) или плазма-лекарственного анализа (таблица 1B) H2G крыс, можно сделать вывод, что ни моно-, или ди- сложные эфиры жирных кислот H2G не обеспечивают какого-либо улучшения оральной биодоступности в сравнении с родственными соединениями H2G. Действительно, ди-стеаратное производное обеспечивает значи-

тельно более низкую биодоступность, чем родственное соединение, что может быть следствием нежелательного влияния стеаратного сложного эфира на улучшение оральной биоприменимости H2G. Имеются сообщения о том, что превращение одного или обоих гидроксильных в некоторых других ациклических нуклеозидных аналогах в соответствующий валиновый или ди-валиновый сложный эфир улучшают биодоступность. Превращение H2G в соответствующие моно- или ди-валил сложноэфирные производные обеспечивает аналогичное улучшение биодоступности по сравнению с родственными соединениями. Учитывая тот факт, что жирнокислотные производные H2G оказывают отрицательное воздействие на улучшение биодоступности, неожиданным оказалось то, что смешанные сложноэфирные производные H2G на основе аминокислоты/жирной кислоты обеспечивают улучшенную или сравнимую оральную биодоступность в сравнении с такой характеристикой валинового дисложноэфирного производного H2G, о чем свидетельствуют данные мочевино-регенерационного или плазма-лекарственного анализов, соответственно.

Таблица 1A

Группа R ₁	Группа R ₂	Биодоступность*
водород	водород	8%
водород	стеароил	12%
стеароил	стеароил	1%
валил	водород	29%
валил	валил	36%
валил	стеароил	56%

* См. приведенный ниже подробный биологический пример 1.

Таблица 1B

Группа R ₁	Группа R ₂	Биодоступность *
водород	водород	3,8%
водород	стеароил	1,9%
стеароил	стеароил	0%
валил	водород	31,3%
валил	валил	35%
валил	стеароил	29%

* Подробности см. в приведенном ниже биологическом примере 2.

Настоящее изобретение также предусматривает фармацевтические композиции, содержащие соединения формулы I и их фармацевтически приемлемые соли, в комбинации с фармацевтически приемлемыми носителем или разбавителем. Другие аспекты настоящего изобретения включают соединения формулы I и их фармацевтически приемлемые соли, предназначенные для использования в терапии, а также применение таких соединений и солей для получения лекарственного средства, предназначенного для лечения или профилактики вирусной инфекции людей или животных.

Соединения настоящего изобретения являются сильными антивирусными агентами, особенно в отношении таких герпесных инфекций, которые вызываются вирусом *Varicella zoster*, вирусом герпеса обыкновенного типа 1 и 2, вирусом Epstein-Barr, Herpes типа 6 (HHV-6) и типа 8 (HHV-8). Такие соединения особенно применимы против инфицирования вирусом *Varicella zoster*, такого как опоясывающий лишай у пожилых людей, включая пост-герпесную невралгию, или куриный сифилис у молодых особей, когда длительность и тяжесть заболевания могут быть снижены за несколько дней.

Epstein-Barr вирусные инфекции, поддающиеся лечению соединениями согласно изобретению включают инфекционную мононуклеоз/железистую лихорадку, которая ранее не поддавалась лечению и которая может вызывать в течение многих месяцев неспособность к обучению у подростков.

Соединения настоящего изобретения также обладают активностью против некоторых ретровирусных инфекций, особенно таких, как SIV, HIV-1 и HIV-2, а также против инфекций, для которых указан трансактивирующий вирус.

Еще одной задачей изобретения является создание способа профилактики или лечения вирусной инфекции у людей или животных, заключающийся во введении эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли людям или животным.

Преимущественно группа R_3 представляет собой гидроксигруппу или ее таутомерную форму $=O$ так, что основная часть соединений изобретения представляет собой встречающийся в природе гуанин, например, в том случае, когда боковая цепь расщепляется *in vivo*. С другой стороны, R_3 может представлять собой водород, и в этом случае имеют дело с, как правило, более растворимым 6-деокси производным, которое может окисляться *in vivo* (например, с помощью ксантин оксидазы) в гуаниновую форму.

Соединения формулы I могут присутствовать в рацемической форме, т.е. представлять собой смесь 2R и 2S изомеров. Однако, предпочтительно, чтобы соединения формулы I содержали, по крайней мере, 70%, предпочтительно, по крайней мере, 90% R-формы, например, более 95% такой формы. Наиболее предпочтительно, когда соединение формулы I представляет собой энантиомерно чистую R-форму.

Предпочтительно, аминокислота группы R_1/R_2 является производной L-аминокислоты.

Предпочтительно, аминокислота группы R_1/R_2 содержит четное число атомов углерода, и главным образом, представляет собой деканоил (C_{10}), лаурил (C_{12}), миристоил (C_{14}), пальмитоил (C_{16}), стеароил (C_{18}), или эйкозанил (C_{20}). Другие подходящие R_1/R_2 группы включают бутирил, гексаноил, октаноил или бегеноил (C_{22}).

Другие подходящие R_1/R_2 группы включают производные миристолеиновой, миристэлаидиновой, пальмитолеиновой, пальмэлаидиновой, н-6-октадеценовой, олеиновой, элаидиновой, гандоиновой, эруковой или брассидиновой кислот. Мононенасыщенные сложные эфиры жирных кислот, как правило, имеют двойную связь в транс-конфигурации, предпочтительно в ω -6, ω -9 или ω -11 положении, в зависимости от их длины. Предпочтительно, R_1/R_2 группа является производной жирной кислоты, содержащей C_9 - C_{17} насыщенный или n:9 мононенасыщенный алкил.

Насыщенная или ненасыщенная жирная кислота, или R_1/R_2 могут быть необязательно замещены одинаковыми или различными заместителями, в количестве до пяти, выбранными из группы, состоящей из таких заместителей, как гидроксигруппы, C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 алкокси, C_1 - C_6 алкокси C_1 - C_6 алкил, C_1 - C_6 алканойл, амина, гало, циано, азидо, оксо, меркапто и нитро, и др.

Наиболее предпочтительными соединениями формулы I являются те, в которых R_1 представляет собой $-C(O)CH(CH_3)_2NH_2$ или $-C(O)CH(CH(CH_3)CH_2CH_3)NH_2$, а R_2 представляет собой $-C(O)C_9$ - C_{17} насыщенный алкил.

Используемый в тексте термин "нижний алкил" относится к алкильным радикалам нормального или разветвленного строения, содержащим 1-7 углеродных атомов, включающим, но не ограничивающимся ими, метил, этил, н-пропил, изо-пропил, н-бутил, изо-бутил, втор.-бутил, трет.-бутил, н-пентил, 1-метилбутил, 2,2-диметилбутил, 2-метилпентил, 2,2-диметилпропил, н-гексил и т.п.

Используемый в тексте термин "N-защитная группа" или "N-защищенная" относится к тем группам, которые предназначены для защиты концевых N-аминокислоты или пептида, или для защиты аминогруппы от нежелательных реакций в ходе операций синтеза.

Традиционно используемые N-защитные группы описаны в книге Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (John Wiley & Sons, New York, 1981), и на эту работу ссылаются в настоящем описании. N-защитные группы включают такие ацильные группы, как формил, ацетил, пропионил, пивалоил, трет.-бутилацетил, 2-хлор-ацетил, 2-бромацетил, трифторацетил, трихлорацетил, фталил, о-нитрофеноксиацетил, α -хлорбутирил, бензоил, 4-хлорбензоил, 4-бром-бензоил, 4-нитробензоил и т.п.; такие сульфонильные группы, как бензолсульфонил, п-толуолсульфонил, и т.п.; такие карбамат-образующие группы, как бензилоксикарбонил, п-хлорбензилоксикарбонил, п-метоксибензилоксикарбонил, п-нитробензилоксикарбонил, 2-нитробензилоксикарбонил, п-бромбензилоксикарбонил, 3,4-диметоксибензилоксикарбонил, 4-метоксибензилоксикарбонил, 2-нитро-4,5-диметоксибензилоксикарбо-

нил, 3,4,5-триметоксибензилоксикарбонил, 1-(п-бифенилил)-1-метилэтоксикарбонил, α,α -диметил-3,5-диметоксибензилоксикарбонил, бензгидрилоксикарбонил, трет.-бутоксикарбонил, диизопропилметоксикарбонил, изопропилоксикарбонил, этоксикарбонил, метоксикарбонил, аллилоксикарбонил, 2,2,2-трихлорэтоксикарбонил, феноксикарбонил, 4-нитрофеноксикарбонил, флуоренил-9-метоксикарбонил, циклопентилоксикарбонил, адамантилоксикарбонил, циклогексилоксикарбонил, фенилтиокарбонил, и т.п.; такие алкильные группы, как бензил, трифенилметил, бензилоксиметил и т.п.; такие силильные группы, как триметилсилил и т.п. Предпочтительными N-защитными группами являются формил, ацетил, бензоил, пивалоил, трет.-бутилацетил, фенилсульфонил, бензил, трет.-бутоксикарбонил (BOC) и бензилоксикарбонил (Cbz).

Используемый в тексте термин "активированное сложноэфирное производное" относится к таким галоидангидридам, как хлорангидриды, а активированные сложные эфиры включают, но не ограничиваются ими, ангидриды - производные муравьиной и уксусной кислоты, ангидриды - производные таких алкоксикарбонилгалогенидов, как изобутилоксикарбонилхлорид и т.п., N-гидроксисукцинимид, производные сложных эфиров, N-гидроксифталимидпроизводные сложных эфиров, N-гидроксibenзотриазолпроизводные сложных эфиров, N-гидроксi-5-норборнен-2,3-дикарбоксамида производные сложных эфиров, 2,4,5-трихлорфенилпроизводные сложных эфиров и т.п.

Предпочтительные соединения формулы I включают

(R)-9-[2-(бутирилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(4-ацетилбутирилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(гексаноилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(октаноилоксиметил)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(деcanoилоксиметил)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(додеканоилоксиметил)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(тетрадеканоилоксиметил)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(гексадеканоилоксиметил)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(октадеканоилоксиметил)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(эйкозаноилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(докозаноилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-((9-тетрадеценил)оксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-((9-гексадеценил)оксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-((6-октадеценил)оксиметил)бутил]гуанин,
 (R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-((9-октадеценил)оксиметил)-бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-((11-эйкозаноил)-оксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-((13-докозаноил)-оксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,
 (R)-2-амино-9-[2-(бутирилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[2-(4-ацетилбутирилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)-бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[2-(гексаноилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(октаноилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(деканилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(додеканоилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(тетрадеканоилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(гексадеканоилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(октадеканоилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(эйкозаноилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[2-(эйкозаноилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[2-(докозаноилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-((9-тетрадеценил)оксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[2-((9-гексадеценил) оксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-((6-октадеценил)оксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-((9-октадеценил)оксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[2-((11-эйкозаноил)оксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин или
 (R)-2-амино-9-[2-((13-докозаноил)оксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин,
 а также их фармацевтически приемлемые соли.

Другие предпочтительные соединения включают

(R)-9-[2-(бутирилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(4-ацетилбутирилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(гексаноилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(октаноилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(деканилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,
 (R)-9-[2-(додеканоилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-(бутирилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(4-ацетилбутирилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(гексаноилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(октаноилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(деcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(додеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(тетрадеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(гексадеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(октадеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(эйкозаноилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-(докозаноилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-((9-тетрадеценонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-((9-гексадеценонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-((6-октадеценонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-((9-октадеценонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-((11-эйкозанонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-9-[4-((13-докозанонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,
(R)-2-амино-9-[4-(бутирилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(4-ацетилбутирилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(гексаноилокси)-2-(L-валилокси)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(октаноилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(деcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(додеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(тетрадеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(гексадеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(октадеcanoилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(эйкозаноилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-(докозаноилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-((9-тетрадеценонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-((9-гексадеценонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
(R)-2-амино-9-[4-((6-октадеценонил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин.

(R)-2-амино-9-[4-((9-октадеценил)окси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-((11-эйкозаноил)окси)-2-(L-валилокси)бутил]пурин,
 (R)-2-амино-9-[4-((13-докозаноил)оксиметил)-2-(L-валилокси)бутил]пурин или фармацевтически приемлемые соли указанных соединений.

Соединения формулы I могут образовывать соли, которые являются также предметом настоящего изобретения. Подходящие фармацевтически приемлемые соли соединений формулы I включают соли органических кислот, главным образом карбоновых кислот, включающих, но не ограничивающихся ими, ацетат, трифторацетат, лактат, глюконат, цитрат, тартрат, малеат, малат, пантотенат, изоэтионат, адипат, альгинат, аспартат, бензоат, бутират, диглюконат, циклопентанат, глюкогептанат, глицерофосфат, оксалат, гептаноат, гексаноат, фумарат, никотинат, пальмоат, пектинат, 3-фенилпропионат, пикрат, пивалат, пропионат, тартрат, лактобионат, пиволат, камфорат, ундеcanoат и сукцинат, такие соли органических сульфокислот, как метансульфонат, этансульфонат, 2-гидроксиэтансульфонат, камфорсульфонат, 2-нафталинсульфонат, бензолсульфонат, п-хлор-бензолсульфонат, и п-толуолсульфонат; а также соли неорганических кислот, такие как гидрохлорид, гидробромид, гидроиодид, сульфат, бисульфат, полусульфат, тиоцианат, персульфат, а также соли фосфорных и сульфокислот. Удобнее всего использовать соли хлористоводородных кислот.

Соединения формулы I могут быть выделены в виде гидратов. Соединения настоящего изобретения могут быть выделены в кристаллической форме, предпочтительно, в виде гомогенных кристаллов, и, в этом случае, дополнительный аспект настоящего изобретения предусматривает соединения формулы I в практически чистой кристаллической форме, содержащей >70%, предпочтительно, >90% гомогенного кристаллического материала, например, >95% гомогенного кристаллического материала.

Соединения настоящего изобретения особенно подходят для орального применения, однако, они могут применяться ректально, вагинально, назально, местно, трансдермально или парентерально, например, внутримышечно, внутривенно или эпидурально. Соединения изобретения могут применяться, как таковые, например, в виде капсул, или, как правило, совместно с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем. Настоящее изобретение касается также способов получения фармацевтических композиций, включающих эффективное количество соединения формулы I, или его фармацевтически приемлемой соли, в комбинации, или совместно с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

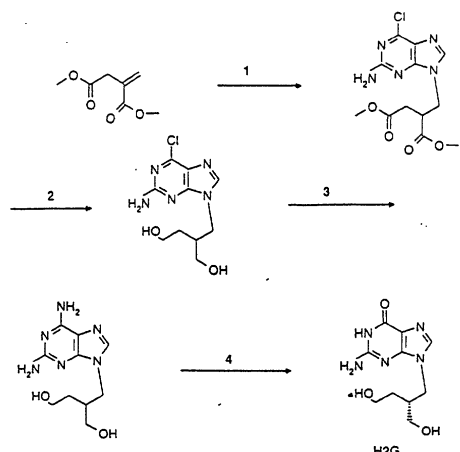
Оральные рецептуры удобнее всего получать в виде таких форм разовой дозировки, как капсулы или таблетки, с использованием таких традиционных носителей или связующих веществ, как стеарат магния, мел, крахмал, лактоза, воск, камедь или желатин. Для создания рецептур пролонгированного действия могут использоваться липосомы, или такие синтетические или природные полимеры, как НРМС или РVP. С другой стороны, такие рецептуры могут быть изготовлены в виде назальных или глазных капель, сиропа, геля или крема, содержащих раствор, суспензию, эмульсию, препарат типа масло в воде или вода в масле, в таких традиционных наполнителях, как вода, физиологический раствор, этанол, растительное масло или глицерин, необязательно, в присутствии отдушки и/или предохранительного агента и/или эмульгатора.

Соединения настоящего изобретения могут применяться с дневной дозировкой в интервале 0,1-200 мг/кг/день, преимущественно 0,5-100 мг/кг/день, более предпочтительно 10-50 мг/кг/день, например 10-25 мг/кг/день. Типичная дозировка для нормального взрослого может составлять 50-500 мг, например 300 мг, которую применяют один или два раза в день в случае герпеса и 2-10 раз - в случае HIV инфекций.

В соответствии с обычными правилами антивирусной терапии, соединения настоящего изобретения могут применяться в комбинации с такими другими антивирусными агентами, как ацикловир, валцикловир, пенцикловир, фамцикловир, ганцикловир и их пролекарства, цидофовир, фоскарнет и аналогичные препараты, предписанные для лечения герпеса, а также AZT, ddI, ddC, d4T, 3TC, фоскарнет, ритонавир, индинавир, саквинавир, делавиридин, Vertex VX 478, Agouron AG1343 и другими препаратами, предписанными для лечения ретровирусных инфекций.

Соединения настоящего изобретения могут быть получены de novo или путем этерификации H2G родственного соединения, которое получают, например, по методике синтеза, раскрытой в Европейском патенте EP 343 133, на который ссылаются в тексте настоящего описания.

Ниже приведена типичная реакционная схема получения H2G.

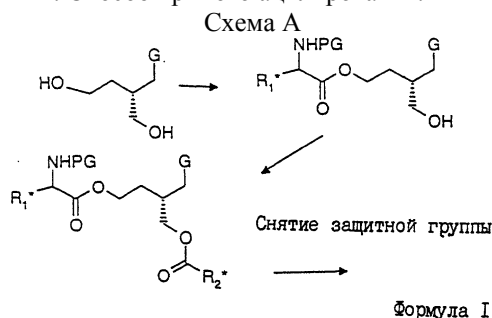


Стадию конденсации 1 обычно проводят в присутствии такого основного катализатора, как NaOH или Na_2CO_3 в среде такого растворителя, как ДМФ. Стадия 2 представляет собой восстановление, которое может быть осуществлено в присутствии системы LiBH_4 /тетрагидрофуран в таком растворителе, как трет.-BuOH. Реакцию замещения хлора на аминогруппу на стадии 3 можно проводить аммиаком при повышенном давлении. На стадии 4 используют аденозин деаминазу, которая может быть стандартно иммобилизована на твердом носителе. Охлаждение реакционной смеси позволяет сохранять непрореагировавший изомерный предшественник в растворе, что повышает чистоту конечного продукта.

Исходные соединения для получения соединений изобретения, в которых R_3 представляет собой водород, могут быть получены в соответствии со способом, раскрытым в Европейском патенте EP 186 640, на который ссылаются в настоящем описании. Такие исходные материалы могут быть ацилированы, как описано ниже для H2G, необязательно, после защиты 2-аминогруппы пурина указанными ниже традиционными N-защитными группами, особенно такими, как BOC (трет.-BuO-CO-), Z (BnO-CO-) или Ph_3C -.

Соединения настоящего изобретения могут быть получены из H2G как это показано ниже в схемах A и B.

A. Способ прямого ацилирования.



В схеме A показано получение соединений, в которых R_1 является производным аминокислоты, а R_2 - производным жирной кислоты, вместе с тем такая схема превращений применима к соединениям, в которых R_1 является

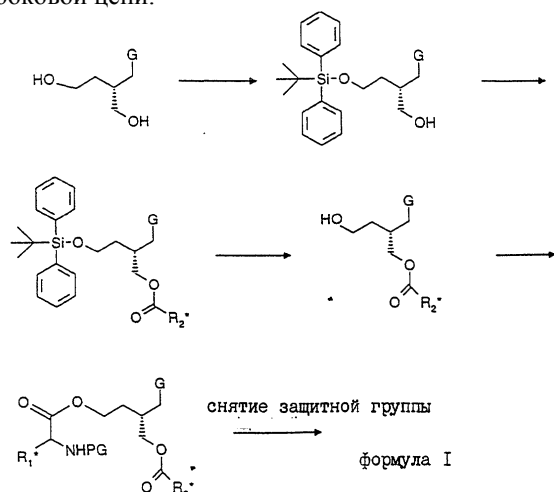
производным жирной кислоты, а R_2 - производным сложного эфира аминокислоты. В варианте специально представленном в приведенной выше схеме A: G представляет собой гуанин или 6-деоксигуанин, PG представляет собой необязательную N-защитную группу или водород, R_1^* представляет собой валин или изолейциновую боковую цепочку, а R_2^* представляет собой цепочку жирной кислоты. В приведенной схеме H2G показан, как исходный материал, однако, следует иметь в виду, что это соединение может быть необязательно защищено по группе R_3 или 2-положению пурина с помощью традиционных N-защитных групп (на рисунке не показано). На первой стадии H2G (производное) реагирует с активированным R_1 α -аминокислотным производным, как дополнительно описано ниже, в таком растворителе, как диметилформамид или пиридин, с получением моноацилированного продукта. R_1 α -аминокислота может быть N-защищена с помощью N-BOC или N-CBz или аналогичных групп. В контролируемых условиях, первое ацилирование может быть осуществлено так, что будет доминировать реакция с участием 4-гидроксигруппы боковой цепи H2G. Такие контролируемые условия могут быть созданы на практике, например, в результате манипулирования с концентрациями реагентов или скоростью добавления, главным образом ацилирующего агента, в результате снижения температуры или путем выбора подходящего растворителя. За ходом реакции можно следить методом ТСХ с целью контролирования условий ее проведения.

После очистки, R_1 моноацилированные соединения дополнительно ацилируют по 2- CH_2OH группе боковой цепи, с помощью подходящего активированного жирнокислотного производного, с получением ди-ацилированного продукта, используя при этом методику, аналогичную описанной для первой стадии этерификации. Дисложноэфирные продукты далее подвергают традиционной обработке для снятия защитной группы; с использованием, например, трифторуксусной кислоты, системы HCl (водной)/диоксан, или в результате осуществления гидрирования в присутствии катализатора, с получением желаемого соединения формулы I. Это соединение может быть получено в виде соли в зависимости от условий осуществления реакции по снятию защитной группы.

Активированные R_1/R_2 кислотные производные, используемые в различных реакциях ацилирования, могут включать, например, галогидангидрид, ангидрид кислоты, активированный сложный эфир или кислоту в присутствии сшивающего агента, например, дициклогеккарбодиимида, причем термин "кислота" в каждом случае относится к соответствующей R_1/R_2 аминокислоте или R_1/R_2 жирной кислоте. Представителями активированных кислотных произ-

водных могут служить хлорангидрид, смешанные ангидриды муравьиной и уксусной кислот, такие ангидриды -производные алкоксикарбонилгалогенидов, как изобутилоксикарбонилхлорид и т.п., N-гидроксисукцинимидные сложные эфиры, N-гидроксифталимидные сложные эфиры, N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимидные сложные эфиры, 2,4,5-трихлорфенольные сложные эфиры и т.п.

В. Путь через защиту 4-гидроксигруппы боковой цепи:



где G, PG, R₁* и R₂* имеют значения, указанные для схемы А.

Схема В является примером получения соединения, в котором R₁ является производным аминокислоты, а R₂ - производным сложного эфира жирной кислоты, однако, эта схема превращений применима к соединениям, в которых R₂ является производным аминокислоты, а R₁ - производным жирной кислоты. Эта схема предусматривает региоселективную защиту 4-гидроксигруппы боковой цепи H₂G массивной защитной группой. В представленной выше схеме В такой защитной группой является трет.-бутилдифенилсилил, однако в такой реакции могут использоваться и другие защитные группы, такие как тритил, 9-(9-фенил)ксантенил, 1,1-бис(4-метилфенил)-1'-пиренилметил. Полученный в результате продукт ацилируют по 2-гидроксиметильной группе боковой цепи с использованием реагентов и методик, аналогичных тем, что указаны для приведенной выше схемы А, при отличии, состоящем в том, что активированное кислотное производное представляет собой, например, хлорангидрид R₂ жирной кислоты, например, такой как миристиновая кислота, стеариновая, олеиновая; эладиновая и т.п. Такие моноацелированные соединения подвергают соответствующей обработке по снятию защитной группы с целью удаления 4-гидрокси защитной группы боковой цепи, что может быть сделано очень селективно с использованием таких реагентов, в зависимости от природы региоселективной защитной группы как HF/пиридин и, путем аналогичных, описанных выше, изменений условий реакций, вклю-

чающих использование различных концентраций реагентов, скоростей добавления, температуры, растворителя и т.д. После этого, свободную 4-гидроксигруппу боковой цепи ацилируют с помощью активированной α-аминокислоты по методике, аналогичной описанной выше для схемы А.

Другие методики введения аминокислотного сложного эфира R₁/R₂, например, в том, что касается схем А, В, С или D, включают 2-окса-4-азациклоалкан-1,3-дионовый способ, описанный в Международной патентной заявке № WO 94/29311.

Другие методики введения жирнокислотного сложного эфира R₁/R₂, например, в том, что касается схем А, В, С или D, включают энзимный путь введения, описанный в Preparative Biotransformations 1.11.8 (изд. S.M. Roberts, J. Wiley and Son, Нью-Йорк, 1995), с использованием липазы, такой как SP 435 иммобилизованная *Candida antarctica* (Novo Nordisk), свиная панкреатическая липаза или *Candida rugosa*-липаза. Энзимное ацилирование особенно удобно в том случае, когда желательно избежать стадии защиты и снятия защитной группы по другим ацильным группам пурина-2-амин.

Альтернативный подход к соединениям формулы I, в которых R₃ представляет собой водород, состоит в активации положения 6 соответствующего соединения формулы I (в котором аминокислотный сложноэфирный фрагмент R₁/R₂ необязательно защищен такой традиционной N-защитной группой, как BOC) с помощью такой активирующей группы, как галоген. Активированный таким образом 6-пуридин далее восстанавливают в пуридин, например, с использованием палладиевого катализатора и подвергают реакции снятия защитной группы с получением желаемого 6-деокси H₂G диэфира.

Таким образом, еще одной задачей настоящего изобретения является создание способа получения соединений формулы I, включающего

а) необязательную N-защиту 2 и/или 6 положений пурина в соединении формулы I, в которой каждый из R₁ и R₂ представляют собой водород;

б) региоселективное ацилирование соединения формулы I по 4-гидроксигруппе боковой цепи, с помощью

i) необязательной N-защищенной валиновой или изолейциновой группы,

ii) необязательно замещенного, насыщенного или моновенасыщенного C₃-C₂₁COOH производного или

iii) региоселективной защитной группы;

с) ацилирование 2-гидроксиметильной группы боковой цепи с помощью

i) необязательно N-защищенного валинового или изолейцинового производного или

ii) необязательно замещенного, насыщенного или мононенасыщенного $C_3-C_{21}COOH$ производного;

d) замену региоселективной защитной группы при R_1 , если она имеется, на

i) необязательно N-защищенное валиновое или изолейциновое производное; или

ii) необязательно замещенное, насыщенное или мононенасыщенное $C_3-C_{21}COOH$ производное и

e) если это необходимо, снятие защитной группы с полученного в результате соединения.

В представленных выше схемах А и В используется селективное ацилирование с целью поэтапного добавления сложных эфиров аминокислоты и жирной кислоты. Альтернативный процесс получения соединений формулы I включает начальное использование диацелированного H_2G производного, в котором обе ацильные группы имеют одинаковые значения, и селективное удаление одной из таких ацильных групп, с получением моноацильного промежуточного соединения, которое далее подвергают ацилированию с помощью второй, другой, ацильной группы, используя методику, приведенную для схем А и В.

В соответствии с этим, еще один аспект настоящего изобретения предусматривает способ получения соединения формулы I, приведенной выше, включающий

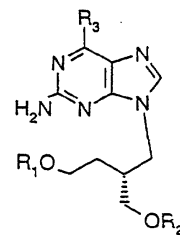
А) монодеацелирование диацелированного соединения, соответствующего формуле I, в которой оба радикала R_1 и R_2 представляют собой валиловый или изолейциловый эфир (причем такие группы могут быть необязательно N-защищенными), или оба радикала R_1 и R_2 представляют собой $-C(=O)C_3-C_{21}$ насыщенный или мононенасыщенный, необязательно замещенный алкил; и

В) ацилирование освобожденной таким образом 4-гидрокси- или 2-гидроксиметильной группы боковой цепи с помощью валила, изолейцила или $-C(=O)C_3-C_{21}$ насыщенного или мононенасыщенного, необязательно замещенного алкила; и

С) если это необходимо, снятие защитной группы.

Этот альтернативный способ обладает тем преимуществом, что облегчается получение диацелированного H_2G производного и оно требует лишь незначительной очистки, или стадии очистки исключаются. Селективное удаление только одной ацильной группы диацелированного H_2G производного может достигаться путем изменения реакционных условий, особенно, температуры, скорости добавления реагентов и подбора подходящего основания.

Соединения, используемые в таком альтернативном синтезе, имеют формулу



в которой R_1 и R_2 представляют собой валил или изолейцил (которые могут быть, необязательно, N-защищенными) или $-C(=O)C_3-C_{21}$ насыщенный или мононенасыщенный, необязательно замещенный алкил; а R_3 представляет собой OH или H.

В целях облегчения синтеза по такой альтернативной схеме, предпочтительно, чтобы R_1 и R_2 вначале были одинаковыми и, наиболее предпочтительно, чтобы они являлись производными одного сложного эфира аминокислоты. Такой диэфир аминокислоты обычно является N-защищенным в ходе его получения и может непосредственно использоваться в таком виде на стадии селективного деацелирования. С другой стороны, такое N-защищенное диаминоацилированное производное H_2G производного может быть подвергнуто снятию защитной группы и, необязательно, вновь защищено, как это будет описано ниже. Таким образом, незащищенное диаминоацил H_2G производное представляет собой одно из следующих соединений:

(R)-9-[2-(L-изолейцилоксиметил)-4-(L-золейцилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-(L-валилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,

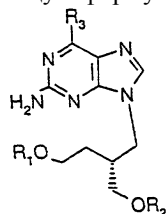
(R)-2-амино-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(L-изолейцилоксиметил)бутил]пурин и

(R)-2-амино-9-[4-(L-валилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин.

Незащищенные H_2G диацелированные производные могут быть подвергнуты селективному деацелированию по одной из ацильных групп (обычно по ацилу в 4-положении боковой цепи) с последующим энзимным ацилированием открытой 4-гидроксигруппы, как описано выше. С другой стороны, незащищенное H_2G диацелированное производное может быть подвергнуто повторной защите и затем селективному деацелированию, после чего проводят традиционное ацилирование сложным эфиром жирной кислоты в соответствии со схемами А и В. Такую стадию повторной защиты лучше всего проводить с использованием другой N-защитной группы, обладающей свойствами, подходящими для последующего ацилирования. Так например, удобно использовать такую липофильную N-защитную группу, как Fmoc при получении диаминокислотного H_2G производного, поскольку липофильная природа такой защитной группы способствует отделению ацилированных продуктов. С другой стороны, липофильный характер Fmoc менее подходит при

проведении ацилирования жирной кислотой и, в этом случае, повторную защиту диацилированного H2G лучше осуществлять с помощью такой другой N-защитающей группы, как ВОС.

Следует отметить, что получение соединений формулы I может быть связано с новыми моноацелированными промежуточными соединениями по стадиям в i), ii), или iii), приведенным выше, которые описывают указанный выше первый аспект настоящего изобретения, касающийся способа получения. Такие соединения имеют следующую формулу:



в которой один из R₁ и R₂ имеет значение

i) -C(O)CH(CH₂CH₃)₂NH₂ или -C(O)CH(CH₂CH₃)CH₂CH₃NH₂

ii) -C(=O)C₃-C₂₁ насыщенный или мононе-насыщенный, необязательно замещенный алкил, или

iii) региоселективная защитная группа; при этом другой из R₁ и R₂ представляет собой водород; а R₃ представляет собой OH или H;

Таким образом, полезные соединения включают

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилил)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(третилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(9-(9-фенил)ксантенилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(1,1-бис(4-метилфенил)-1'-пиренилметилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(деcanoилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(додеcanoилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(тетрадеcanoилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(гексадеcanoилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(октадеcanoилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(эйкозаноилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(докозаноилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(decanoилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(додеcanoилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(тетрадеcanoилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(гексадеcanoилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(октадеcanoилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(эйкозаноилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(докозаноилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-(2-гидроксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гидроксиметил-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(L-изолейцилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-9-[4-гидрокси-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин,

(R)-2-амино-9-[2-гидроксиметил-4-(L-валилокси)бутил]пурин,

(R)-2-амино-9-[2-гидроксиметил-4-(L-изолейцилокси)бутил]пурин,

(R)-2-амино-9-[4-гидрокси-2-(L-изолейцилоксиметил)бутил]пурин,

(R)-2-амино-9-[4-гидрокси-2-(L-валилоксиметил)бутил]пурин.

Региоселективно защищенные по 4-гидроксигруппе боковой цепи промежуточные соединения со стадии (с), приведенной выше и относящейся к первому аспекту настоящего изобретения, также являются новыми соединениями.

Полезные соединения этого типа включают:

(R)-9-[2-деcanoилоксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилил)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-додеcanoилоксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилил)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-тетрадеcanoилоксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилил)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-гексадеcanoилоксиметил-4-(трет.-бутилдифенилхлорсилан)бутил]гуанин,

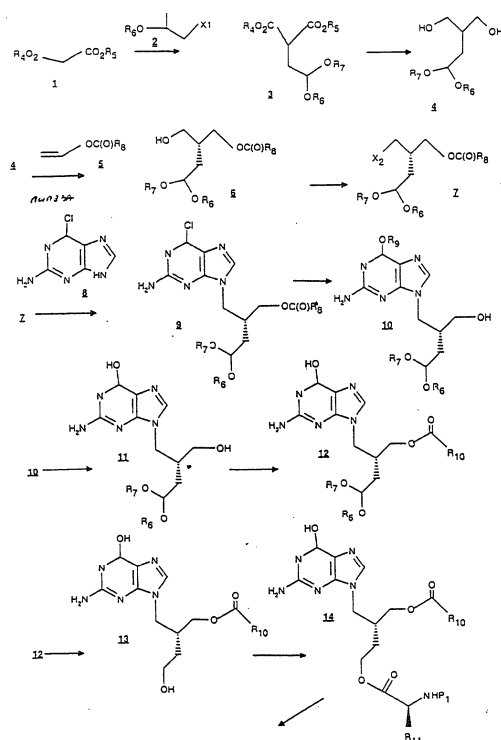
(R)-9-[2-октадеcanoилоксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилил)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-эйкозаноилоксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилил)бутил]гуанин,

(R)-9-[2-докозаноилоксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилил)бутил]гуанин.

Альтернативный способ получения соединений изобретения, отвечающих формуле I, в которой R₃ представляет собой -ОН, показан на схеме С.

Схема С



Формула I

В соответствии со схемой С, малонат 1 (R_4 и R_5 представляют собой низший алкил, бензил или т.п.) алкилируют по реакции с примерно 0,5-2,0 молярными эквивалентами ацетала 2 (R_6 и R_7 представляют собой низший алкил, бензил и т.п., или R_6 и R_7 совместно представляют собой $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ или $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ или $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$, а X_1 представляет собой уходящую группу (например, Cl, Br или I, либо такой сульфонат, как метансульфонат, трифлат, толуолсульфонат, бензолсульфонат и т.п.) в присутствии 0,5-2,0 молярных эквивалентов основания (например, трет.-бутилата калия, или этилата натрия, либо NaH или KН и т.п.) в среде инертного растворителя (например такого, как ДМФ, ТГФ, диоксан, диоксолан, N-метилпирролидон и т.п.) при температуре в интервале $-40 - 190^\circ\text{C}$ с получением алкилированного малоната 3.

В результате восстановления 3, при соотношении 0,5-4,0 молярных эквивалентов сложного эфира к спиртовому восстанавливающему агенту (например, такому как LiBH_4 , $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$ или NaBH_4 , LiAlH_4 и т.п.) в среде инертного растворителя (например, ТГФ, метил трет.-бутилового эфира или трет.-BuOH, или т.п.) при температуре в интервале от -20°C до примерно 100°C , получали диол 4. В результате энзимной этерификации 4 по реакции с 1,0-20,0 молярными эквивалентами в винилового эфира 5 (R_8 представляет собой C_3-C_{21} насыщенный или мононенасыщенный, необязательно замещенный алкил) в присутствии липазы (например, Липазы PS-30, Липазы PPL, липазы CCL и т.п.) или фосфолипазы (например, фосфолипазы D и т.п.), получали желаемый стереоизомер сложного эфира 6. Такую реакцию можно проводить в

отсутствии растворителя или в присутствии инертного растворителя (например, метил трет.-бутилового эфира, толуола или гексана, и т.п.). Реакцию проводили при температуре в интервале от -20°C до примерно 80°C .

Спиртовый заместитель соединения 6 превращают в удаляемую группу (например, такую как галоген или сульфонат) по реакции с галогенирующим агентом (например, таким как NBS/ $\text{P}(\text{Ph})_3$ или NCS/ $\text{P}(\text{Ph})_3$, либо POCl_3 или NCS/ $\text{P}(\text{Ph})_3/\text{NaI}$ в среде ацетона или аналогичного растворителя) в среде инертного растворителя (например, такого как хлористый метилен, толуол, этилацетат и т.п.) или по реакции с 0,8-2,0 молярными эквивалентами сульфонил галогенида (например, такого как бензолсульфонилхлорид, толуолсульфонилхлорид или метансульфонилхлорид и т.п.) в присутствии 1,0-4,0 молярных эквивалентов основания (например, такого как триэтиламин, карбонат калия, пиридин, диметиламинопиридин или этилдиизопропиламин и т.п.) в среде инертного растворителя (например, такого как метилхлорид, толуол, этилацетат, пиридин, метил трет.-бутиловый эфир и т.п.) при температуре в интервале от -25°C до, примерно, 100°C с получением сложного эфира 7. (X_2 представляет собой галоген или сульфонатную уходящую группу).

По реакции соединения 7 с 0,9-2,0 молярными эквивалентами 2-амино-4-хлорпурина 8 в присутствии 1,0-6,0 молярных эквивалентов основания (например, такого как карбонат калия, NaH, KН, NaOH, KOH, диизопропиламид лития и т.п.) в среде инертного растворителя (например, такого как ДМФ, ТГФ, ацетонитрил, N-метилпирролидон этанол и т.п.) при температуре в интервале от -25°C до, примерно, 140°C , получали замещенный пурин 9.

В альтернативном случае, в результате Mitsunobu сочетания (например, с использованием системы $\text{P}(\text{Ph})_3/\text{диэтилазидокарбоксилат}$) спирта 6 с 2-амино-4-хлорпурином 8 получали соединение 9.

В результате реакции 9 с 2,0-20 молярными эквивалентами спирта $R_9\text{OH}$ (R_9 представляет собой такую спиртозащитную группу, как бензил и т.п.) в присутствии 1,0-6,0 молярных эквивалентов основания (например, такого как трет.-бутилат калия, карбонат калия, NaH, KН, диизопропиламид лития и т.п.) в среде инертного растворителя (например, такого как ТГФ, ДМФ и т.п.), при температуре от -25°C до, примерно, 150°C получали спирт 10.

В результате удаления спиртозащитной группы R_9 соединения 10 (например, в результате каталитического гидрирования в среде такого инертного растворителя, как этанол, бензиловый спирт, метанол, ТГФ и т.п. в присутствии такого гидрирующего катализатора, как Pd/C или $\text{Pd}(\text{OH})_2$ и т.п.), получали замещенный гуанин 11.

В результате этерификации соединения 11 по реакции с а) 0,8-2,0 молярными эквивалентами $R_{10}COOH$ и сшивающим агентом (например, ДСС/ДМАР) и т.п. в среде инертного растворителя (например, ТГФ, ДМФ и т.п.) или б/с 0,8-2,0 молярными эквивалентами активированного производного $R_{10}COOH$ (например, такого как хлорангидрид, или N-гидроксисукцинимидный сложный эфир, или $R_{10}C(O)OC(O)R_{10}$ и т.п.) в присутствии 0-3,0 молярных эквивалентов основания (например такого, как пиридин, триэтиламин, этилдиизопропиламин, ДВУ, карбонат калия и т.п.), в среде инертного растворителя (например такого, как метилхлорид, ТГФ, пиридин, ацетонитрил, ДМФ и т.п.) при температуре от $-25^{\circ}C$ до, примерно, $100^{\circ}C$, получали сложный эфир 12.

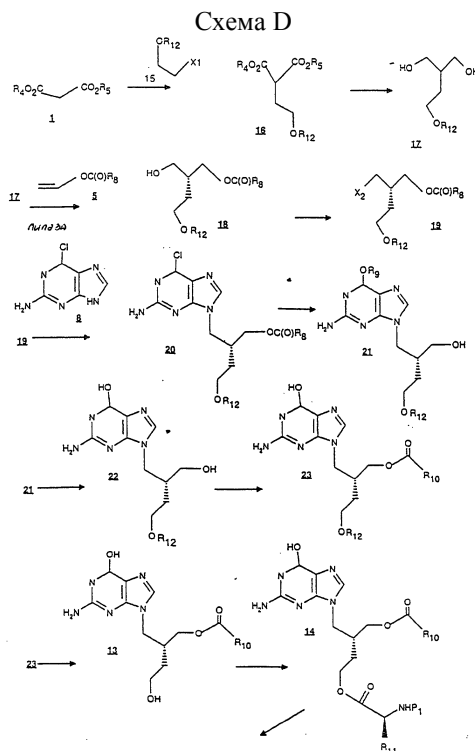
Ацетальный заместитель соединения 12 удаляли и полученный в результате альдегид восстанавливали путем реакции соединения 12 с 0,1-10,0 молярными эквивалентами кислоты (например, такой как трифликовая, HCl, уксусная, серная кислоты и т.п.) в среде инертного растворителя (например, такого как ТГФ/ H_2O , метилхлорид/ H_2O , этилацетат/ H_2O , этанол/ H_2O , метанол/ H_2O и т.п.) при температуре в интервале от $-25^{\circ}C$ до, примерно, $100^{\circ}C$. К сырой смеси добавляли 0,1-10,0 молярных эквивалентов основания (например, такого как бикарбонат натрия, карбонат калия, триэтиламин, пиридин, КОН и т.п.), дополнительное количество инертного растворителя (например, такого как ТГФ, хлористый метилен, этилацетат, метил трет.-бутиловый эфир, изопропанол и т.п.), а также от 0,3 до 5,0 молярных эквивалентов агента восстанавливающего альдегид (например, такого как боргидрид натрия, $RaNi/H_2$ и т.п.), при температуре в интервале от $-25^{\circ}C$ до $100^{\circ}C$, с получением спирта 13.

В результате реакции 13 с 0,8-3,0 молярными эквивалентами N-защитной аминокислоты $R_1NHCH(R_{11})COOH$ или ее активированного производного (R_1 представляет собой N-защитную группу, а R_{11} представляет собой изопропил или изобутил) в среде инертного растворителя (например, такого как ТГФ, диоксан, диоксолан, ДМФ, хлористый метилен и т.п.) при температуре 25- $100^{\circ}C$, получали спирт 14.

В результате снятия N-защитной группы соединения 14 получали соединение настоящего изобретения формулы I, в которой R_3 представляет собой -ОН.

В альтернативном случае, соединение 13 может реагировать с симметричным ангидридом, производным от $R_1NHCH(R_{11})COOH$ (например, $R_1NHCH(R_{11})C(O)O-C(O)CH(R_{11})NHP_1$) с получением соединения 1, в котором R_3 представляет собой ОН.

Другой альтернативный способ получения соединений, в которых R_3 представляет собой -ОН, представлен на схеме D.



Малонат 1 (R_4 и R_5 представляют собой низший алкил, бензил и т.п.) алкилировали 0,5-2,0 молярными эквивалентами простого эфира 15, в котором X_1 представляет собой уходящую группу (например, такую, как Cl, Br или I, или такой сульфат, как метансульфонат, трифлат, п-толуолсульфонат, бензолсульфонат и т.п.), а R_{12} представляет собой $-CH(Ph)_2$, $-C(Ph)_3$ или $-Si(трет.-Bu)(Me)_2$ и т.п., где Ph = фенил) в присутствии 0,5-2,0 молярных эквивалентов основания (например такого, как трет.-бутилат калия, этилат натрия, NaH, KN и т.п.) в среде инертного растворителя (например, такого, как ДМФ, ТГФ, диоксан, диоксолан, N-метилпирролидон и т.п.) при температуре от $-40^{\circ}C$ до, примерно, $190^{\circ}C$, с получением алкилированного малоната 16.

В результате восстановления соединения 16 0,5-4,0 молярными эквивалентами эфира относительно спиртового восстанавливающего агента (например, такого как $LiBH_4$ или $Ca(BH_4)_2$, $NaBH_4$ или $LiAlH_4$, либо т.п.) в среде инертного растворителя (например, такого как ТГФ, метил трет.-бутиловый эфир, этанол, трет.-бутанол и т.п.) при температуре от $-20^{\circ}C$ до, примерно, $100^{\circ}C$, получали диол 17. В результате энзимной этерификации соединения 17 по реакции с 1,0-20,0 молярными эквивалентами винильного эфира 5 (R_8 представляет собой C_3-C_{21} насыщенный или мононенасыщенный, необязательно замещенный алкил) в присутствии липазы (например, Липазы PS-30, Липазы PPL, липазы CCL и т.п.) или фосфолипазы (например, такой, как фосфолипаза D и т.п.), получали желаемый сте-реоизомер сложного эфира 18. Эту реакцию можно проводить в отсутствии

растворителя или в присутствии инертного растворителя (например, метил трет.-бутилового эфира, толуола, гексана или т.п.). Реакцию проводят при температуре в интервале от -20°C до, примерно, 80°C .

Спиртовый заместитель соединения 18 превращают в уходящую группу (например, такую как галоген или сульфонат) по реакции с галоидирующим агентом (например, таким как NBS/P(Ph)_3 , NCS/P(Ph)_3 , POCl_3 или $\text{NCS/P(Ph)}_3/\text{NaI}$ в среде ацетона или другого растворителя), в среде инертного растворителя (например, такого как хлористый метилен, толуол, этилацетат и т.п.), или по реакции с 0,8-2,0 молярными эквивалентами сульфонил галогенида (например, такого как бензолсульфонилхлорид, толуолсульфонилхлорид, или метан сульфонилхлорид и т.п.), в присутствии 1,0-4,0 молярных эквивалентов основания (например такого, как триэтиламин, карбонат калия, пиридин или метил трет.-бутиловый эфир и т.п.), при температуре от -25°C до, примерно, 100°C , с получением сложного эфира 19. (X_2 представляет собой галоген или сульфонатную уходящую группу).

По реакции соединения 19 с 0,9-2,0 молярными эквивалентами 2-амино-4-хлорпурина 8 в присутствии 1,0-6,0 молярных эквивалентов основания (например, такого как карбонат калия, NaNH , KOH , NaOH , KOH , диизопропиламид лития и т.п.), в среде инертного растворителя (например такого, как ДМФ, ТГФ, ацетонитрил, N-метилпирролидон, этанол и т.п.) при температуре в интервале от -25°C до, примерно, 140°C , получали замещенный пурин 20.

В альтернативном случае, в результате Mitsunobu сочетания (например, с помощью P(Ph)_3 /диэтилазидокарбоксилата) спирта 18, с 2-амино-4-хлорпурином 8, получали соединение 20.

В результате реакции соединения 20 с 2,0-20,0 молярными эквивалентами спирта R_9OH (R_9 представляет собой такую спиртозащитную группу, как бензил и т.п.), в присутствии 1,0-6,0 молярных эквивалентов основания (например, такого как трет.-бутилат калия, карбонат калия, NaNH , KOH , диизопропиламид лития и т.п. в среде инертного растворителя (например, такого как ТГФ, ДМФ и т.п.), при температуре в интервале от -25°C до примерно 150°C , получали спирт 21.

В результате удаления спиртозащитной группы R_9 в соединении 21 (например, путем каталитического гидрирования в среде такого инертного растворителя, как этанол, бензиловый спирт, метанол, ТГФ, и т.п. в присутствии такого катализатора гидрирования, как Pd/C или Pd(OH)_2 и т.п.) получали замещенный гуанин 22.

Проводят снятие защитной группы - эфирного заместителя соединения 23 реакцией с а) восстанавливающим агентом (например, таким как HCO_2H и Pd/C и т.п.), где R_{12} представляет собой $-\text{CH(Ph)}_2$ или $-\text{C(Ph)}_3$, или б) десилили-

рующим агентом (например, таким как Bu_4NF и т.п.), где R_{12} представляет собой $-\text{Si(трет.-Bu)(Me)}_2$ и т.п., с получением соединения 13.

Спирт 13 может быть превращен в соединение 1, как это показано в схеме С.

Дополнительное альтернативное решение включает энзиматическую этерификацию спирта 4 или 17 с помощью винилового эфира $\text{CH}_2=\text{CH-OC(O)R}_{10}$ (т.е. тот случай, когда в схемах С и D $\text{R}_8 = \text{R}_{10}$) с целью непосредственного внедрения в соединения 6 или 18 желаемой сложноэфирной группы карбоновой кислоты конечного продукта 1. Такой путь позволяет устранить стадии гидролиза сложного эфира и перэтерификации, в соответствии с 9-12, или 20-23.

Способы, показанные на схемах С и D, характеризуются тем, что каждая из гидроксильных групп ациклической боковой цепи дифференцируется в результате использования различных гидроксизащитных групп или предшествующих групп. Такой подход позволяет осуществлять селективное ацилирование каждой из гидроксигрупп аминокислотной или жирнокислотной группой.

Примеры, проиллюстрированные в схемах С и D, относятся к воплощениям изобретения, в которых R_1 является производным аминокислоты, а R_2 - производным жирной кислоты. Однако, должно быть понятно, что схемы могут быть применимы к соединениям, в которых R_1 является производным жирной кислоты, а R_2 - аминокислоты.

Подробное описание изобретения

Далее настоящее изобретение будет проиллюстрировано примером, касающимся исключительно следующих, не ограничивающих сферу изобретения примеров, сравнительных примеров и прилагаемых рисунков, где на фиг. 1 изображена функциональная временная зависимость уровней содержания H_2G в плазме для обезьян *супомолгус*, на которых применяли соединение изобретения, или альтернативное пролекарственное производное H_2G , как это дополнительно объяснено в биологическом примере 3; и на фиг. 2 изображена функциональная зависимость выживания от времени для инфицированных *Herpes simplex* мышей, на которых применяли различные дозировки соединения изобретения или известные противовирусные агенты, как это дополнительно объяснено в биологическом примере 4.

Пример 1. (R)-9-[2-(Стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Этот пример иллюстрирует применимость препаративной схемы А.

а) (R)-9-[4-(N-трет.-Бутоксикарбонил-L-валилокси)-2-(гидроксиметил)бутил]гуанин.

H_2G (5 г, 19,7 ммоль) растворяли в ДМФ (300 мл) при нагревании и охлаждали до комнатной температуры перед добавлением N-трет.-Вос-L-валина (5,58 г, 25,7 ммоль), ДМАР

(0,314 г 2,57 ммоль) и ДСС (6,52 г 31,6 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч и затем фильтровали. Продукт реакции подвергали хроматографической очистке на силикагеле, при элюировании смесью $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ с получением 2,4 г желаемого промежуточного продукта.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMSO-d_6): δ 0,95 (д, 6H), 1,47 (с, 9H), 1,5-1,8 (м, 2H), 1,96-2,20 (м, 2H), 3,40 (м, 2H), 3,91 (т, 1H), 4,05 (м, 2H), 4,21 (т, 2H), 4,89 (т, 1H), 6,6 (широкий с, 2H), 7,27 (д, 1H), 7,75 (с, 1H), 10,7 (широкий с, 1H).

б) (R)-9-[4-(N-трет.-Бутоксикарбонил-L-валилокси)-2-(стеарилоксиметил)бутил]гуанин.

Продукт со стадии а) (185 мг, 0,41 ммоль) растворяли в пиридине (5 мл), полученный раствор охлаждали на бане со льдом и добавляли хлористый стеарил (179 мкл, 0,531 ммоль). Полученный раствор выдерживали на бане со льдом в течение 2 ч и затем 1 ч при комнатной температуре. Затем его выпаривали и подвергали хроматографической очистке на силикагеле. Затем проводили элюирование смесью дихлорметан/метанол с получением 143 мг желаемого промежуточного продукта.

с) (R)-9-[2-(Стеарилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Продукт со стадии б) (138 мг, 0,192 ммоль) охлаждали на бане со льдом и добавляли трифторуксусную кислоту (5 мл). Полученный раствор выдерживали на бане со льдом в течение 45 мин и затем выпаривали с получением масла. Добавляли воду (0,5-1 мл) и полученную смесь выпаривали дважды. Остаток еще раз растворяли в воде (5 мл), фильтровали и сушили вымораживанием с получением 148 мг желаемого продукта в виде бистрифторацетатной соли.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMSO-d_6): δ 0,97 (т, 3H), 1,05 (дд, 6H), 1,34 (широкий с, 28H), 1,59 (м, 2H), 1,80 (м, 2H), 2,25 (м, 1H), 2,36 (т, 2H), 2,50 (м, 1H), 3,98-4,18 (м, 5H), 4,35 (т, 2H), 6,6 (широкий с, 2H), 8,0 (широкий с, 1H), 8,4 (широкий с, 3H), 10,9 (широкий с, 1H).

Пример 2. (R)-9-[2-(Миристоилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетатной соли по способу аналогичному описанному в примере 1, с использованием миристоил хлорида вместо стеариол хлорида на стадии б).

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMSO-d_6): δ 0,97 (т, 3H), 1,05 (дд, 6H), 1,34 (широкий с, 20H), 1,57 (м, 2H), 1,78 (м, 2H), 2,24 (м, 1H), 2,35 (т, 2H), 2,51 (м, 1H), 3,97-4,20 (м, 5H), 4,36 (т, 2H), 6,8 (широкий с, 2H), 8,2 (широкий с, 1H), 8,5 (широкий с, 3H), 11,1 (широкий с, 1H).

Пример 3. (R)-9-[2-(Олеилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетильной соли по способу, аналогичному описанному в примере 1, с использованием олеил хлорида вместо стеариол хлорида на стадии б).

^1H ЯМР (250 МГц, DMSO-d_6): δ 0,96 (т, 3H), 1,05 (дд, 6H), 1,35 (широкий с, 20H), 1,59 (м, 2H), 1,76 (м, 2H), 2,09 (м, 4H), 2,24 (м, 1H), 2,35 (т, 2H), 2,50 (м, 1H), 3,97-4,17 (м, 5H), 4,35 (т, 2H), 5,43 (т, 2H), 6,7 (широкий с, 2H), 8,0 (широкий с, 1H), 8,5 (широкий с, 3H), 11,1 (широкий с, 1H).

Пример 4. (R)-9-[2-(Бутирилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

а) (R)-9-[4-(N-трет.-Бутоксикарбонил-L-валилокси)-2-(бутирилоксиметил)бутил]гуанин.

ДСС (110 мг, 0,53 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл) и добавляли масляную кислоту (82 мг, 0,93 ммоль). Через 4 ч реакции при комнатной температуре смесь фильтровали и фильтрат выпаривали. Остаток растворяли в пиридине (5 мл) и добавляли (R)-9-[4-(N-трет.-бутоксикарбонил-L-валилокси)-2-гидроксиметилбутил]гуанин (200 мг, 0,44 ммоль) (пример 1, стадия а)). Полученную смесь перемешивали в течение 120 ч при комнатной температуре. В соответствии с данными ТСХ реакция протекает не полностью и с использованием описанной выше методики образуется большее количество ангидрида. Такой ангидрид добавляли в систему и полученную смесь перемешивали еще в течение 20 ч. Реакционную смесь выпаривали и подвергали хроматографической очистке сначала на силикагеле и затем на оксиде алюминия, в обоих случаях проводили элюирование смесью дихлорметан/метанол с получением 79 мг промежуточного продукта.

б) (R)-9-[2-(Бутирилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Промежуточный продукт со стадии а) подвергали реакции снятия защитной группы, осуществляемой по способу, аналогичному примеру 1, стадия 3, с получением 84 мг желаемого продукта в виде бистрифторацетатной соли.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, D_2O): δ 0,88 (т, 3H), 1,06 (дд, 6H), 1,53 (м, 2H), 1,93 (кв., 2H), 2,25 (т, 2H), 2,36 (м, 1H), 2,60 (м, 1H), 4,06 (д, 1H), 4,14-4,30 (м, 2H), 4,43 (м, 4H), 8,99 (широкий с, 1H).

Пример 5. (R)-9-[2-(Деканоилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетатной соли по способу, аналогичному описанному в примере 1, с использованием деканоил хлорида вместо стеариол хлорида на стадии б).

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, D_2O): δ 0,90 (м, 3H), 1,01 (д, 6H), 1,28 (широкий с, 12H), 1,5 (м, 2H), 1,8 (м, 2H), 2,3 (м, 3H), 2,5 (м, 1H), 4,0-4,4 (м, 7H), 8,1 (широкий с, 1H).

Пример 6. (R)-9-[2-Докозаноилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Полученное соединение получали в виде бистрифторацетатной соли по способу, аналогичному описанному в примере 1, но с использованием на стадии б) ДМАР/ДСС условий стадии а) примера 1, совместно с докозановой кислотой, вместо N-t-Вос-L-валина, и смеси ДМФ и дихлорметана в качестве растворителя.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMCO-d_6): δ 0,97 (т, 3H), 1,05 (дд, 6H), 1,34 (широкий с, 36H), 1,58 (м, 2H), 1,77 (м, 2H), 2,24 (м, 1H), 2,35 (т, 2H), 2,50 (м, 1H), 3,97-4,17 (м, 5H), 4,35 (т, 2H), 6,7 (широкий с, 2H), 8,1 (широкий с, 1H), 8,4 (широкий с, 3H), 11,0 (широкий с, 1H).

Пример 7. R-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанин.

Этот пример иллюстрирует использование препаративной схемы В.

а) (R)-9-[2-гидроксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилилокси)бутил]гуанин H₂G (2 г, 8 ммоль) дважды совместно выпаривали с сухим ДМФ и затем суспендировали в сухом ДМФ (120 мл) и пиридине (1 мл). К полученной суспензии прикапывали при 0°C в течение 30 мин раствор трет.-бутилдифенилхлорсилана (2,1 мл, 8,2 ммоль) в дихлорметане (20 мл). После завершения прикапывания реакционный раствор становился прозрачным. Реакцию проводили при 0°C в течение двух часов и затем выдерживали при 4°C в течение ночи. В реакционную смесь добавляли метанол (5 мл). Через 20 мин при комнатной температуре реакционную смесь выпаривали до небольшого объема, переливали в водный раствор бикарбоната натрия и экстрагировали дважды дихлорметаном. Органическую фазу сушили над сульфатом натрия и выпаривали в вакууме. Продукт выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле, с использованием системы метанол/дихлорметан с постепенно увеличивающимися концентрациями MeOH. Продукт элюировали в количестве 1,89 г с помощью системы 7% MeOH в CH_2Cl_2 .

б) (R)-9-[2-(Стеароилоксиметил)-4-(трет.-бутилдифенилсилилокси)бутил]гуанин.

(R)-9-[2-Гидроксиметил-4-(трет.-бутилдифенилсилилокси)бутил]гуанин (2,31 г, 5 ммоль) дважды совместно выпаривали с сухим пиридином и растворяли в пиридине (20 мл). К полученному раствору медленно прикапывали стеароил хлорид (1,86 мл, 5,5 ммоль, технический сорт) в дихлорметане (2 мл) при -5°C. Реакционную смесь выдерживали при такой же температуре в течение 1 ч и затем при 5°C в течение 2 ч. За ходом реакции следили с помощью ТСХ. В результате незавершения реакции при -5°C, в систему добавляли дополнительное количество стеароил хлорида (0,29 мл). Через 30 мин при 5°C, добавляли метанол (3 мл) и реакционный раствор перемешивали в течение 20 мин. Затем его переливали в водный раствор бикарбоната натрия и экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу сушили и продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле с использованием ступенчато увеличивающихся количеств MeOH, проводя элюирование смесью 3,5% MeOH с CH_2Cl_2 (Выход 2,7 г).

ническую фазу сушили и продукт очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле с использованием ступенчато увеличивающихся количеств MeOH, проводя элюирование смесью 3,5% MeOH с CH_2Cl_2 (Выход 2,7 г).

с) (R)-9-[4-Гидрокси-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанин.

(R)-9-[2-(Стеароилоксиметил)-4-(трет.-бутилдифенилсилилокси)бутил]гуанин (2,7 г, 3,56 ммоль) растворяли в сухом ТГФ (30 мл) и в раствор добавляли систему фтористый водород-пиридин (1,5 мл). Реакционную смесь выдерживали при 4°C в течение ночи и за ходом реакции следили методом ТСХ. В ходе реакции достигалась конверсия 80%. Вводили дополнительное количество HF-пиридин (0,75 мл). Через 4 ч методом ТСХ было установлено израсходование исходного материала. Реакционную смесь концентрировали в вакууме без повышения температуры, добавляли пиридин (5 мл) и вновь проводили выпаривание. Продукт реакции выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле (Выход 1,26 г).

д) (R)-9-[4-(N-BOC-L-изолейцилокси)-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанин.

(R)-9-[4-Гидрокси-2-стеароилоксиметил)бутил]гуанин (135 мг, 0,26 ммоль) и N-BOC-L-изолейцин (180 мг, 0,78 ммоль) дважды совместно выпаривали с сухим ДМФ и растворяли в этом же растворителе (3,5 мл). К раствору добавляли 1,3-дициклогексилкарбодиимид (160 мг, 0,78 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (4,8 мг, 0,039 ммоль). Через 18 ч, реакционную смесь фильтровали через целит и обрабатывали традиционным способом. Целевой продукт выделяли методом колоночной хроматографии на силикагеле, проводя элюирование смесью 5% MeOH в CH_2Cl_2 (Выход 160 мг).

е) (R)-9-[4-(L-Изолейцилокси)-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанин.

(R)-9-[4-(N-BOC-L-изолейцилокси)-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанин (150 мг, 0,205 ммоль) со стадии д) обрабатывали трифторуксусной кислотой (3 мл) при 0°C в течение 20 мин. Раствор выпаривали в вакууме. Полученный остаток дважды совместно выпаривали с толуолом и в течение нескольких часов выдерживали в вакууме. Полученный остаток растворяли в MeOH (2 мл) и выпаривали с получением трифторацетатной соли в виде стеклоподобного продукта (выход 191 мг).

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMCO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$) δ 8,35 (с, 1H, основание), 4,21 (т, 2H, H-4), 4,10 (д, 2H), 3,96 (д, 2H), 3,90 (д, 1H, изолейцин), 2,48 (м, 1H, H-2), 2,15 (2H, стеароил), 1,85 (м, 1H, изолейцин), 1,68 (м, 4H), 1,48 (м, 4H), 1,68 (м, 28H), 0,81 (м, 9H).

Пример 8. (R)-9-[2-(Деканоилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетильной соли по способу, аналогичному описанному в примере 7, используя дека-

ноилхлорид вместо стеароилхлорида на стадии b).

Спектр ^1H ЯМР (DMCO-d_6): δ 11.1 (с, 1H, NH), 8.35 (с, широкий, 3H), 8.28 (с, 1H, основание), 6.75 (с, 2H, NH_2), 4.23 (т, 2H), 4.07 (д, 2H), 4.05 (м, 3H), 2.4 (м, 1H), 2.21 (т, 2H), 1.83 (м, 1H), 1.66 (м, 2H), 1.45 (м, 2H), 1.39 (м, 2H), 1.22 (с, 12H), 0.84 (м, 9H).

Пример 9. (R)-9-[4-(L-Изолейцилокси)-2-(миристоилоксиметил)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетильной соли по способу, аналогичному описанному для примера 1, с использованием N-BOC-L-изолейцина вместо N-BOC-валина на стадии a) и миристоилхлорида на стадии b).

Спектр ^1H ЯМР (DMCO-d_6): δ 10.99 (с, 1H), 8.34 (широкий с, 3H), 8.15 (с, 1H), 6.67 (широкий с, 2H), 4.23 (т, 2H), 4.05 (д, 2H), 3.97 (м, 3H), 2.48 (м, 1H), 2.20 (т, 2H), 1.85 (м, 1H), 1.65 (м, 2H), 1.41 (м, 4H), 1.23 (с, 20H), 0.85 (м, 9H).

Пример 10. (R)-9-[2-(4-Ацетилбутирилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетатной соли по способу, аналогичному способу примера 1, но с использованием на стадии b) ДСС/ДМАР условий примера 1, стадия a) совместно с 4-ацетилмасляной кислотой вместо N-трет.-Вос-L-валина.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMCO-d_6): δ 1.05 (дд, 6H), 1.77 (м, 4H), 2.19 (с, 3H), 2.24 (м, 1H), 2.36 (т, 2H), 2.44-2.60 (м, 3H), 3.96-4.20 (м, 5H), 4.36 (м, 2H), 6.8 (широкий с, 2H), 8.3 (широкий с, 1H), 8.5 (широкий с, 3H), 11.1 (широкий с, 1H).

Пример 11. (R)-9-[2-Додеканоилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетатной соли по способу, аналогичному способу примера 1, с использованием на стадии b) додеканоилхлорида вместо стеароилхлорида.

Пример 12. (R)-9-[2-Пальмитоилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали в виде бистрифторацетатной соли по способу, аналогичному способу примера 1, с использованием пальмитоилхлорида вместо стеароилхлорида на стадии b).

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMCO-d_6): δ 0.97 (т, 3H), 1.05 (м, 6H), 1.35 (широкий с, 24H), 1.58 (м, 2H), 1.78 (м, 2H), 2.25 (м, 1H), 2.35 (т, 2H), 2.51 (м, 1H), 3.97-4.18 (м, 5H), 4.35 (т, 2H), 6.7 (широкий с, 2H), 8.1 (широкий с, 1H), 8.5 (широкий с, 3H), 11.0 (широкий с, 1H).

Пример 13. (R)-2-Амино-9-[2-стеароилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]пурин.

Этот пример иллюстрирует деоксигенирование группы R_1 .

a) (R)-2-Амино-9-[2-стеароилоксиметил-4-(N-трет.-бутоксикарбонил-L-валилокси)бутил]-6-хлорпурин.

К раствору (R)-9-[2-стеароилоксиметил-4-(N-трет.-бутоксикарбонил-L-валилокси)бутил]гуанина со стадии 2 примера 1 (646 мг, 0.9 ммоль) в ацетонитриле добавляли тетраметиламмонийхлорид (427 мг, 2.7 ммоль), N,N-диэтиланилин (0.716 мл, 4.5 ммоль) и оксихлорид фосфора (0.417 мл, 4.5 ммоль). Реакцию проводили в условиях дефлегмации и за ее ходом следили методом ТСХ. Через 3 ч реакционную смесь выпаривали в вакууме и остаток растворяли в дихлорметане, затем переливали в холодный водный раствор бикарбоната натрия. Органическую фазу выпаривали и очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле. Выход: 251 мг.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 7.76 (1H, H-8), 5.43 (широкий, 2H, NH_2), 4.45-4.00 (м, 7H), 2.53 (м, 1H), 2.28 (т, 2H), 2.12 (м, 1H), 1.75 (м, 2H), 1.59 (м, 2H), 1.43 (9H), 1.25 (м, 28H), 0.96 (д, 3H), 0.87 (м, 6H).

b) (R)-2-Амино-9-[2-стеароилоксиметил-4-(N-трет.-бутоксикарбонил-L-валилокси)бутил]пурин.

К раствору (R)-2-амино-9-[2-стеароилоксиметил-4-[N-трет.-бутоксикарбонил-L-валилокси)бутил]-6-хлорпурина (240 мг, 0.33 ммоль) в смеси метанол/этилацетат (6 мл, 3:1 об./об.) добавляли формиат аммония (105 мг, 1.65 ммоль) и 10% палладия на угле (15 мг). Реакционную смесь выдерживали в условиях дефлегмации в течение 1 ч, снова загружали формиат аммония (70 мг). Еще через час, в соответствии с данными ТСХ было установлено, что реакция завершена и полученную смесь фильтровали через целит и интенсивно промывали этанолом. Фильтрат выпаривали и очищали на колонке с силикагелем. Выход: 193 мг.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 8.69 (синглет, 1H, H-6), 7.74 (с, 1H, H-8), 5.18 (широкий с, 2H, NH_2), 4.45-4.01 (м, 7H), 2.55 (м, 1H), 2.28 (т, 2H), 2.10 (м, 1H), 1.75 (м, 2H), 1.60 (м, 2H), 1.43 (с, 9H), 1.25 (с, 28H), 0.96 (д, 3H), 0.87 (м, 6H).

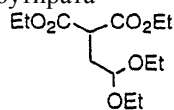
c) (R)-2-Амино-9-[2-стеароилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]пурин.

(R)-2-Амино-9-[2-стеароилоксиметил-4-(N-трет.-бутоксикарбонил-L-валилокси)бутил]пурин (180 мг, 0.26 ммоль) обрабатывали трифторуксусной кислотой (5 мл) при 0°C в течение 40 мин. Затем смесь выпаривали в вакууме и последовательно совместно выпаривали с толуолом и метанолом. Остаток сушили вымораживанием в течение ночи с получением 195 мг желаемого продукта.

Спектр ^1H ЯМР (DMCO-d_6): δ 8.78 (с, 1H, H-6), 8.32 (широкая, 3H), 8.29 (с, 1H, H-8), 4.27 (т, 2H), 4.13 (д, 2H), 3.98 (т, 2H, 2H), 3.89 (м, 1H), 2.47 (м, 1H), 2.18 (м, 3H), 1.43 (м, 2H), 1.23 (28H), 0.93 (м, 6H), 0.85 (т, 3H).

Пример 14. Альтернативное получение (R)-9-[4-Гидрокси-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанина.

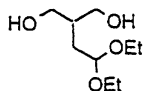
а) Получение этил 4,4-диэтокси-2-этоксикарбонилбутирата



Трет.-бутилат калия (141,8 г, 1,11 экв.) растворяли в сухом ДМФ (1 л). В течение 5 минут добавляли диэтилмалонат (266 мл, 1,54 экв.). В течение 5 мин добавляли диэтилацеталь бромацетальдегида (172 мл, 1,14 моля). Смесь нагревали до 120°C (внутренняя температура) и перемешивали при 120°C в течение 5 ч. Полученной смеси давали охлаждаться до комнатной температуры, переливали в воду (5л) и экстрагировали метил-трет.-бутиловым эфиром (МТБЕ, 3 x 600 мл). Органический раствор сушили над MgSO_4 , фильтровали, концентрировали и перегоняли (0,5 мм, 95-140°C) с получением желаемого диэфира (244 г, 78%) в виде бесцветного масла.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 1,19 (т, 6H), 1,28 (т, 6H), 2,22 (дд, 2H), 3,49 (м, 2H), 3,51 (т, 1H), 3,65 (м, 2H), 4,20 (квадруплет, 4H), 4,54 (т, 1H).

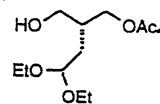
б) Получение 4,4-диэтокси-2-(гидроксиметил)бутанола



LiBH_4 (торговый раствор, 2М в ТГФ, 22,5 мл) и продукт со стадии а) примера 14 (5 г в 15 мл ТГФ, 18,1 ммоль) объединяли друг с другом, нагревали до 60°C и перемешивали при 60°C в течение 4 ч. Реакционной смеси давали охлаждаться до комнатной температуры и реакционный сосуд помещали в баню с холодной водой. Затем триэтанолламин (5,97 мл, 1 экв.) добавляли с такой скоростью, чтобы температура реакционной смеси поддерживалась в интервале 20-25°C. Рассол (17,5 мл) добавляли с такой скоростью, которая позволяла регулировать газы-деление и полученную смесь перемешивали в течение 45 мин при комнатной температуре. Происходило расслаивание системы, и органический слой промывали рассолом (2 x 15 мл). Объединенные промывки рассолом экстрагировали МТБЕ (метил-трет.-бутиловым эфиром, 3 x 20 мл). Объединенные органические экстракты выпаривали и остаток растворяли в МТБЕ (50 мл) и промывали рассолом (25 мл). Слой рассола подвергали обратной экстракции МТБЕ (3 x 25 мл). Объединенные органические экстракты сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением желаемого диола (3,36 г, 15,5 ммоль, 97%) в виде бесцветного масла.

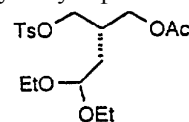
Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 1,22 (т, 6H), 1,73 (дд, 2H), 1,92 (м, 1H), 2,67 (широкий с, 2H), 3,52 (м, 2H), 3,69 (м, 2H), 3,72 (м, 4H), 4,62 (т, 1H).

с) Получение (2R)-2-ацетоксиметил-4, 4-диэтоксипутанола



В 1-горлую круглодонную колбу объемом 10 мл загружали продукт со стадии б) примера 14 (3,84 г, 20 ммоль), после чего добавляли винил ацетат (2,6 г, 30 ммоль) и наконец Липазу PS 30 (69 мг, полученную от Amano, Lombard, Illinois). Смесь перемешивали при температуре окружающего воздуха в течение 16 ч. За ходом реакции внимательно следили методом ТСХ (2/1 гексан -EtOAc; окрашивание $\text{Ce}_2(\text{SO}_4)_3$ и обугливание на горячей пластинке; r.f. диола - 0,1, моноацетата - 0,3, бис ацетата - 0,75). Реакционную смесь разбавляли CH_2Cl_2 и фильтровали через 5-микронный фильтр. Фильтр промывали дополнительным количеством CH_2Cl_2 . Затем фильтрат концентрировали в вакууме с получением желаемого продукта.

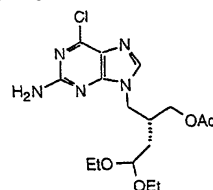
д) Получение (2S)-2-ацетоксиметил-4,4-диэтоксипутанолуол-сульфоната.



В 1-горлую круглодонную колбу емкостью 100 мл, снабженную магнитной мешалкой и мембраной, в атмосфере азота загружали сырой продукт со стадии с) примера 14 (4,62 г, 19 ммоль), сухой CH_2Cl_2 (20 мл) и Et_3N (5,62 мл, 40 ммоль). К полученному раствору добавляли хлористый тозил (4,76 г, 25 ммоль). Полученную в результате смесь перемешивали при температуре окружающего воздуха в течение 4 ч. Загружали H_2O (0,27 г, 15 ммоль) и смесь интенсивно перемешивали в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли 80 мл EtOAc и 50 мл H_2O и водный слой отделяли. К органическому слою добавляли 75 мл 5% водного раствора KH_2PO_4 . После перемешивания и разделения слоев, водный слой отбрасывали. Органический слой промывали 50 мл насыщенного раствора NaHCO_3 , сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме до постоянного веса, в результате чего получали 7,40 г желаемого продукта.

Спектр ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 1,17 (т, 6H), 1,62 (м, 2H), 1,94 (с, 3H), 2,19 (м, 1H), 2,45 (с, 3H), 3,42 (м, 2H), 3,6 (м, 2H), 4,03 (м, 4H), 4,51 (т, 1H), 7,36 (д, 2H), 7,79 (д, 2H).

е) Получение

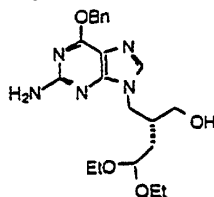


В 1-горлую круглодонную колбу емкостью 50 мл загружали продукт со стадии д) примера

14 (3,88 г, 10 ммоль), безводный ДМФ (20 мл), 2-амино-4-хлорпурин (2,125 г 12,5 ммоль) и K_2CO_3 (4,83 г). Полученную в результате суспензию перемешивали при 40°C в атмосфере N_2 в течение 20 ч. Смесь концентрировали для удаления большей части ДМФ на ротационном испарителе. Остаток разбавляли EtOAc (50 мл) и H_2O (50 мл). Реакционную смесь переносили в делительную воронку, встряхивали и отделяли водный слой. Водный слой экстрагировали EtOAc (25 мл). Органические слои объединяли и промывали 5% KH_2PO_4 (75 мл). Органический слой отделяли и промывали H_2O (75 мл), рассолом (75 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 3,95 г сырого продукта. Этот сырой продукт суспендировали с 40 мл метил-трет.-бутилового эфира. Полученную смесь перемешивали в течение ночи при 4°C и фильтровали. Фильтрат концентрировали с получением 3,35 г продукта в виде масла (содержащего 2,6 г целевого продукта в соответствии с данными HPLC анализа).

300 МГц 1H ЯМР ($CDCl_3$) δ 1,19 (м, 6H), 1,69 (2H), 1,79 (с, 1H), 2,03 (с, 3H), 2,52 (м, 1H), 3,48 (м, 2H), 3,62 (м, 2H), 4,04 (м, 2H), 4,16 (м, 2H), 4,61 (т, 1H), 5,12 (широкий с, 2H), 7,81 (с, 1H).

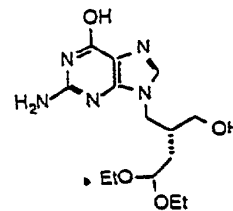
f) Получение



(Bn = бензил). В 1-горлую круглодонную колбу емкостью 500 мл загружали бензиловый спирт (136 мл) смесь охлаждали до 0°C после чего порциями добавляли КО-трет.-Бу (36 г, 321 ммоль). Смеси давали нагреваться до 40°C и в течение 20 мин смесь перемешивали. К полученной смеси при 0°C добавляли сырой продукт со стадии e) примера 14 (24,7 г, 64,2 ммоль), растворенный в 25 мл безводного ТГФ и бензиловый спирт (30 мл). Температуру давали медленно повышаться до 8°C за два часа. Реакционную смесь переливали в 500 мл льда и экстрагировали 500 мл МТБЕ. Органический слой промывали 250 мл рассола, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме с получением 193 г раствора целевого продукта в бензиловом спирте. В соответствии с данными HPLC анализа, было установлено, что раствор содержал 25,96 г целевого продукта.

300 МГц 1H ЯМР ($CDCl_3$) δ 1,22 (м, 6H), 1,55 (2H), 2,18 (м, 1H), 3,15 (м, 1H), 3,40 (м, 1H), 3,51 (м, 2H), 3,70 (м, 2H), 4,25 (м, 2H), 4,63 (т, 1H), 4,90 (широкий с, 2H), 5,25 (м, 1H), 5,58 (с, 2H), 7,35 (м, 3H), 7,51 (м, 2H), 7,72 (с, 1H). MS = (M+H)⁺ = 416 (CI).

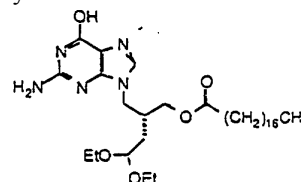
g) Получение



В 1-горлую круглодонную колбу емкостью 100 мл загружали сырой продукт со стадии f) Примера 14 (9,65 г раствора в бензиловом спирте содержащего 1,30 г, 3,13 ммоль продукта стадии f) примера 14 (растворенного в абсолютном EtOH (20 мл). К раствору добавляли 0,45 г 10% Pd/C, суспендированного в 5 мл абсолютного EtOH. Реакционную колбу откачивали и, из баллона с водородом, трижды заполняли H_2 . В реакционной колбе создавали давление H_2 , равное 1 атм., и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали через слой диатомовой земли для удаления Pd/C. Летучие продукты удаляли в вакууме. Остаток смешивали с 25 мл изопропилацетата и затем концентрировали в вакууме. Остаток разбавляли EtOAc (10 мл), вводили затравку целевого продукта, нагревали до дефлегмации и затем добавляли CH_3CN (2 мл) и МТБЕ (35 мл). Затем полученную смесь перемешивали в течение 30 мин. Осадок отфильтровывали и сушили до постоянного веса, с получением 600 мг целевого продукта.

300 МГц 1H ЯМР (d_6 -DMSO) δ 1,16 (м, 6H), 1,45 (м, 1H), 1,61 (м, 1H), 2,16 (м, 1H), 3,45 (м, 2H), 3,40 (м, 1H), 3,62 (м, 2H), 4,02 (м, 2H), 4,53 (т, 1H), 4,85 (т, 1H), 6,55 (широкий с, 1H), 7,75 (с, 1H), MS = (M+H)⁺ = 416 (CI).

h) Получение

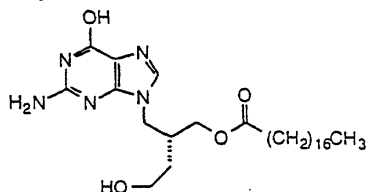


В 1-горлую круглодонную колбу емкостью 25 мл загружали продукт со стадии g) примера 14 (0,650 г, 2,0 ммоль), пиридин (4 мл) и CH_2Cl_2 (2 мл), ДМАР (10 мг). Полученную смесь охлаждали до -5°C и в течение 5 мин добавляли стеароилхлорид (790 мг, 2,6 ммоль), растворенный в CH_2Cl_2 (0,5 мл). Полученную в результате смесь перемешивали в течение 16 ч при -5°C. Добавляли абсолютный этанол (0,138 г, 3,0 ммоль) и смесь перемешивали еще в течение 1 ч. Затем реакционную смесь концентрировали в вакууме. К остатку добавляли толуол (30 мл) и затем смесь концентрировали в вакууме. К полученному остатку снова добавляли толуол (30 мл) и смесь концентрировали в вакууме. К полученному остатку добавляли 1% KH_2PO_4 (25 мл) и эту смесь экстрагировали CH_2Cl_2 (60 мл). Органический слой отделяли и сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме до постоянного веса 1,65 г. Сырой про-

дукт подвергали хроматографической очистке на 40 г SiO₂, проводя элюирование смесью CH₂Cl₂-EtOH в соотношении 95/5, в результате чего получали 367 мг целевого продукта.

300 МГц ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 0,89 (т, 3H), 1,26 (м, 30H), 1,65 (м, 3H), 2,32 (м, 1H), 3,45 (м, 1H), 3,60 (м, 2H), 4,08 (м, 2H), 4,60 (м, 1H), 6,0 (широкий с, 2H), 7,53 (с, 1H).

i) Получение



В 1-горлую круглодонную колбу емкостью 25 мл загружали продукт со стадии h) примера 14 (0,234 г, 0,394 ммоль), растворенный в ТГФ (1,7 мл). В этот раствор добавляли трифлюороборатную кислоту (0,108 г) в 180 мг H₂O. Полученную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. К реакционной смеси добавляли насыщенный раствор NaHCO₃ (10 мл), ТГФ (5 мл), CH₂Cl₂ (2 мл) и NaBH₄ (0,10 г). Смесь перемешивали в течение 30 мин. К реакционной смеси добавляли 5% раствор KH₂PO₄ (30 мл). Полученную смесь экстрагировали 2 x 15 мл CH₂Cl₂. Органические слои объединяли и сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме до постоянного веса 207 мг. Полученный материал перекристаллизовывали из EtOAc (8 мл) и CH₃CN (0,5 мл) с получением 173 мг целевого продукта.

300 МГц ¹H ЯМР (d₆-DMSO) δ 0,82 (т, 3H), 1,19 (м, 30H), 1,41 (м, 4H), 2,19 (т, 2H), 2,32 (м, 1H), 3,40 (м, 2H), 3,9 (м, 4H), 4,49 (м, 1H), 6,4 (широкий с, 2H), 7,61 (м, 1,5H), 9,55 (м, 0,5H).

Пример 15. Альтернативное получение (R)-9-[4-(N-трет.-бутилоксикарбонил-L-валилокси)-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанина.

(R)-9-[2-(Стеароилоксиметил)-4-(трет.-бутилдифенилсилилокси)бутил]гуанин (45 г) и ТГФ (950 мл) смешивали в 2 л колбе. Затем добавляли Вос-L-валин (3,22 г, 0,25 экв.), после чего в течение 10 мин добавляли фтористый тетрабутиламмоний (1М в ТГФ, 89,05 мл). Прозрачную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч 50 мин, следя за ходом реакции с помощью ТСХ (90/10 CH₂Cl₂/MeOH).

В реакционную смесь добавляли Вос-L-валин (35,43 г, 2,75 экв.), ДСС (36,67 г, 2,75 экв.) и диметиламинопиридин (1,1 г, 0,15 экв.) в ТГФ (25 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. ДСУ отфильтровывали и промывали CH₂Cl₂. Фильтрат концентрировали и остаток переносили в 2 л CH₂Cl₂ и промывали 2 л насыщенного раствора бикарбоната натрия и рассола, взятыми в соотношении 1:2. В результате сушки и выпаривания получали примерно 100 г сырого продукта.

Этот материал очищали методом хроматографии на оксиде кремния (6000 мл оксида кремния) с использованием от 3% MeOH/CH₂Cl₂ до 5% MeOH/CH₂Cl₂ с получением 38,22 мг целевого продукта.

Пример 16. Альтернативное получение (R)-9-[2-(стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина.

а) (R)-9-[2-Гидроксиметил)-4-(трет.-бутилдифенилсилилоксиметил)бутил]гуанин H₂G (450,0 г, 1,78 моля) и N,N-диметилформамид (6,4 кг) загружали в выпарной аппарат Buchi и смесь нагревали для растворения твердого вещества. Раствор концентрировали досуха в вакууме при температуре не выше 90°C. Полученный в результате порошок переносили в 22-литровую колбу, снабженную мешалкой, капельной воронкой и датчиком температуры. Последовательно добавляли N,N-диметилформамид (1,7 кг) и пиридин (3,53 кг). Полученную в результате суспензию охлаждали до -10°C в атмосфере азота и перемешивали при -5±5°C, прикапывая при этом трет.-бутилхлордифенилсилан (684 г, 2,49 моля). Полученную в результате смесь перемешивали при -5±5°C до завершения реакции (о чем судили по данным ТСХ (метилхлорид/метанол, 10:1) и HPLC (колонок 4,6 x 250 мм Zorbax RxC8 (5 микрон); 60:40 ацетонитрил -водн.NH₄OAc (0,05 М) при скорости 1,5 мл/мин; УФ-детекция при 254 нм). Добавляли воду (16 кг) и смесь перемешивали в течение 30 мин для осаждения продукта, после чего смесь охлаждали до 0°C в течение 30 мин. Твердое вещество выделяли фильтрацией и продукт на фильтре промывали холодной водой и сушили с отсосом воздуха с получением сырого продукта в виде белого твердого вещества. Сырое твердое вещество переносили в пиридин (3 кг) и концентрировали в вакууме при 60°C для удаления воды. Сухой твердый остаток суспендировали с метанолом (10 кг) при 60°C в течение 1-2 ч и фильтровали в горячем состоянии. Фильтрат концентрировали в вакууме и твердый остаток подвергали дефлегмации с изопропилацетатом (7 кг) в течение 30 мин. Полученную смесь охлаждали до 20°C и фильтровали. Осадок на фильтре сушили в вакууме при 50°C с получением целевого соединения в виде белого твердого вещества (555 г).

б) (R)-9-[2-(Стеароилоксиметил)-4-(трет.-бутилдифенилсилилокси)бутил]гуанин.

Продукт со стадии а) примера 16 (555 г, 1,113 моля) загружали в 50-литровый выпарной аппарат Buchi. Прикапывали пиридин (2,7 кг) для растворения твердого вещества и полученную смесь перегоняли досуха в вакууме при 60°C. Остаток переносили в свежий пиридин (2,7 кг) и смесь переносили в 22-литровую колбу, снабженную мешалкой, капельной воронкой и датчиком температуры. Полученный раствор охлаждали до -5°C в атмосфере азота. Раствор стеароилхлорида (440 г, 1,45 моля) в хлористом

метилена (1,5 кг) добавляли таким образом, чтобы поддерживать температуру ниже 0°C. Добавляли 4-(N,N-диметиламино)пиридин (15 г, 0,12 моля) и полученную смесь перемешивали при -5-0°C в течение 2-4 ч до завершения конверсии (о чем судили по данным ТСХ (10:1 метиленхлорид/метанол) и HPLC (колонка 4,6 x 250 мм Zorbax RxС8 (5 микрон); 60:40 ацетонитрил - водн. NH₄OAc (0,05 М) при скорости 1,5 мл/мин; УФ-детекция при 254 нм. К концу реакции добавляли ацетонитрил (8,7 кг) и смесь перемешивали в течение не менее 15 мин с целью осаждения продукта. Суспензию охлаждали до 0°C в течение 2 ч и твердое вещество выделяли фильтрацией, а осадок на фильтре промывали ацетонитрилом (2 кг). Целевой продукт получали в виде белого твердого вещества (775 г).

с) (R)-9-[4-Гидрокси-2-(стеарилоксиметил)бутил]гуанин.

Раствор продукта со стадии b) примера 16 (765 г, 0,29 моля) в тетрагидрофуране (10 кг) готовили в реакторе. Добавляли раствор тетра(н-бутил)аммонийфторида в тетрагидрофуране (1,7 кг 1М раствора, 1,7 моля) и полученный в результате прозрачный раствор перемешивали при 20±5°C в течение 4 ч. Добавляли воду (32 кг) и полученную в результате суспензию перемешивали в течение 1 ч и затем охлаждали до 0°C в течение 30 мин. Осадок выделяли фильтрацией и осадок на фильтре последовательно промывали водой (10 кг) и ацетонитрилом (5 кг). После сушки в вакууме при 25°C получали 702 г сырого продукта. Сырой продукт растворяли в ТГФ (4,2 кг) и воде (160 г), в условиях дефлегмации, затем охлаждали до 40°C и обрабатывали хлористым метилом (14,5 кг). Смеси давали охлаждаться до 22±5°C в течение 1 ч, затем ее охлаждали до 5±5°C в течение 1 ч с целью завершения осаждения. Слегка окрашенный порошок выделяли фильтрацией и сушили в вакууме при 40°C с получением целевого продукта (416 г).

d) (R)-9-[4-(N-Cbz-L-валилокси)-2-(стеарилоксиметил)бутил]гуанин.

Раствор N-Cbz-L-валина (169 г, 0,67 моля) в сухом ТГФ (750 мл) готовили в 2-х литровой колбе, снабженной механической мешалкой, термометром и капельной воронкой. В течение 5 мин добавляли раствор дициклогексилкарбодиимида (69,3 г, 0,34 моля) в ТГФ (250 мл) и полученную в результате суспензию перемешивали при 20±5°C в течение 2 ч. Суспензию фильтровали и осадок на фильтре промывали ТГФ (300 мл). Фильтрат и промывные жидкости загружали в 3-литровую колбу, снабженную мешалкой и термометром. Продукт стадии с) примера 16 (116 г, 0,22 моля) добавляли в виде твердого вещества, споласкивая реактор ТГФ (250 мл). Добавляли 4-(N,N-диметиламино)пиридин (2,73 г, 0,022 моля) и белый шлам перемешивали при 20±5°C. За 15 мин твердые веще-

ства полностью растворялись и реакция завершалась за 1 ч (о чем судили по данным HPLC: колонка 4,6 x 250 мм Zorbax RxС8; 85:15 ацетонитрил - 0,2% вод. HClO₄, добавление со скоростью 1 мл/мин; УФ детекция при 254 нм; исходный материал элюирует через 4,1 мин, а продукт реакции - через 5,9 мин). Реакцию гасили добавлением воды (5 мл) и полученный раствор концентрировали в вакууме, в результате чего оставалось светло-желтое полутвердое вещество. Это вещество переносили в метанол (1,5 л) и нагревали до начала дефлегмации в течение 30 мин. Полученный раствор охлаждали до 25°C и осадок удаляли фильтрацией. Фильтрат концентрировали в вакууме, в результате чего оставалось вязкое, бледно-желтое масло. Добавляли ацетонитрил (1л) и полученную в результате белую суспензию перемешивали при 20±5°C в течение 90 мин. Сырой твердый продукт выделяли фильтрацией, промывали ацетонитрилом (2 x 100 мл) и сушили на воздухе в течение ночи с получением желаемого продукта в виде воскообразного липкого твердого вещества (122 г). Это вещество очищали перекристаллизацией из этилацетата (500 мл) и сушили в вакууме при 30°C с получением целевого продукта в виде белого, воскообразного твердого вещества (104 г).

e) (R)-9-[4-(L-валилокси)-2-(стеарилоксиметил)бутил]гуанин.

Раствор со стадии примера 16 (77 г) в теплом (40°C) этаноле (2,3 л) загружали в реактор гидрирования совместно с 5% Pd-C (15,4 г). Полученную смесь перемешивали при 40°C при давлении водорода 40 фунтов/дюйм² (2,8 кг/см²) в течение 4 ч, откачивали и гидрировали еще в течение 4-10 ч. Катализатор удаляли фильтрацией и фильтрат концентрировали в вакууме с целью удаления белого твердого вещества. Это вещество перемешивали с этанолом (385 мл) при 45°C в течение 1 ч, затем охлаждали до 0°C и фильтровали. Осадок на фильтре сушили воздухом, затем в вакууме при 35°C с получением целевого соединения в виде белого порошка (46 г).

Пример 17.

(R)-9-[2-(L-Валилоксиметил)-4-(стеарилокси)бутил]гуанин.

a) (R)-9-[2-Гидроксиметил-4-(стеарилокси)бутил]гуанин.

H₂G (506 мг; 2,0 ммоль) растворяли в сухом N,N-диметилформамиде (40 мл) в присутствии пиридина (400 мг; 5,06 ммоль) и 4-диметиламинопиридина (60 мг; 0,49 ммоль). Добавляли стеарилохлорид (1500 мг; 4,95 ммоль) и смесь выдерживали в течение ночи при комнатной температуре. Большую часть растворителя выпаривали в вакууме, остаток перемешивали с 70 мл этилацетата и 70 мл воды, и твердое вещество отфильтровывали, промывали этилацетатом и водой и сушили с получением 680 мг сырого продукта. В результате хромато-

графической очистки методом колоночной хроматографии на силикагеле (хлороформ:метанол 15:1) получали чистое целевое соединение в виде белого твердого вещества.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ : 0,86 (т, 3H), 1,25 (с, 28H), 1,51 (квинтет, 2H), 1,62 (м, 2H), 2,06 (м, 1H), 2,23 (т, 2H), 3,34 (д, 2H), 3,96 (ABX, 2H), 4,07 (дд, 2H), 6,30 (широкий с, 2H), 7,62 (с, 1H), 10,45 (с, 1H).

Спектр ^{13}C ЯМР (DMSO-d_6) δ : 13,8 (C18), 22,0 (C17), 24,4 (C3), 27,7 (C3'), 28,4-28,8 (C4-6, C15), 28,9 (C7-14), 31,2 (C16), 33,5 (C2), 38,0 (C2'), 44,0 (C1'), 60,6/61,8 (C4', C2''), 116,5 (гуаC5), 137,7 (гуаC7), 151,4 (гуаC4), 153,5 (гуаC2), 156,7 (гуаC6), 172,7 (COO).

б) (R)-9-[2-(N-Вос-L-валилоксиметил)-4-(стеарилокси)бутил]гуанин.

Смесь N-Вос-L-валина (528 мг; 2,1 ммоль) и N,N'-дициклогексилкарбодимида (250 мг; 1,21 мг) в дихлорметане (20 мл) перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, дициклогексимочевину отфильтровывали и экстрагировали небольшим объемом дихлорметана, и фильтрат выпаривали в вакууме до небольшого объема. Добавляли (R)-9-[2-гидроксиметил-4-(стеарилокси)бутил]гуанин (340 мг; 0,654 ммоль), 4-диметиламинопиридин (25 мг; 0,205 ммоль) и сухой N,N'-диметилформамид (15 мл) и полученную смесь перемешивали в течение 4 ч при 50°C в атмосфере азота. Растворитель выпаривали в вакууме до небольшого объема. В результате колоночной хроматографии на силикагеле, и затем на оксиде алюминия (элюент этилацетат : метанол : вода в соотношении 15:2:1) получали 185 мг (39%) чистого целевого соединения в виде белого твердого вещества.

Спектр ^1H ЯМР (CHCl_3) δ : 0,85-1,0 (м, 9H) 18-CH₃, CH(CH₃)₂; 1,25 (с, 28H) 4-17-CH₂; 1,44 (с, 9H) трет.-Ву; 1,60 (квинтет, 2H) 3-CH₂; 1,74 (кв., 2H) 3'-CH₂; 2,14 (м, 1H) 2'-CH; 2,29 (т, 2H) 2-CH₂; 2,41 (м, 1H) CH(CH₃)₂; 4,1-4,3 (м, 6H) Cl'-CH₂, C2''-CH₂, C4-CH₂; 5,4 (д, 1H) α CH; 6,6 (широкий с, 2H) гуаNH₂; 7,73 (с, 1H) гуаNH; 12,4 (широкий с).

Спектр ^{13}C ЯМР (CHCl_3) δ : 13,9 (C18); 17,5/18,9 (2 Val CH₃); 22,4 (C17); 24,7 (C3); 21,8 (C3'); 28,9-29,3 (C4-6, C15); 29,4 (C7-14); 30,7 (Val β C); 31,7 (C16); 34,0 (C2); 35,9 (C2'); 43,9 (C1'); 58,7/Val α C); 61,4/63,6 (C4', C2''); 79,9 (CMe₃); 116,4 (гуаC5); 137,9 (гуаC7); 151,7 (гуаC4); 153,7 (гуаC2); 155,7 (CONH); 158,8 (гуаC6); 172,1 (CHCOO); 173,5 (CH₂COO).

с) (R)-9-[2-(L-Валилоксиметил)-4-(стеарилокси)бутил]гуанин.

Охлажденную трифторуксусную кислоту (2,0 г) добавляли к (R)-9-[2-(N-Вос-L-валилоксиметил)-4-(стеарилокси)бутил]гуанину (180 мг; 0,25 ммоль) и полученный раствор выдерживали при комнатной температуре в течение 1 ч, выпаривали до небольшого объема и дважды лиофилизировали с диоксаном до полу-

чения белого аморфного порошка. Выход целевого соединения, полученного в трифторацетатной соли, был количественным.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ : 0,87 (т, 3H) 18-CH₃, 0,98 (дд, 6H) CH(CH₃)₂; 1,25 (с, 28H) 4-17-CH₂; 1,50 (квинтет, 2H) 3-CH₂; 1,68 (кв, 2H) 3'-CH₂; 2,19 (м, 1H) 2'-CH; 2,26 (т, 2H) 2-CH₂; 2,40 (м, 1H) CH(CH₃)₂; 3,9-4,25 (м, 7H) Cl'-CH₂, C2''-CH₂, C4-CH₂, α CH; 6,5 (широкий с, 2H) гуаNH₂; 7,79 (с, 1H) гуаNH; 8,37 (широкий с, 3H) NH₃⁺; 10,73 (широкий с, 1H) гуаNH.

Спектр ^{13}C ЯМР (DMSO-d_6) δ : 14,2 (C18); 17,9/18,3 (2 Val CH₃); 22,3 (C17); 24,6 (C3); 27,7 (C3'); 28,7-29,1 (C4-6, C15); 29,2 (C7-14); 29,5 (Val β C); 31,5 (C16); 33,7 (C2); 35,0 (C2'); 44,1 (C1'); 57,6 (Val α C); 61,6/65,2 (C4', C2''); 116,1 (гуаC5); 116,3 (гуа, J 290 Гц, CF₃); 137,9 (гуаC7); 151,5 (гуаC4); 154,0 (гуаC2); 156,7 (гуаC6); 158,3 (гуа, J 15 Гц, CF₃COO) 169,1 (CHCOO); 173,1 (CH₂COO).

Пример 18. Альтернативное получение (R)-9-[2-гидроксиметил-4-(стеарилокси)бутил]гуанина.

H2G (7,60 г, 30 ммоль) нагревали в растворе сухого ДМФ (200 мл). Раствор фильтровали с целью удаления твердых примесей, охлаждали до 20°C (H2G кристаллизовался) и перемешивали при той же температуре при добавлении пиридина (9,0 г, 114 ммоль), 4-диметиламинопиридина (0,46 г, 3,75 ммоль) и последующего, медленного, добавления стеарилохлорида (20,0 г, 66 ммоль). Перемешивание продолжали при комнатной температуре в течение ночи. Затем большую часть растворителя выпаривали в вакууме, остаток перемешивали с 200 мл этилацетата и 200 мл воды, и твердое вещество отфильтровывали, промывали этил ацетатом и водой и сушили с получением сырого продукта. В качестве альтернативы перекристаллизации, сырой продукт кратковременно нагревали почти до кипения со 100 мл смеси этилацетат:метанол:вода (15:2:1) и суспензию медленно охлаждали до 30°C и отфильтровывали в результате чего в растворе оставалось основное количество 2''-изомера (2''-изомер кристаллизуется при более низкой температуре). Процедуру экстракции повторяли еще раз с получением, после сушки в вакууме, 6,57 г (42%) почти не содержащего изомеров продукта.

Пример 19. Получение кристаллического (R)-9-[2-стеарилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина.

Продукт со стадии с) примера 16 (20,07 г, 32,5 ммоль) растворяли в абсолютированном этаноле (400 мл) при нагревании, затем фильтровали, и дополнительно разбавляли этанолом (117,5 мл). К такому раствору добавляли воду (HPLC сорт, 103,5 мл) и смеси давали охлаждаться до 35-40°C. После охлаждения смеси, при эффективном перемешивании, с постоянной скоростью в течение 16 ч, добавляли воду

(HPLC сорт, 931,5 мл). После добавления всей воды, перемешивание продолжали в течение 4 ч при комнатной температуре. Полученный в результате осадок фильтровали через бумагу и сушили в вакууме при комнатной температуре, с получением целевого соединения в виде белого, свободно-текучего кристаллического порошка (19,43 г, 97%), т.пл. 169-170°C.

Пример 20. 9-R-(4-Гидрокси-2-(L-валилоксиметил)бутил)гуанин.

а) К раствору 9-R-(4-трет.-бутилдифенилсилокси)-2-(гидроксиметил)бутилгуанина (695 мг, 1,5 ммоль) в ДМФ (30 мл) добавляли N-Вос-L-Валин (488 мг, 2,25 ммоль), 4-диметиламинопиридин (30 мг, 0,25 ммоль) и ДСС (556 мг, 2,7 ммоль). Через 16 ч в реакционную смесь снова загружали N-Вос-L-валин (244 мг) и ДСС (278 мг) и полученную смесь выдерживали еще в течение 5 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит и переливали в водный раствор бикарбоната натрия, после чего раствор экстрагировали дихлорметаном. Органическую фазу выпаривали и очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле, в результате чего получали 950 мг N-защищенного моноаминоацильного интермедиата.

б) Указанный выше интермедиат (520 мг, 0,78 ммоль) растворяли в ТГФ (15 мл). К раствору добавляли фтористый водород в пиридине (70%/30%, 0,34 мл). Через два дня раствор выпаривали и совыпаривали с толуолом. В результате очистки методом колоночной хроматографии на силикагеле получали 311 мг защищенного моноаминоацильного соединения.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6): δ 10,41 (с, 1H), 7,59 (1H), 6,26 (широкий с, 2H), 4,32 (т, 1H), 3,95 (м, 5H), 3,46 (м, 2H), 2,41 (м, 1H), 2,06 (м, 1H), 1,45 (м, 2H), 1,39 (с, 9H), 0,90 (д, 6H).

с) Продукт со стадии б) (95 мг, 0,21 ммоль) обрабатывали смесью трифторуксусной кислоты (4 мл) и дихлорметана (6 мл) в течение 1 ч. Полученный раствор выпаривали и сушили вымораживанием, получая 125 мг незащищенного моноаминоацильного продукта.

Спектр ^1H ЯМР (D_2O): δ 8,88 (с, 1H), 4,32 (м, 4H), 3,96 (д, 1H), 3,68 (м, 2H), 2,63 (м, 1H), 2,22 (м, 1H), 1,73 (м, 2H), 1,00 (м, 6H).

Пример 21. (R)-9-(2-Гидроксиметил-4-(L-изолейцилокси)бутил)гуанин.

а) К раствору (R)-9-(2-гидроксиметил-4-гидроксibuтил)гуанина (2,53 г, 10 ммоль) в ДМФ (250 мл) добавляли N-Вос-L-изолейцин (2,77 г, 12 ммоль), 4-диметиламинопиридин (61 мг, 0,6 ммоль) и ДСС (3,7 г, 18 ммоль). После проведения реакции в течение 16 ч при 0°C, снова загружали N-Вос-L-изолейцин (1,3 г) и ДСС (1,8 г) и реакцию продолжали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь отфильтровывали через целит и фильтрат выпаривали и очищали методом колоночной

хроматографии на силикагеле, с получением 1,25 г N-защищенного моноаминоацильного интермедиата.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6): δ 10,56 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 6,43 (с, 2H), 4,75 (т, 1H), 4,15-3,80 (м, 5H), 3,25 (м, 2H), 2,05 (м, 1H), 1,80-1,05 (м, 14H), 0,88 (м, 6H).

б) Интермедиат со стадии а) (100 мг, 0,21 ммоль) обрабатывали трифторуксусной кислотой (3 мл) и смесь выдерживали в течение 30 мин при 0°C. Полученный раствор выпаривали и сушили вымораживанием, в результате чего получали с количественным выходом целевого незащищенный моноаминоацильный продукт.

Спектр ^1H ЯМР ($\text{DMSO-d}_6 + \text{D}_2\text{O}$): δ 8,72 (с, 1H), 4,15 (м, 4H), 3,90 (д, 1H), 3,42 (м, 2H), 2,09 (м, 1H), 1,83 (м, 1H), 1,61 (м, 2H), 1,15 (м, 1H), 0,77 (д, 3H), 0,71 (т, 3H).

Пример 22. (R)-9-[2-Гидроксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанидин.

Продукт со стадии а) примера 1 подвергал реакции снятия защитной группы, с помощью трифторуксусной кислоты, следуя той же методике, что описана для стадии с) примера 1.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMSO-d_6): δ 1,04 (дд, 6H), 1,55-1,88 (м, 2H), 2,21 (м, 2H), 3,48 (м, 2H), 4,00 (м, 1H), 4,13 (м, 2H), 4,34 (т, 2H), 6,9 (широкий с, 2H), 8,21 (с, 1H), 8,5 (широкий с, 3H), 11,1 (широкий с, 1H).

Пример 23. (R)-9-[2-(L-Валилоксиметил)-4-(валилокси)бутил]гуанин.

а) (R)-9-[4-(N-Вос-L-валилокси)-2-(N-Вос-L-валилоксиметил)бутил]гуанин.

Следуя методике, описанной для стадии а) примера 1, но используя 2,7 эквивалентов, 0,28 эквивалента и 3,2 эквивалента N-Вос-L-валина, ДМАР и ДСС, соответственно, получали целевое соединение.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, CHCl_3) δ : 0,95 (м, 12H), 1,42 (широкий с, 18H), 1,8 (м, 2H), 2,14 (м, 2H), 2,47 (м, 1H), 4,0-4,4 (м, 8H), 6,5 (широкий с, 2H), 7,67 (с, 1H).

б) (R)-9-[4-(L-Валилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил]гуанин.

Целевое соединения получали в виде трифторацетатной соли из интермедиата со стадии а) примера 20, по реакции снятия защитной группы, которую проводили по методике, аналогичной описанной для стадии с) примера 1.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, D_2O) δ : 1,0 (м, 12H), 1,89 (м, 2H), 2,29 (м, 2H), 2,62 (м, 1H), 4,02 (дд, 2H), 4,38 (м, 6H), 4,89 (широкий с, около 10H), 8,98 (с, 1H).

Пример 24. (R)-9-[4-гидрокси-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанин.

Целевой продукт получали в соответствии со стадиями а) - с) примера 7.

Спектр ^1H ЯМР (250 МГц, DMSO-d_6) δ : 10,52 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 6,39 (с, 2H), 4,50 (т, 1H), 3,93 (м, 4H), 3,42 (м, 2H), 2,45 (м, 1H), 2,23 (т, 2H), 1,48 (м, 4H), 1,22 (с, 28H), 0,89 (т, 3H).

Пример 25. (R)-9-[2-Гидроксиметил-4-(стеарилокси)бутил]гуанин.

Целевое соединение получали по методике стадии а) примера 17.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6): δ : 0,86 (т, 3H); 1,25 (с, 28H); 1,51 (квин., 2H); 1,62 (м, 2H); 2,06 (м, 1H); 2,23 (т, 2H); 3,34 (д, 2H); 3,96 (ABX, 2H); 4,07 (дд, 2H); 6,30 (широкий с, 2H); 7,62 (с, 1H); 10,45 (с, 1H).

Пример 26. Альтернативное получение (R)-9-[2-стеарилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанина.

а) (R)-9-[4-N-бензилоксикарбонил-L-валилокси]-2-(гидроксиметил)бутил]гуанин.

Сухой H_2G (252 мг, 1 ммоль), 4-диметиламинопиридин (122 мг, 1 ммоль) и N-Cbz-L-валин п-нитрофениловый эфир (408 мг, 1,1 ммоль) растворяли в сухом диметилформамиде (16 мл). После перемешивания при 23°C в течение 30 ч, органический растворитель удаляли и остаток тщательно очищали методом хроматографии (оксид кремния, 2%-7% метанол/метиленхлорид) с получением целевого продукта в виде белого твердого вещества (151 мг, 31%).

б) (R)-9-[4-N-бензилоксикарбонил-L-валилокси]-2-(стеарилоксиметил)бутил]гуанин.

Раствор стеарилохлорида (394 мг, 1,3 ммоль) в сухом метиленхлориде (2 мл) медленно прикапывали в атмосфере азота к раствору продукта со стадии а) (243 мг, 1 ммоль) и 4-диметиламинопиридина (20 мг) в сухом пиридине (5 мл) при -5°C . При этой температуре, реакционную смесь перемешивали в течение 12 ч. Добавляли метанол (5 мл) и реакционный раствор перемешивали в течение 1 ч. После удаления растворителя, остаток обрабатывали ацетонитрилом и подвергали хроматографической очистке (оксид кремния, 0-5% метанол/метиленхлорид) с получением целевого соединения (542 мг, 72%).

с) (R)-9-[2-стеарилоксиметил-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

Продукт со стадии б) (490 мг, 1 ммоль) растворяли в метаноле (30 мл) и добавляли 5% Pd/C (100 мг). Баллон, заполненный водородом, помещали сверху реакционного сосуда. Через 6 ч при 23°C , методом ТСХ было установлено отсутствие исходного материала. Реакционную смесь фильтровали через 0,45 микроновую мембрану с целью удаления катализатора, а растворитель удаляли с получением целевого продукта в виде белого твердого вещества (350 мг, 99%), которое было идентично (по спектральным и аналитическим характеристикам) соединению примера 16.

Пример 27. Альтернативное получение (R)-9-(4-гидрокси-2-(L-валилоксиметил)бутил)гуанина.

(R)-9-(4-(L-валилокси)-2-(L-валилоксиметил)бутил)гуанин со стадии б) примера 23 (100 мг, 0,126 ммоль) растворяли в 0,1N водном рас-

творе NaOH (6,3 мл, 0,63 ммоль) при комнатной температуре. Через определенные интервалы времени отбирали аликвоты и их нейтрализовали 0,5N трифторуксусной кислотой. Аликвоты выпаривали и анализировали методом HPLC с целью слежения за ходом реакции. Через 4 ч 0,5 N раствор трифторуксусной кислоты (1,26 мл, 0,63 ммоль) добавляли к раствору и реакционную смесь выпаривали. Целевой продукт очищали методом HPLC (УМС, колонка 50 x 4,6 мм, градиент 0,1% ТФК + 0-50% 0,1% ТФК в ацетонитриле, анализ в течение 20 мин, УФ детекция при 254 нм. Выход: 13,6%.

Спектр ^1H ЯМР (D_2O): δ 8,81 (с, 1H), 4,36 (м, 4H), 4,01 (д, 1H), 3,74 (м, 2H), 2,64 (м, 1H), 2,25 (м, 1H), 1,73 (м, 2H), 1,03 (дд, 6H).

Пример 28. Альтернативное получение (R)-9-(2-гидроксиметил-4-(L-валилокси)бутил)гуанина.

В результате разделения методом HPLC реакционного раствора из примера 27 получали целевое соединение с выходом 29,29%.

Спектр ^1H ЯМР (DMSO-d_6): δ 8,38 (с, 3H), 8,26 (с, 1H), 6,83 (широкий с, 2H), 4,23 (м, 2H), 4,06 (м, 2H), 3,91 (м, 1H), 3,40 (м, 2H), 2,19 (м, 2H), 1,8-1,40 (м, 2H), 0,95 (дд, 6H).

Пример 29. (R)-9-[(2-стеарилоксиметил)-4-(L-валилокси)]-4-бутилгуанин моногидрохлорид.

Продукт со стадии d) примера 16 (360 мг, 0,479 ммоль) растворяли в смеси метанола (10 мл) и этилацетата (10 мл). К раствору добавляли 10% Pd/C (100 мг) и 1N HCl (520 мкл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч при 1 атм. H_2 . Реакционную смесь фильтровали и растворитель выпаривали из фильтрата с получением целевого продукта в виде кристаллического твердого вещества (300 мг).

Рецептурный пример А. Препарат в виде таблетки.

Следующие ингредиенты просеивали через сито с размером отверстий 0,15 мм и перемешивали в сухом состоянии:

(R)-9-[2-(Стеарилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин	10 г
Лактоза	40 г
Кристаллическая целлюлоза	49 г
Стеарат магния	1 г

Таблетировочную машину использовали для прессования смеси в таблетки, содержащие 250 мг активного ингредиента.

Рецептурный пример В. Покрытая энтеросольюбильной оболочкой таблетка.

Таблетки рецептурного примера А покрывали распылением в машине для нанесения покрытий раствором, содержащим:

Этилцеллюлоза	120 г
Пропиленгликоль	30 г
Моноолеатасорбит	10 г

в 1000 мл дистиллированной воды.

Рецептурный пример С. Препарат с контролируемым высвобождением.

(R)-9-[2-(Стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин	50 г
Гидроксипропилметилцеллюлоза (Methocell K15)	12 г
Глактоза	4,5 г

перемешивали в сухом состоянии и гранулировали с водной пастой повидона. Добавляли стеарат магния (0,5 г) и смесь прессовали в таблетировочной машине в таблетки диаметром 13 мм, содержащие 500 мг активного агента.

Рецептурный пример D. Мягкие капсулы.

(R)-9-[2-(стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин	250 г
Лецитин	100 г
Арахисовое масло	100 г

Соединение настоящего изобретения диспергировали в лецитине и арахисовом масле и заполняли полученной смесью мягкие желатиновые капсулы.

Биологический пример 1. Тестирование на биодоступность на крысах.

Биодоступность соединения настоящего изобретения сравнивали с родственными соединениями H₂G и производными H₂G на крысиной модели. Соединения изобретения и родственные соединения применяли перорально (с помощью катетера вставленного в желудок) на группах из трех индивидуально взвешенных животных, получавших по 0,1 ммоль/кг растворенного пролекарства в водном растворе (пример 4, 5, сравнительные примеры 1-3, 5, 8), на основе арахисового масла (сравнительные примеры 4, 9, 10) или пропиленгликолем (примеры 1-3, 6-12, 17, сравнительные примеры 6,7) носителе, в зависимости от растворимости активного ингредиента испытуемого соединения. Животных лишали питания в период от 5 ч до применения до, примерно, 17 ч после применения и держали в метаболических клетках. Мочу собирали в течение 24 ч после введения препарата и замораживали до анализа. H₂G анализировали в моче с использованием HPLC/УФ анализа по методу Stähle, Öberg, Antimicrob Agents Chemother, 36 № 2, 339-342 (1992), модифицированного следующим образом: образцы после оттаивания разбавляли в соотношении 1:100 дистиллированной H₂O и фильтровали через фильтр Амикон при центрифугировании со скоростью 3000 об./мин. в течение 10 мин. Дублированные 30 мкл образцы подвергали хроматографическому разделению на HPL колонке; Zorbax SB-C18; 75-4,6 мм; 3,5 микронов; подвижная фаза 0,05M NH₄PO₄, 3-4% метанола, pH 3,3-3,5; 0,5 мл/мин; 254 нм, время удерживания H₂G при концентрации MeOH 4% и pH 3,33-12,5 мин. Биодоступность рассчитывали, как измеренное H₂G выделение из каждого животного, усредненное, по крайней мере, от трех животных и выражали как процент усредненного 24 часового выделения H₂G из мочи от группы из 4 индивидуально

взвешенных крыс, соответственно, получавших внутривенные инъекции по 0,1 ммоль/кг H₂G в буферном растворе Рингера, проводя анализ, как описано выше.

Сравнительный пример 1 (H₂G) относился к той же партии что использовалась для препаратов примеров 1-12. Препарат сравнительного примера 2 (моно Val-H₂G) и 3 (ди Val-H₂G) описаны в примерах 21 и 23. Вещество сравнительного примера 4 (дистеароил H₂G) готовили диэтерификацией незащищенного H₂G в условиях этерификации, сравнимых с условиями стадии 2 примера 1. Вещества сравнительных примеров 5 и 8 (Val/Ac H₂G) получали аналогично описанному в примере 4, с использованием уксусного ангидрида в присутствии релевантного моновалинового H₂G. Вещество сравнительного примера 6 (Ala/стеароил H₂G) получали аналогично описанному для примера 6, с использованием N-трет.-Вос-L-аланина на стадии 4. Вещество сравнительного примера 7 (Gly/деcanoил) получали аналогично описанному в примере 5, но с использованием промежуточного соединения стадии 1, полученного в присутствии N-трет.-Вос-L-глицина. Получение соединения сравнительных примеров 9 и 10 продемонстрировано в примерах 24 и 25, соответственно. Полученные результаты приведены в следующей таблице 2.

Таблица 2

Соединение	R ₁	R ₂	Биодоступность
Сравнительный пример 1	водород	водород	8%
Сравнительный пример 2	валил	водород	29%
Сравнительный пример 3	валил	валил	36%
Пример 1	валил	стеароил	56%
Сравнительный пример 4	стеароил	стеароил	1%
Пример 2	валил	миристоил	57%
Пример 3	валил	олеил	51%
Пример 4	валил	бутирил	45%
Сравнительный пример 5	валил	ацетил	11%
Пример 5	валил	деcanoил	48%
Пример 6	валил	докозаноил	48%
Пример 7	изолейцил	стеароил	53%
Пример 8	изолейцил	деcanoил	57%
Пример 9	изолейцил	миристоил	49%
Пример 10	валил	4-ацетилбутирил	52%
Пример 11	валил	додеcanoил	46%
Пример 12	валил	пальмитоил	58%
Пример 17	стеароил	валил	52%
Сравнительный пример 6	аланин	стеароил	23%
Сравнительный пример 7	глицил	деcanoил	25%
Сравнительный пример 8	ацетил	валил	7%
Сравнительный пример 9	водород	стеароил	12%
Сравнительный пример 10	стеароил	водород	7%

Сравнение биодоступности соединений изобретения со сравнительными примерами

показывает, что специфическая комбинация жирных кислот по R_1/R_2 с аминокислотами по R_1/R_2 обеспечивает значительно более высокие значения биодоступности, чем соответствующие диаминокислотный сложный эфир или сложный эфир двусосновой жирной кислоты. Так, например, в рамках такой модели, соединение примера 1 демонстрирует на 55% лучшую биодоступность, чем соответствующий дивалиновый сложный эфир сравнительного примера 3. Соединение примера 4 демонстрирует на 25% лучшую биодоступность, чем соответствующий дивалиновый эфир.

Также совершенно очевидно, например, из Сравнительных примеров 5, 6 и 7, что только специальные жирные кислоты настоящего изобретения в комбинации с конкретными аминокислотами обеспечивают такое неожиданное увеличение фармакокинетических параметров.

Биологический пример 2. Концентрации плазмы у крыс.

Анализ концентрации плазмы проводили на самцах Sprague Dawley крыс. Животных лишали пищи в течение ночи перед введением препарата, но обеспечивали свободный доступ к воде. Каждое из испытуемых соединений готовили в виде раствора/суспензии в пропиленгликоле с концентрацией, соответствующей 10 мг H2G/мл и встряхивали при комнатной температуре в течение восьми часов. Группы крыс (по крайней мере, по 4 крысы в каждой группе) получали оральную дозу в 10 мг/кг (1 мл/кг) каждого из соединений; каждую дозировку применяли через желудочный зонд. Через определенные промежутки времени после приема дозы (через 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 9, 12, 15 и 24 ч после дозирования) из хвостовой вены каждого животного получали гепаринизированные образцы крови (0,4 мл/образец). Эти образцы крови немедленно охлаждали на бане со льдом. В течение двух часов сбора, плазму отделяли от эритроцитов центрифугированием и замораживали до последующего анализа. Интересующие компоненты отделяли от белков плазмы осаждением в ацетонитриле. После лиофилизации и реконструкции, концентрации плазмы определяли обратимо-фазной HPLC с флуоресцентной детекцией. Оральное поглощение H2G и других испытуемых соединений определяли путем сравнения площади H2G под кривой для оральной дозировки с соответствующим значением, полученным при введении внутривенной дозы H2G в 10 мг/кг, которую применяли на отдельной группе крыс. Полученные результаты представлены в приведенной выше таблице 1B.

Биологический пример 3. Биоприменимость на обезьянах.

Соединения примера 1 и сравнительного примера 3 (см. биологический пример 1, приведенный выше) применяли р.о. через желудоч-

ный зонд на обезьянах cynomolgus. Применяемые растворы содержали:

пример 1- 150 мг растворенные в 6,0 пропиленгликоля, что соответствует 25 мг/кг или 0,0295 ммоль/кг;

сравнительный пример 3 - 164мг растворяли в 7,0 мл воды, что соответствует 23,4 мг/кг или 0,0295 ммоль/кг.

Образцы крови отбирали через 30 мин, 1, 2, 3, 4, 6, 10 и 24 ч. Плазму отделяли центрифугированием со скоростью 2500 об./мин. и образцы инактивировали при 54°C в течение 20 мин перед тем, как их замораживали до последующих анализов. Уровни содержания H2G в плазме регистрировали с помощью HPLC/УФ анализа, как описано выше в примере 30.

На фиг. 1 изображено выделение H2G плазмы, как функция времени. Хотя невозможно сделать статистически значимые выводы из единичных опытов на животных, можно предположить, что животные, получившие соединение настоящего изобретения, испытывают, в некоторой степени, более быстрое и более сильное воздействие H2G, чем животные, на которых применяли альтернативное пролекарство H2G.

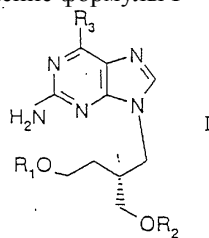
Биологический пример 4. Антивирусная активность.

Мыши, зараженные вирусом-1 простого герпеса (HSV-1) служили моделью для определения эффективности антивирусных агентов *in vivo*. На мышах внутрибрюшинно инокулированных HSV-1, при 1000-кратном значении LD₅₀, применяли рецептуру, содержащую выпускаемый в настоящее время антигерпесный агент ацикловир (21 и 83 мг/кг в 2% пропиленгликоля в носителе, представляющем собой стерильную воду трижды в день, перорально), или соединение примера 29 (21 и 83 мг/кг в 2% пропиленгликоля, в носителе, представляющем собой стерильную воду, трижды в день, перорально), в течение 5 последовательных дней, начиная применение через 5 дней после инокулирования. Ежедневно оценивали смертность животных. Полученные результаты изображены на фиг. 2, где представлена зависимость степени выживания от времени. В надписи к рисунку, соединение изобретения обозначено, как Ex.29, а ацикловир обозначен, как ACV. Процентное количество мышей, переживших заражение HSV-1, оказалось значительно большим в случае применения на них данной дозировки соединения изобретения, по сравнению с применением эквивалентной дозы ацикловира.

Представленный выше материал приведен только в целях иллюстрации и настоящее изобретение не ограничивается содержанием этого материала. Подразумевается, что различные варианты и изменения, которые очевидны для специалиста в данной области, охватываются объемом притязаний изобретения, как это отражено в прилагаемой формуле изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I



в которой

а) R_1 представляет собой $-C(O)CH(CH_3)_2NH_2$ или $-C(O)CH(CH_3)CH_2CH_3NH_2$, а R_2 представляет собой $-C(O)C_3-C_{21}$ насыщенный или моновенасыщенный, необязательно замещенный гидроксигруппой, C_{1-6} алкилом, C_{1-6} алкокси-, C_{1-6} алкокси C_{1-6} алкилом, C_{1-6} алканоилом, амино-, галоид-, циано-, азидо-, меркапто- и нитрогруппой алкил;

б) R_1 представляет собой $-C(O)C_3-C_{21}$ насыщенный или моновенасыщенный, необязательно замещенный гидроксигруппой, C_{1-6} алкилом, C_{1-6} алкокси-, C_{1-6} алкокси C_{1-6} алкилом, C_{1-6} алканоилом, амино-, галоид-, циано-, азидо-, меркапто- и нитрогруппой алкил; а R_2 представляет собой

$-C(O)CH(CH_3)_2NH_2$ или

$-C(O)CH(CH_3)CH_2CH_3NH_2$; и

R_3 представляет собой OH или H;

а также его фармацевтически приемлемые соли.

2. Соединение по п.1, в котором R_1 представляет собой $-C(O)CH(CH_3)_2NH_2$ или $-C(O)CH(CH_3)CH_2CH_3NH_2$, а R_2 представляет собой $-C(O)C_3-C_{21}$ насыщенный или моновенасыщенный, необязательно замещенный гидроксигруппой, C_{1-6} алкилом, C_{1-6} алкокси-, C_{1-6} алкокси C_{1-6} алкилом, C_{1-6} алканоилом, амино-, галоид-, циано-, азидо-, меркапто- и нитрогруппой алкил;

3. Соединение по п.1, в котором $-C(=O)$ алкил включает C_9-C_{17} насыщенный или $n:9$ моновенасыщенный алкил.

4. Соединение по п.1, в котором R_3 представляет собой гидроксид.

5. Соединение по п.1, выбранное из группы, состоящей из

(R)-9-[2-(стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-(миристоилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-(олеоилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-(бутирилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-(деcanoилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-(докозаноилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(стеароилоксиметил)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-(деcanoилоксиметил)-4-(L-изолейцилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[4-(L-изолейцилокси)-2-(миристоилоксиметил)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-(4-ацетилбутирилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутила,

(R)-9-[2-додеcanoилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-9-[2-пальмитоилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанина,

(R)-2-амино-9-(2-стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]пурина,

(R)-9-[2-(L-валилоксиметил)-4-(стеароилокси)бутил]гуанина

или фармацевтически приемлемой соли.

6. (R)-9-[2-(стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин.

7. (R)-9-[2-(стеароилоксиметил)-4-(L-валилокси)бутил]гуанин или его фармацевтически приемлемая соль.

8. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.1 совместно с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.5, совместно с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

10. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по п.6, совместно с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

11. Способ лечения или профилактики вирусных инфекции, отличающийся тем, что он включает введение человеку или животному эффективного количества соединения по п.1.

12. Способ по п.11 для лечения или профилактики герпесных инфекций, включающих вирус Varicella zoster, вирус герпеса обыкновенного типа 1 и 2, вирус Epstein-Barr или герпес типа 6 (HHV-6) и типа 8 (HHV-8).

13. Способ по п.11 для лечения или профилактики ретровирусных инфекций, включающих SIV, HIV-1 и HIV-2.

14. Способ получения соединения по п.1, включающий

а) необязательную N-защиту 2 и/или 6 положений пурина в соединении формулы I, в которой каждый из R_1 и R_2 представляет собой водород;

б) региоселективное ацилирование соединения формулы I по 4-гидроксигруппе боковой цепи, с помощью

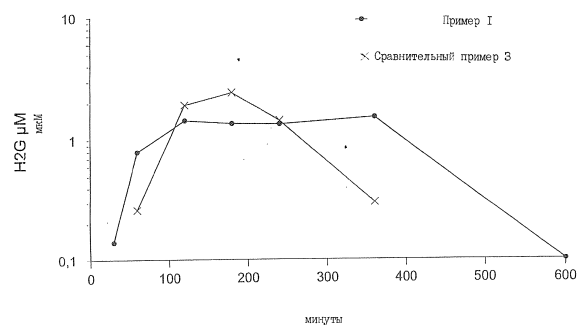
i) необязательно N-защищенной валиновой или изолейциновой группы,

ii) необязательно замещенного, насыщенного или моновенасыщенного C_3-C_{21} COOH производного, или

iii) региоселективной защитной группы;

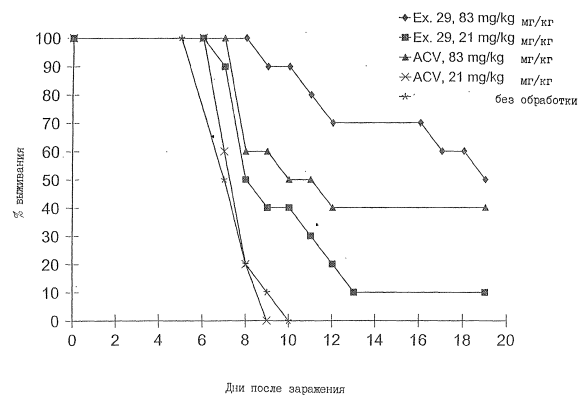
с) ацилирование по 2-гидроксиметильной группе боковой цепи с помощью

- i) необязательно N-защищенной валиновой или изолейциновой группы, или
 ii) необязательно замещенного, насыщенного или мононенасыщенного $C_3-C_{21}COOH$ производного;
 d) замещение региоселективной защитной группы в R_1 , в случае ее присутствия, с помощью



Фиг. 1

- i) необязательно N-защищенной валиновой или изолейциновой группы; или
 ii) необязательно замещенного, насыщенного или мононенасыщенного $C_3-C_{21}COOH$ производного; и
 e) если это необходимо, снятие защитной группы с полученного соединения.



Фиг. 2