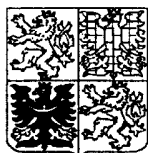


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

287 446

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1990 - 6415**

(22) Přihlášeno: **19.12.1990**

(30) Právo přednosti:
21.12.1989 DE 1989/3942318

(40) Zveřejněno: **12.07.2000**
(Věstník č. 7/2000)

(47) Uděleno: **02.10.2000**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **15.11.2000**
(Věstník č. 11/2000)

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 F 9/40
C 07 F 9/38
C 07 F 9/6539
C 07 F 9/6558
C 07 F 9/653
C 07 F 9/58
A 61 K 31/662
A 61 P 31/12

(73) Majitel patentu:

HOECHST AKTIENGESSELLSCHAFT, Frankfurt
am Main, DE;

(72) Původce vynálezu:

Peyman Anuschirwan dr., Kelkheim, DE;
Uhlmann Eugen dr., Glashütten/Taunus, DE;
Winkler Irvin dr., Liederbach, DE;
Helsberg Matthias dr., Kelkheim, DE;
Meichsner Christoph dr., Hofheim am Taunus, DE;

(74) Zástupce:

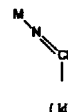
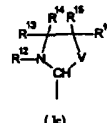
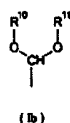
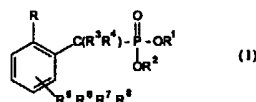
Všetečka Miloš JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název vynálezu:

**Deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny,
způsob jejich výroby, jejich použití a
farmaceutický prostředek tyto látky obsahující**

(57) Anotace:

Deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I, ve kterém R znamená formylovou skupinu nebo skupinu obecného vzorce Ib, Ic nebo Id. R¹ a R² představují nezávisle na sobě alkyl, alkenyl, alkynyl, arylalkyl, sodík, draslík, vápník, hořčík, amonium nebo triethylamonium, R³ a R⁴ nezávisle představují alkyl, alkynyl, alkenyl a R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ mohou být stejné nebo rozdílné a znamenají chlor, brom, methoxyskupinu nebo vodík. Je popsán způsob jejich výroby a jejich použití pro léčení nemocí, způsobených viry, a farmaceutické prostředky tyto látky obsahující.



CZ 287446 B6



CZ 287446B6
Batch : NOV2000

Deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny, způsob jejich výroby, jejich použití a farmaceutický prostředek tyto látky obsahující

5 Oblast techniky

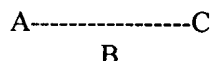
Vynález se týká derivátů 2-formylbenzylfosfonové kyseliny, způsobu jejich výroby, jejich použití pro výrobu léčiv pro léčení nemocí, způsobených viry, a farmaceutických prostředků tyto látky obsahujících.

10

Dosavadní stav techniky

Pro léčení nemocí, způsobených viry, byly až dosud používány různé preparáty, jako například analogy nukleosidů, amantadin, analogy pyrofosforečnanů nebo imunomodulátory (M. J. Wood., A. M. Geddes, The Lancet, 1987, 1189). Je známo několik derivátů kyseliny fosfonové, které vykazují antivirální účinek. K těmto patří sloučeniny, jako kyselina fosfomravenčí (PFA), kyselina fosfonoctová (PAA), kyselina methylen difosfonová (MDP), jakož i kyseliny tetrazolfosfonové (S. M. Roberts, NATO ASI Ser., Ser. A. 143, 1988; D. W. Nutchinson, M. Naylor, Nucleic Acids Res., 13, 1985, 8519). PFA má široké antivirální spektrum, způsobuje ale některé toxické vedlejší účinky, které až dosud bránily jejímu vývoji na antivirální lék (M. J. Wood, A. M. Geddes, The Lancet, 1987, 1189). O derivátech orto-fosfonyloxyacetofenonu je známo, že působí zejména proti Picorna – virům (EP 21 000/).

25 Diana et al. /J. Med. Chem. 27, 1984, 691; DOS 29 22 054/ referují o třídě sloučenin typu



30 ve které A je aromatický kruh a C fosfonát nebo β -ketofosfonát, přičemž A a C jsou od sebe odděleny můstkem 3 až 8 methylenových skupin /B/. Z této třídy sloučenin vykazují arylalkylfosfonové kyseliny s methylenovými můstky o více než 5 atomech uhlíku antivirální účinek vůči virům herpes /oparům/.

35 Arylalkylfosfonové kyseliny s methylenovými můstky s méně než 5 atomy uhlíku nevykazují ale žádný antivirální účinek. Substituce aromatického zbytku těchto sloučenin se provádí, jak to popisuje Diana et al., v podstatě pomocí 2-chlor-, 4-methoxy- nebo 4-karbetoxyfenoxyskupin.

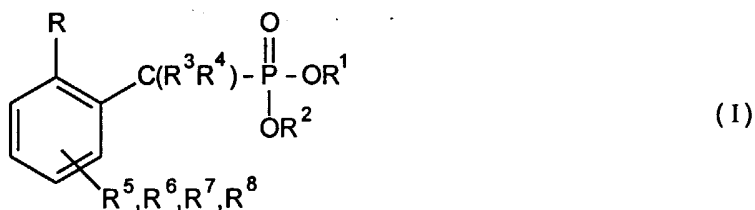
40 Benzylfosfonové kyseliny nebyly dosud popsány jako účinné antivirální sloučeniny (J. C. H. Mao a kol., Antimicrob. Agents Chemother. 27, 1985, 197).

Podstata vynálezu

45

Nyní bylo překvapivě zjištěno, že deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny vykazují antivirální aktivitu.

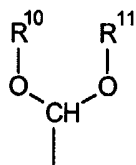
50 Předmětem předloženého vynálezu tedy jsou deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I



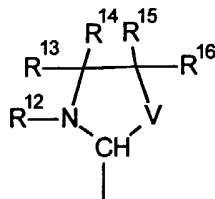
ve kterém

R znamená formylovou skupinu nebo skupinu obecného vzorce Ib, Ic, nebo Id

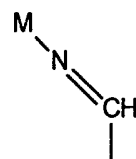
5



(Ib)



(Ic)



(Id)

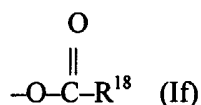
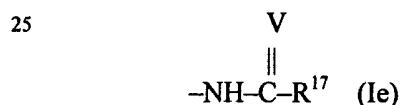
ve kterých

10 R^{10} a R^{11} , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, nebo R^{10} a R^{11} spolu dohromady tvoří cyklický acetal se 2 nebo 3 atomy uhlíku,

15 R^{12} až R^{16} , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, nebo arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku,

V je kyslík nebo síra,

20 M znamená hydroxyskupinu, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylalkylovou skupinu se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 atomů uhlíku, arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo zbytek obecného vzorce Ie nebo If



ve kterých

30

R^{17} znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, aminoskupinu, pyridylovou skupinu nebo arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku, a

35 R^{18} znamená aminoskupinu, pyridylovou skupinu, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo arylalkylovou skupinu se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 atomů uhlíku,

40 R^1 a R^2 , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, alkenylovou nebo alkinylovou

skupinu se 2 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylalkylovou skupinu se 7 až 16 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 10 atomů uhlíku, sodík, draslík, vápník, hořčík, hliník, lithium, ammonium nebo triethylammonium,

5

R^3 a R^4 , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, alkynylovou nebo alkenylovou skupinu se 2 až 4 atomy a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, nebo vodík,

10

R^5 , R^6 , R^7 a R^8 , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají chlor, brom, methoxyskupinu nebo vodík.

15

Pod označením alkylová skupina s 1 až 10 atomy uhlíku se rozumí například methylová, ethylová, propylová, izopropylová, n-butylová, sek.-butylová, terc.-butylová, 2,2-dimethyl-1-propylová, n-pentylová, n-hexylová, n-heptylová, n-oktylová, n-nonylová a n-decylová skupina.

20

Pod označením alkenylová skupina se 2 až 20 atomy uhlíku se rozumí například ethenylová, propenylová, butenylová, pentenylová, hexenylová, heptenylová, oktenylová, nonenylová nebo decenylová skupina a pod označením alkynylová skupina se 2 až 10 uhlíkovými atomy se rozumí například ethinylová, propinylová, butinylová, pentinylová, hexinylová, heptinylová, noninylová, oktinylová nebo decinylová skupina.

25

Pod pojmem arylalkylová skupina se 7 až 16 atomy uhlíku je míněna například fenylmethylová, fenylethylová, fenylbutylová, fenylpropylová, fenylpentylová, fenylhexylová, fenylheptylová, fenyl-oktylová, fenyl-nonylová nebo fenyl-dodecylová skupina.

30

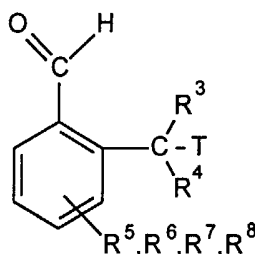
Alkoxyskupiny s 1 až 4 atomy uhlíku jsou zbytky, jako methoxyskupina, ethoxyskupina, propoxyskupina, izopropoxyskupina, n-butoxyskupina, sek.-butoxyskupina nebo terc.-butoxyskupina.

35

Jako výhodné deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I je možno uvést diethylester kyseliny 2-formylbenzylfosfonové, di(triethylamoniová) sůl kyseliny 2-formylbenzylfosfonové, triethylamoniová sůl monoethylesteru kyseliny 2-formylbenzylfosfonové, thiosemikarbazon diethylesteru kyseliny 2-formylbenzylfosfonové, diethylester kyseliny nikotinoylhydrazono-2-formylbenzylfosfonové a diethylester kyseliny 2-(3,4-dimethyl-5-fenyloxazolidin-2-yl)benzylfosfonové.

40

Předmětem předloženého vynálezu je dále způsob výroby derivátů 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I, ve kterém značí R formylovou skupinu, jehož podstata spočívá v tom, že se sloučenina obecného vzorce II



(II)

45

ve kterém R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 a R^8 mají výše uvedený význam a

T značí atom chloru, bromu nebo jodu, methylsulfonátovou, fenylsulfonátovou nebo tosylsulfonátovou skupinu,

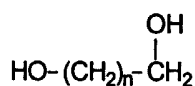
nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



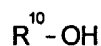
ve kterém R^1 , R^2 , mají výše uvedený význam a

R^9 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem.

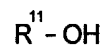
Dále je předmětem předloženého vynálezu také způsob výroby derivátů 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I, ve kterém značí R skupiny Ib, Ic nebo Id, jehož podstata spočívá v tom, že se sloučenina obecného vzorce I, ve kterém R znamená formylovou skupinu, nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce IVa, IVb a/nebo IVc, IVd nebo IVe,



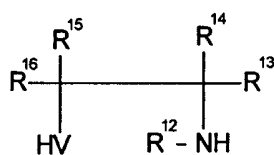
(IVa)



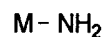
(IVb)



(IVc)



(IVd)



(IVe)

ve kterých

25

n je 1 nebo 2

R^{10} a R^{11} znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem,

30

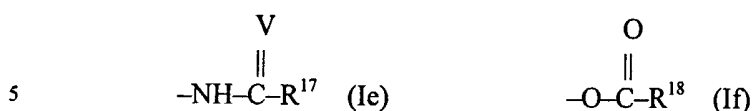
R^{12} až R^{16} , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem nebo arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku,

35

V je kyslík nebo síra,

M znamená hydroxyskupinu, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, aralkylovou skupinu se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 atomů uhlíku, arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo zbytek obecného vzorce If nebo If

40



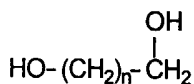
ve kterých

- 10 R^{17} znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, aminoskupinu, pyridylovou skupinu nebo arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku, a
- 15 R^{18} je aminoskupina, pyridylová skupina, alkylová skupina s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylová skupina se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo aralkylová skupina se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 uhlíku.

20 Syntéza sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém značí R formylovou skupinu, se provádí reakcí sloučeniny obecného vzorce II se sloučeninou obecného vzorce III výhodně při teplotě v rozmezí 100 °C až 250 °C, zejména v rozmezí 120 °C až 180 °C (US patent č. 4 299 615; Houben Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Vol. XII/1, str. 423, Thieme Verlag, Stuttgart; Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Vol. E2, str. 300). Reakce se může provádět ve vhodném rozpouštědle, jako je například amid kyseliny hexamethylfosforečné (HMPA), dimethylformamid (DMF), dimethylsulfoxid (DMSO), N,N'-dimethyl-N,N'-propylenmočovina (DMPU) nebo N,N'-dimethyl-N,N'-ethylenmočovina (DMEU). Reakce se může provádět také bez rozpouštědla. Čištění se provádí pomocí obvyklých metod, výhodně pomocí chromatografie na silikagelu s vhodným elučním činidlem, destilací nebo krystalizací z vhodných rozpouštědel.

30 Sloučeniny obecného vzorce II a obecného vzorce III se mohou vyrobit známým způsobem. Převedení diesterů kyseliny fosfonové v její monoestery, jakož i odpovídající volné kyseliny nebo jejich soli, se provádí například vařením se zředěnou kyselinou solnou /Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, Vol. XII/1, 1963/ nebo reakcí s trimethylbromsilanem /C. E. McKenna, J. Schnidhauser, J. C. S. Chem. Commun., 1979, 739/. Čištění se provádí překrystalováním z vhodného rozpouštědla nebo chromatograficky, s výhodou iontoměničovou chromatografií s vhodnými elučními činidly. Pomocí iontoměničové chromatografie se mohou získat požadované formy solí.

40 Syntéza sloučeniny obecného vzorce I v prodrug-formě se může provádět například tak, že se formylová skupina sloučeniny obecného vzorce I tak derivatizuje, že vzniknou sloučeniny, jako oximy, thiosemikarbazony, thiazolidiny nebo acetaly. Za tím účelem se může sloučenina obecného vzorce I, ve kterém R je formylová skupina, nechat zreagovat se sloučeninou obecného vzorce IVa, IVb a/nebo IVc, IVd nebo IVe,



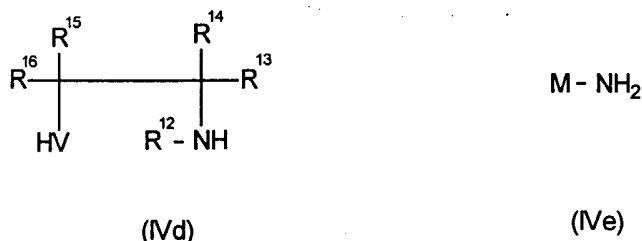
(IVa)



(IVb)



(IVc)



ve kterých R^{10} až R^{16} , M a V mají uvedený význam a n je 1 nebo 2.

Další prodrug-formy se získají analogickým způsobem podle metod popsanych Bundgaardem.

5

Sloučeniny obecného vzorce I, derivatizované na formylové skupině, se mohou převést in vitro a in vivo na aktivní antivirálně působící formu /formylová forma/ /H. Bundgaard, Design and Prodrugs, 1985, 1-92, Elsevier-Verlag/. Převedení na aktivní formu se může provést například hydrolyzou ve vodném roztoku nebo enzymatickou katalýzou na místě účinku nebo na cestě k tomuto místu.

10

Test účinnosti chemoterapeutika pro infekce HIV u lidí působí potíže, neboť ještě neexistuje žádný infekční model u laboratorních zvířat. Pro zkoušení chemoterapeutika se musí proto sáhnout zpět na infekci jinými retroviry. V tomto případě byla zvolena infekce myši virem Friendovy leukemie. Za tím účelem byly NMRI laboratorní myši /NMRI = Naval Medical Research Institute/ infikovány intravenózní injekcí myšího séra, obsahujícího vir Friendovy leukemie. U neléčených kontrolních zvířat se jako symptom infekce vyvinulo během 2 týdnů zřetelné zvětšení sleziny a jater. Léčení se provádělo 10 dnů, počínaje po 48 hodinách po infekci. 14. den pokusu byla zvířata usmrcena a otevřena. Slezina byla vyjmuta a zvážena. Jako parametr terapeutické účinnosti byla korelována hmotnost sleziny léčených zvířat s hmotností sleziny infikované neléčené kontrolní skupiny.

15

20

U unifikovaných vzrostlých laboratorních myší /20 až 24 g tělesné hmotnosti/ vážila slezina asi 1 % tělesné hmotnosti nebo méně, zatím co u infikovaných zvířat dosáhla hmotnost sleziny na konci pokusu asi 10 % tělesné hmotnosti.

25

Sloučenina obecného vzorce I, ve kterém R je formylová skupina, má cenné farmakologické vlastnosti, zejména antivirální účinek, a sice jak vůči nemocem, vyvolaným DNA-viry, tak i nemocem, vyvolaným RNA-viry, zejména proti nemocem, které jsou vyvolány Herpes simplex virem /HSV 1/, myxoviry, virem Friendovy leukemie /FLV/ nebo lidské imunodeficiencie /HIV/. Sloučeniny podle vynálezu se proto hodí pro potírání různých nemocí, vyvolaných viry, jako onemocnění respiračního traktu, onemocnění kůže, oka, centrálního nervového systému, AIDS a stavů příbuzných AIDS, jako komplexů příbuzných AIDS /ARC/, generalizované lymfadenopatie /PGL/, neuralgických stavů příbuzných AIDS /jako slabomyslnosti nebo tropické paraperese/, pozitivních stavů anti-HIV-antitělísek, Kaposiho sarkomu nebo trombopenické purpury.

30

35

Sloučenina obecného vzorce I a/nebo její prodrug forma se může používat buď samotná nebo smíšená s fyziologicky snesitelnými pomocnými látkami nebo nosiči v účinných množstvích jako léčivo. Může se podávat například perorálně v dávce 1 až 500 mg/kg/ /den, s výhodou 5 až 50 mg/kg/den. Aplikace pro parenterální, rektální nebo topické použití nebo jako aerosol se provádí například v množství 0,5 až 500 mg/kg/den, s výhodou 2 až 100 mg/kg/den. Sloučenina obecného vzorce I a/nebo její prodrug-forma se podává s výhodou v dávkovacích jednotkách, které obsahují minimálně účinné množství sloučenin podle vynálezu, s výhodou 25 až 6000 mg, nejvýhodněji 100 až 1000 mg. Tyto hodnoty se vztahují na dospělé lidi s hmotností 75 kg. Tyto dávkovací jednotky se mohou podávat i vícekrát za den. Dávky je možné v těžkých případech i zvýšit. V mnoha případech ale stačí i nižší množství. Pro potírání nemocí, které jsou způsobeny RNA-viry nebo DNA-viry, se hodí zejména diethylester 2-formylbenzylfosfonové kyseliny,

40

45

di(triethylamoniová)sůl 2-formylbenzylfosfonové kyseliny,
monoethylestertriethylamoniová sůl 2-formylbenzylfosfonové kyseliny,
diethylesterthiosemikarbazon 2-formylbenzylfosfonové kyseliny,
diethylester kyseliny nikotinoylhydrazono-2-formylbenzylfosfonové,

5

nebo

diethylester 2-/3,4-dimethyl-5-fenyloxazolidin-2-yl/benzylfosfonové kyseliny.

10 Sloučenina obecného vzorce I a/nebo její prodrug-forma podle vynálezu se může podávat i v kombinaci s jinými látkami, zejména antivirálními prostředky a imunostimulátory, jako interferony. Sloučenina obecného vzorce I a/nebo její prodrug-forma se dále označují jako účinná látka.

15 Vynález zahrnuje dále použití účinné látky pro výrobu léčiv, která se používají pro léčení a profylaxi výše uvedených nemocí. Dalším předmětem vynálezu jsou léčiva, která obsahují jednu nebo více účinných látek.

20 Léčiva se mohou vyrábět známými způsoby, které jsou odborníkovi běžné. Jako léčivo se účinná látka používá buď sama jako taková, nebo s výhodou v kombinaci s vhodnými farmaceutickými pomocnými látkami a nosiči ve formě tablet, dražé, kapslí, čípků, emulzí, suspenzí nebo roztoků, přičemž obsah účinné látky činí až asi 95 %, s výhodou se pohybuje mezi 10 až 75 %.

25 Vhodné pomocné látky, popřípadě nosiče pro požadovanou formulaci léčiv, jsou například vedle rozpouštědel, gelotvorných látek, základů pro čípky, pomocných tabletovacích látek, základů pro čípky, pomocných tabletovacích látek a jiných nosičů účinných látek i antioxidanty, dispergační činidla, emulgátory, odpěňovače, korigencia chuti, konzervační prostředky, látky usnadňující rozpouštění nebo barviva.

30 Účinná látka se může aplikovat perorálně, parenterálně, intravenózně nebo rektálně, přičemž vedle perorální aplikace je zejména vhodná intranazální aplikace jako aerosol.

35 Pro perorální formu použití se účinná látka smísí s vhodnými přísadami, jako nosiči, stabilizátory nebo inertními zřed'ovadly, a pomocí obvyklých metod se zpracuje na vhodnou formu pro podávání, jako například tablety, dražé, tobolky, vodné nebo olejové roztoky. Jako inertní nosiče se mohou používat například gummi arabicum, magnezie, uhličitán hořečnatý, fosforečnan draselný, mléčný cukr, glukóza nebo škroby, zejména kukuřičný škrob. Při tom se může přípravek vyrobit jako suchý ale i vlhký granulát. Jako olejové nosiče nebo rozpouštědla přichází v úvahu například rostlinné nebo zvířecí oleje, jako slunečnicový olej nebo rybí tuk.

40

Pro subkutánní nebo intravenózní aplikaci se účinná látka převede pomocí vhodných látek, jako látek, usnadňujících rozpouštění, emulgátorů a dalších pomocných látek, do roztoku, suspenze nebo emulze. Jako rozpouštědla přichází v úvahu například fyziologický roztok kuchyňské soli, alkoholy, například ethanol, propanol, glycerin, roztoky cukrů, jako roztoky glukózy nebo mannitu nebo směs rozpouštědel.

45

Příklady provedení vynálezu

50

Příklad 1

Výroba diethylesteru 2-formylbenzylfosfonové kyseliny

47,9 g /0,31 mol/ 2-chlormethylbenzaldehydu se zahřívalo s 51,5 g /0,31 mol/ triethylfosfitu na 160 °C. Při tom oddestiloval ethylchlorid. Produkt se čistil frakční destilací.

Výtěžek: 64,59 /81 %/; teplota tání 130 °C/0,3 mm;

¹H-NMR /270 MHz, CDCl₃/TMS/: δ = 1,23 /t, 6H, P-O-CH₂-CH₃/, 3,78 /d, 2H, CH₂-P/ JP-H = 24 Hz, 4,04 /dq, 4H, P-O-CH₂-CH₃/, 7,19 – 7,97 /m, 4H, Ar-H/.

10 Příklad 2

Výroba ditriethylamoniové soli 2-formylbenzylfosfonové kyseliny /B/ a monoethylesteru triethylamoniové soli 2-formylbenzylfosfonové kyseliny /C/

15 5,0 g /20 mmol/ diethylesteru 2-formylbenzylfosfonové kyseliny bylo doplněno 100 ml 6 M HCl a vařilo se 6 h pod zpětným tokem. Voda a HCl se oddestilovaly ve vakuu, třikrát se koevaporovalo s toluenem. Zbylá hnědá hmota se chromatografovala přes silikagel /CH₂Cl₂/methanol/triethylamin 75/24/1. Sloučeniny B a C se získaly jako olejovité produkty. Bylo možné je rozdělit chromatografií přes diethylaminoethyl [®]Sephadex A25 /Et₃NH⁺ Form, Firma Pharmacia, Freiburg, BRD/. Liší se svým chováním při eluci /R_f – hodnota/. Eluce se prováděla s gradientem triethylammoniumbikarbonátu od 0,3 – 1,0 M.

25 /B/: R_f = 0,1; výtěžek: 2,4 g /30 %/; ¹HNMR /270 MHz, DMSO/TMS/: δ = 1,07 /t, 18H, N-CH₂-CH₃/, 2,86 /g, 12H, N-CH₂CH₃/, 3,23 /d, 2H, CH₂-P/, JP-H = 23 Hz, 7,24–7,78 /m, 4H, Ar-H/, 10,31 /s, 1H, CHO/.

30 /C/: R_f=0,3; výtěžek: 1,4 g /21 %/; ¹HNMR /270 MHz, DMSO/TMS/: δ = 1,01 – 1,17 /m, 12H, N-CH₂-CH₃ & P-O-CH₂-CH₃/, 2,88 /g, 6H, N-CH₂-CH₃/, 3,27 //d, 2H, CH₂-P/ JP-H 23 Hz, 3,68 // dg, 2H, P-O-CH₂-CH₃/, 7,18 – 7,78 /m, 4H, Ar-H/, 10,31 /s, 1H, CHO/.

Příklad 3

Výroba ditriethylamoniové soli 2-formylbenzylfosfonové kyseliny

35 Ke 2,0 g /8 mmol/ sloučeniny A v 10 ml absolutního dioxanu se přikapalo 3,2 g /21 mmol/ trimethylsilylbromidu, reakční směs se zahřála na 50 °C a při této teplotě se míchala 6 h. Odpařilo se, doplnilo vícenásobným množstvím vody a lyofilizovalo. Surový produkt se čistil chromatograficky jako v příkladu 2.

40 Výtěžek: 1,98 g /62 %/.

Příklad 4

45 Diethylesterthiosemikarbazon 2-formylbenzylfosfonové kyseliny

2,0 g /8 mmol/ sloučeniny A a 0,73 g thiosemikarbazidu se rozpustilo ve 200 ml absolutního ethanolu, popřípadě se v něm suspendovalo. Byly přidány 2 ml kyseliny octové a vařilo se 3 h pod zpětným tokem. Během pomalého ochlazování vypadl krystalický produkt D.

50 Výtěžek: 1,8 g /68 %/; t.t.: 195 až 197 °C; ¹HNMR /270 MHz, CDCl₃/TMS/: δ = 1,16 /t, 6H, CH₂-CH₃/, 3,38 /d, 2H, CH₂-P/, J_{P-H} = 23 Hz/, 3,94 /dq, 4H, CH₂-CH₃/, 7,23 – 7,39 /m, 3H, Ar-H/, 8,40 /s, 1H, Ar-H/, 11,37 /s, 1H, Ar-CH=N/.

Příklad 5

5 Diethylester kyseliny nikotinoylhydrazono-2-formylbenzylfosfonové kyseliny /E/

2,0 g /8 mmol/ sloučeniny A a 1,07 g /8 mmol/ hydrazidu kyseliny nikotinové se rozpustily ve 30 ml absolutního ethanolu. Po přidavku 1 ml kyseliny octové se vařilo 8 h pod zpětným tokem. Rozpouštědlo se odstředilo, zbytek se chromatografoval přes silikagel /eluční činidlo
10 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$ 9,5/0,5; $R_f = 0,45/$. Produkt E se získal ve formě krystalů.

Výtěžek: 2,2 g /73 %/; t.t. 136 až 140 °C; $^1\text{H-NMR}$ /270 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{TMS}/$; $\delta = 1,14\text{--}1,37$ /m, 6H, $\text{CH}_3/$, 3,61 – 3,79 /d, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}/$, $J_{\text{P-H}} = 24$ Hz, 3,87 – 4,16 /m, 4H, $\text{CH}_2\text{-CH}_3/$, 7,11 – 7,49 /m, 4H, Ar-H/, 7,70 – 9,23 /m, 5H, Py-H/. 10,17 & 11,25 /je, s, Vh. 1 : 3, 1H, NH/.
15

Příklad 6

20 Diethylester 2-/3,4-dimethyl-5-fenyloxazolidin-2-yl/-benzylfosfonové kyseliny /F/

2,0 g /8 mmol/ sloučeniny A a 1,32 g /8 mmol/ /-/-efedrinu se rozpustilo ve 100 ml benzenu a 24 h se vařilo na odlučovači vody pod zpětným tokem. Potom se rozpouštědlo odstředilo, zbytek se chromatografoval přes silikagel /eluční činidlo $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{ethanol}$ 9,5/0,5; $R_f = 0,55/$. Produkt se
25 získal ve formě oleje.

Výtěžek: 2,4 g /75 %/; $^1\text{H-NMR}$ /270 MHz, $\text{CDCl}_3/\text{TMS}/$; $\delta = 0,80$, /d, 3H, $\text{CH-CH}_3/$, 1,25 /m, 6H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3/$, 2,27 /s, 3H, $\text{N-CH}_3/$, 3,18 /dq, 1H, $\text{CH-CH}_3/$, 3,20 & 3,28 /dd, 1H, Ph-CH-CH/, 3,59 – 3,76 /m, 2H, $\text{CH}_2\text{-P}/$; 4,01 /M, 4H, $\text{O-CH}_2\text{-CH}_3/$, 5,19 /s, 1H, Ar-CH/O-/ /N-//, 7,16 – 7,45 /m, 8H, Ar-H/, 7,89 – 7,98 /m, 1H, Ar-H/.
30

Příklad 7

35 NMRI-myši prosté patogenů s hmotností asi 15 g byly infikovány intraperitoneálně Herpes simplex typu 1 a potom léčeny intraperitoneálně, perorálně nebo subkutánně sloučeninami, uvedenými v tabulce 1. Ošetřování se provádělo dvakrát denně po dobu 2,5 dnů, počínaje po infekci. Výsledek léčení byl určován pomocí průběhu onemocnění a počtu přežití oproti neléčené infikované kontrole. Kontrolní zvířata dostala místo zkoušených sloučenin ve vodě rozpustnou
40 methylhydroxyethylcelulózu /viskozita 300 Pa.s ve 2% aplikovaném roztoku/. Pokusy byly prováděny se skupinami po 5 myších pro preparát.

Chemoterapeutický účinek sloučeniny A je zřejmý z tabulky 1

Tabulka 1

Herpes simplex 1

Preparát	Dávka /mg/kg/	Přežití	Průměrná doba přežití /dny
Kontrola	sk 0	1	6,7
A	sk 2,5	2	9,0
A	sk 25	0	7,2
A	sk 250	0	8,4
Kontrola	po 0	1	8,0
A	po 2,5	4	8,0
A	po 25	5	—
A	po 250	4	8,0
Kontrola	sk 0	1	8,3
C	sk 3	1	8,5
C	sk 10	3	8,0
C	sk 30	4	10,0
Kontrola	po 0	1	7,8
C	po 3	4	9,0
C	po 10	3	8,0
C	po 30	1	8,3
Kontrola	sk 0	1	8,3
B	sk 3	2	7,8
B	sk 10	3	7,0
B	sk 30	3	6,5
Kontrola	po 0	1	7,8
B	po 3	3	7,0
B	po 10	2	8,3
B	po 30	3	6,0
Kontrola	ip 0	1	8,3
A	ip 3	0	8,0
A	ip 10	4	9,0
A	ip 30	3	8,5

po = perorálně

5 ak = subkutánně

ip = intraperitoneálně

Příklad 8

10

Buněčné kultury Hela – a Vero–buněk se přeočkují do desek s mikrotitrem a infikují se myxoviry influenza A2/. 2 hodiny po infekci se do buněčných kultur přidaly sloučeniny B a C v různých zředěních. 48 až 72 hodin po infekci se vyhodnocoval výsledek terapie pomocí cytopatogenního účinku mikroskopicky a fotometricky podle absorpcí neutrální červeně /barevný test podle Fintera/ /Finter, N. B. Interferons, 1966/. Minimální koncentrace, při které ukazuje asi polovina infikovaných buněk žádný cytopatogenní účinek, se pokládá za minimální inhibiční koncentraci /MHK/. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 2.

15

Tabulka 2

Influenza A2

20

Látka	MHK /ug/ml	DTM /ug/ml/
C	44,4	> 400
B	4,94	> 400

MHK = minimální inhibiční koncentrace

DTM = maximální snesitelný dávka

Příklad 9

- 5 NMRI myši prosté patogenů s hmotností asi 16 g byly infikovány intranazálně virem influenzy A2 a potom léčeny subkutánně a perorálně sloučeninami, uvedenými v tabulce 3. Sloučeniny byly aplikovány zvířatům pod lehkou narkózou po jedné kapce suspenze viru do nosních dírek. Ošetřování se provádělo dvakrát denně po dobu 2,5 dnů, počínaje po infekci. Pro srovnání sloužil vždy amantadin. Výsledek léčení byl určován pomocí průběhu nemoci a počtu přežití oproti neošetřeným infikovaným zvířatům. Kontrolní zvířata dostala místo sloučenin, určených ke zkoušení, ve vodě rozpustnou methylhydroxyethylcelulózu /viskozita 300 Pa.s ve 2% roztoku/.
- 10 Pokusy byly prováděny se skupinami, které obsahovaly po 5 myších pro preparát.

Chemoterapeutický účinek vyplývá z tabulky 3.

Tabulka 3 Influenza A2

15

Preparát	Dávkování /mg/kg/	Počet přežití	Průměrná doba přežití /dny
kontrola	po 0	2	7,5
amantadin	po 80	5	—
A	po 2,5	4	9,0
A	po 3	4	8,0
A	po 10	4	7,0
A	po 25	2	6,3
A	po 30	2	7,3
kontrola	sk 0	0	6,6
amantadin	sk 80	5	—
A	sk 2,5	2	6,7
A	sk 25	3	7,0
kontrola	sk 0	2	6,7
amantadin	sk 80	5	—
B	sk 1,5	1	8,5
B	sk 15	4	8,0
kontrola	po 0	1	6,5
amantadin	po 80	4	8,0
B	po 1,5	3	8,5
B	po 15	5	—
B	po 150	3	7,0
kontrola	sk 0	0	6,8
C	sk 0,25	5	—
C	sk 2,5	5	—
C	sk 25	3	7,5
kontrola	po 0	0	7,2
C	po 0,25	5	—
C	po 2,5	2	6,0
C	po 25	5	—
kontrola	po 0	0	6,6
D	po 0,25	4	8,0
D	po 2,5	1	7,0
D	po 25	2	7,3
kontrola	po 0	0	6,6
E	po 0,25	4	8,0
E	po 2,5	3	6,7
E	po 25	3	6,0

Tabulka 3 - pokračování

Preparát	Dávkování /mg/kg/	Počet přežití	Průměrná doba přežití /dny
kontrola	po 0	1	7,0
F	po 0,25	3	6,5
F	po 2,5	3	6,5
F	po 25	2	7,0

sk = subkutánně

5 po = perorálně

Příklad 10

- 10 Laboratorní myši /NMRI, samičky, hmotnost 20 až 24 g/ byly infikovány intravenózně virem Friendovy leukemie /FLV/, obsaženým v myším séru. 48 hodin po infekci bylo započato s léčením. Myši byly léčeny po dobu 10 dnů látkami, uvedenými v tabulce 4. Uvedené látky byly podávány jednou denně perorálně nebo intraperitoneálně. 14 dní po infekci byla zvířata usmrcena luxací a byla jim odebrána slezina. Hmotnost sleziny byla stanovena. Jako parametr měření
- 15 terapeutické účinnosti byla korelována hmotnost sleziny zvířat, která byla léčena sloučeninou A a D, s hmotností sleziny neléčených infikovaných zvířat.

Jako standardní látka sloužil suramin a azidothymidin /AZT/. Účinek preparátů vyplývá z tabulky 4.

20

Tabulka 4 vir Friendovy leukemie

Preparát	Dávkování	Počet přežití	Relativní hmotnost sleziny % tělesné hmotnosti
kontrola	po 0	100	12,36
AZT	po 15,5	100	3,26
A	po 17,5	100	7,74
A	Po 81	100	5,67
kontrola	ip 0	100	10,64
AZT	ip 50,0	100	7,60
D	ip 50,0	100	7,60
kontrola	ip 0	100	12,36
suramin	ip 50	70	6,06
A	ip 25	90	6,27
A	ip 50	100	6,52

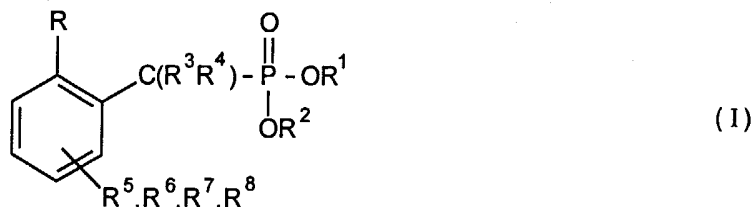
ip = intraperitoneálně

25 po = perorálně

PATENTOVÉ NÁROKY

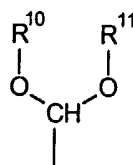
5

1. Deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I

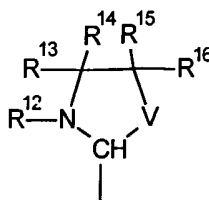


10 ve kterém

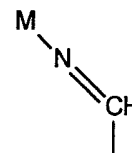
R znamená formylovou skupinu nebo skupinu obecného vzorce Ib, Ic, nebo Id



(Ib),



(Ic),



(Id),

15

ve kterých

R¹⁰ a R¹¹, které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, nebo R¹⁰ a R¹¹ spolu dohromady tvoří cyklický acetal se 2 nebo 3 atomy uhlíku,

20

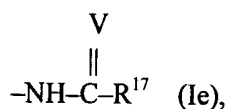
R¹² až R¹⁶, které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, nebo arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku,

25

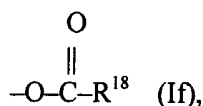
V je kyslík nebo síra,

M znamená hydroxyskupinu, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylalkylovou skupinu se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 atomů uhlíku, arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo zbytek obecného vzorce Ie nebo If

30



35

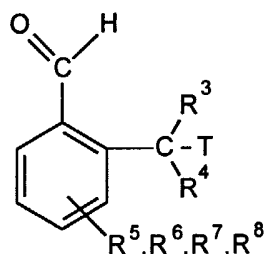


ve kterých

R¹⁷ znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, aminoskupinu, pyridylovou skupinu nebo arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku, a

40

- 5 R^{18} znamená aminoskupinu, pyridylovou skupinu, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo arylalkylovou skupinu se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 atomů uhlíku,
- 10 R^1 a R^2 , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, alkenylovou nebo alkinylovou skupinu se 2 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylalkylovou skupinu se 7 až 16 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 10 atomů uhlíku, sodík, draslík, vápník, hořčík, hliník, lithium, ammonium nebo triethylammonium,
- 15 R^3 a R^4 , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, alkinylovou nebo alkenylovou skupinu se 2 až 4 atomy a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, nebo vodík,
- 20 R^5 , R^6 , R^7 a R^8 , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají chlor, brom, methoxyskupinu nebo vodík.
2. Derivát 2-formylbenzylfosfonové kyseliny podle nároku 1, kterým je diethylester kyseliny 2-formylbenzylfosfonové.
- 25 3. Derivát 2-formylbenzylfosfonové kyseliny podle nároku 1, kterým je di(triethylamoniová) sůl kyseliny 2-formylbenzylfosfonové.
4. Derivát 2-formylbenzylfosfonové kyseliny podle nároku 1, kterým je triethylamoniová sůl monoethylesteru kyseliny 2-formylbenzylfosfonové.
- 30 5. Derivát 2-formylbenzylfosfonové kyseliny podle nároku 1, kterým je thiosemikarbazon diethylesteru kyseliny 2-formylbenzylfosfonové.
6. Derivát 2-formylbenzylfosfonové kyseliny podle nároku 1, kterým je diethylester kyseliny nikotinoylhydrazono-2-formylbenzylfosfonové.
- 35 7. Derivát 2-formylbenzylfosfonové kyseliny podle nároku 1, kterým je diethylester kyseliny 2-(3,4-dimethyl-5-fenyloxazolidin-2-yl)benzylfosfonové.
- 40 8. Způsob výroby derivátů 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I, ve kterém značí R formylovou skupinu, podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se sloučenina obecného vzorce II



(II)

ve kterém R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 a R^8 mají výše uvedený význam a

45

T značí atom chloru, bromu nebo jodu, methylsulfonátovou, fenylsulfonátovou nebo tosylsulfonátovou skupinu,

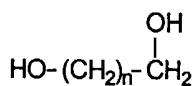
nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



ve kterém R^1 , R^2 , mají výše uvedený význam, a

R^9 znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem.

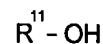
9. Způsob výroby derivátů 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I, ve kterém značí R skupiny Ib, Ic nebo Id, podle nároku 1, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že se sloučenina obecného vzorce I, ve kterém R znamená formylovou skupinu, nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce IVa, IVb a/nebo IVc, IVd nebo IVe,



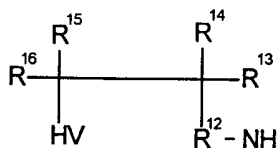
(IVa)



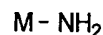
(IVb)



(IVc)



(IVd)



(IVe)

ve kterých

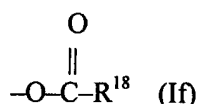
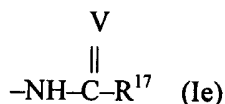
n je 1 nebo 2,

R^{10} a R^{11} znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem,

R^{12} až R^{16} , které mohou být stejné nebo rozdílné, znamenají alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, nebo aryllovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku,

V je kyslík nebo síra,

M znamená hydroxyskupinu, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, aralkylovou skupinu se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 atomů uhlíku, aryllovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo zbytek obecného vzorce Ie nebo If



ve kterých

5 R^{17} znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, aminoskupinu, pyridylovou skupinu nebo arylovou skupinu se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku, a

10 R^{18} je aminoskupina, pyridylová skupina, alkylová skupina s 1 až 10 atomy uhlíku a s lineárním nebo rozvětveným řetězcem, arylová skupina se 6, 10 nebo 14 atomy uhlíku nebo aralkylová skupina se 7 až 20 atomy uhlíku, přičemž alkylová skupina obsahuje až 14 atomů uhlíku.

15 10. Deriváty 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I, podle nároku 1, pro použití k léčení onemocnění, vyvolávaných RNA-viry nebo DNA-viry.

20 11. Farmaceutický prostředek pro ošetření onemocnění, vyvolávaných RNA-viry nebo DNA-viry, **v y z n a ě u j í c í s e t í m**, že jako účinnou látku obsahuje derivát 2-formylbenzylfosfonové kyseliny obecného vzorce I, podle nároku 1.

25

Konec dokumentu
