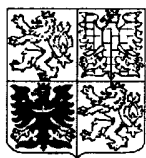


PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

287 745

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **1994 - 845**

(22) Přihlášeno: **09.10.1992**

(30) Právo přednosti:
11.10.1991 US 1991/777835

(40) Zveřejněno: **12.07.1995**
(Věstník č. 7/1995)

(47) Uděleno: **28.11.2000**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **17.01.2001**
(Věstník č. 1/2001)

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 F 9/6561

C 07 F 9/6512

A 61 K 31/675

A 61 P 31/18

(73) Majitel patentu:

ÚSTAV ORGANICKÉ CHEMIE A BIOCHEMIE
AV ČR, Praha 6, CZ;
REGA STICHTING V. W. Z., Leuven, BE;

(72) Původce vynálezu:

Martin John C., Cheshire, CT, US;
Bronson Joanne J., Madison, CT, US;
Yu Kuo-Long, Hamden, CT, US;

(74) Zástupce:

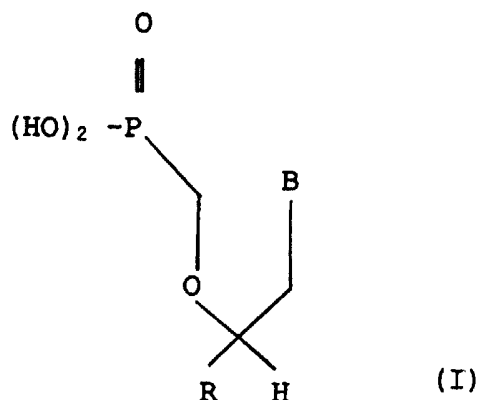
Ing. Marta Gabrielová, Inventia s.r.o., Politických
vězňů 7, Praha 1, 11173;

(54) Název vynálezu:

**Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované
alkenylové a alkinylové deriváty purinu a
pyrimidinu**

(57) Anotace:

Sloučeniny vzorce I, kde B je zbytek purinové nebo pyrimidinové báze, vybraný ze skupiny, zahrnující adenin, xanthin, hypoxanthin, guanin, 8-bromguanin, 8-chloroguanin, 8-aminoguanin, 8-hydrazinoguanin, 8-hydroxyguanin, 8-methylguanin, 8-thioguanin, 2-aminopurin, 2,6-diaminopurin, thymin, cytosin, uracil, 5-bromuracil, 5-iodouracil, 5-ethyluracil, 5-propyluracil, 5-vinyluracil a 5-(2-bromvinyl)uracil; R je lineární alkyl s 1 až 2 atomy uhlíku, substituovaný azido nebo amino, lineární nebo větvený alkenyl s 2 až 6 atomy uhlíku, lineární nebo větvený alkinyl s 2 až 6 atomy uhlíku; monoester, diester odvozený od alkanolů s 1 až 5 atomy uhlíku a odpovídající sůl, odvozená od skupiny, zahrnující ionty alkalických kovů a kovů alkalických zemin nebo amoniových a kvartérně amoniových iontů, hydrát, jako monohydrát, dihydrát, trihydrát, a solvát, R nebo S izomer a jejich racemická směs. S předpokladem, že když R je azidomethyl nebo aminomethyl, potom B není adenin a když R je azidomethyl nebo azidoethyl, potom B není cytosin. Sloučeniny mají antivirový účinek.



CZ 287745 B6

Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu

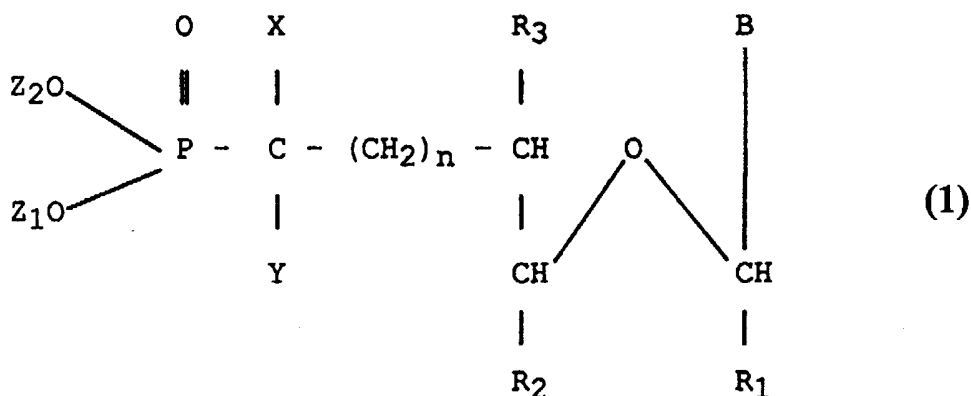
Oblast techniky

- Vynález se týká nukleotidových analogů, způsobu jejich přípravy a jejich kompozic a použití při
5 léčení virových infekcí. Zejména se týká acyklických fosfonomethoxyalkylsubstituovaných alkenylových a alkinylových derivátů purinu a pyrimidinu.

Dosavadní stav techniky

- Infekční virová onemocnění jsou považována za vážný lékařský problém. Pokrok proti infekčním
virovým onemocněním vyžaduje vývoj léků se selektivní antivirovou aktivitou, zatím co
10 zůstávají benigní k normálním buňkám. Řada antivirových přípravků, jež jsou nyní studovány a
jež se zdají mít tuto selektivitu, jsou nukleosidové analogy. Obecně jsou tyto sloučeniny
strukturními analogy přírodně se vyskytujících nukleosidů. Strukturní modifikace buď v jádře
purinové nebo pyrimidinové báze a/nebo sacharidové komponenty vede k synteticky modifiko-
vanému derivátu nukleosidu, který vbudovaný do procesu tvorby virové nukleové kyseliny,
15 působí tak, aby přerušil další syntézu virové nukleové kyseliny. Účinnost těchto antivirových
činidel závisí na selekční konverzi virovým enzymem nebo hostitelským enzymem na
odpovídající analog nukleotidu, který je pak přeměněn na trifosfát a poté dochází k inkorporaci
do virové nukleové kyseliny. Problémem této antivirové strategie je, že se objevily určité kmeny
virů, jejichž enzymy velice chudě podporovaly fosforylaci nukleosidových analogů. K překonání
20 tohoto problému se jeví jako potenciálně užitečné zabudování nedotčených nukleosidových
analogů do virových nukleových kyselin jako antivirové prostředky.

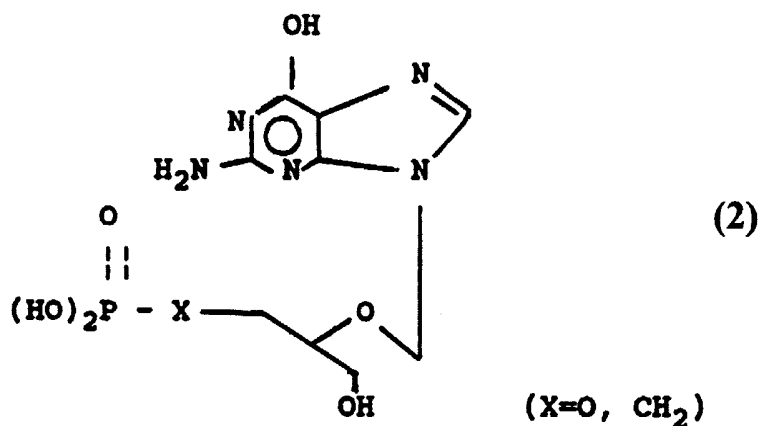
Reist a Sturm ve WO 84/04748, zveřejněné 6. prosince 1984, popsali nové fosfonové kyseliny
nukleosidových fosfátů, které jsou vhodné jako antivirové prostředky pro zabudování do virové
DNA. Strukturní vzorec těchto sloučenin je ukázán níže jako 1.



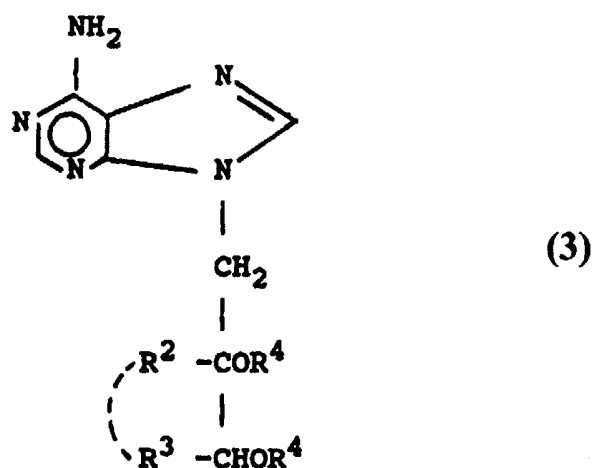
- V sloučeninách podle Reista je B purinová nebo pyrimidinová báze: R₁ a R₂ spolu tvoří cukr β-
pentafulanózu nebo R₁ je H a R₂ je H nebo hydroxymethyl; R₁ je H nebo OH; X je H, OH nebo
30 spolu s Y je karbonylový kyslík a Y může být také H; Z₁ a Z₂ jsou H nebo alkyl. Tyto
sloučeniny se obecně odlišují od sloučenin podle předmětného vynálezu 1) etherickou
kyslíkovou vazbou s uhlíkem připojeným k bázi, jejíž účelem je zachovat nebo napodobit
acetálovou kyslíkovou vazbu pentafulanózového sacharidového kruhu; 2) modifikace fosfátu je

fosfonoalkylenovou vazbou. Naproti tomu acyklická sacharidová analogická složka předložených sloučenin sestává z uhlíkaté kostry až po fosfonomethoxy vazbu.

Podobně syntézu a aktivitu fosfátových a fosfonátových derivátů 9-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)methyl]-guaninu vzorce 2 proti Herpes-Virus popsal Prisbe et al, v J. Med. Chem., 1986, 29, 671.

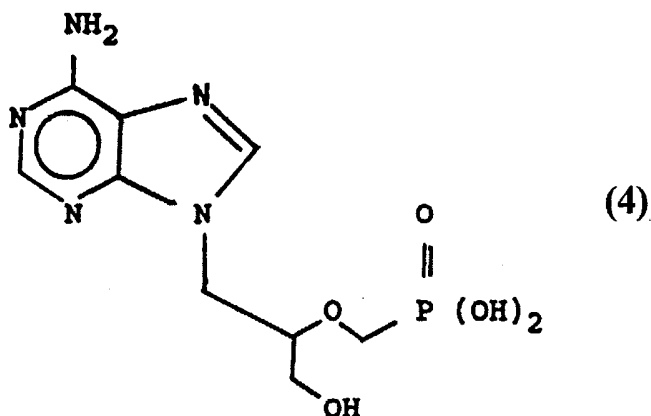


Bližší vztah mají analogy adeninofosfonové kyseliny vzorce 3 a jejich syntézy, které byly popsány v GB patentové přihlášce Holý et al., Britský patent 2 134 907 A publikovaný 22. srpna 1984.

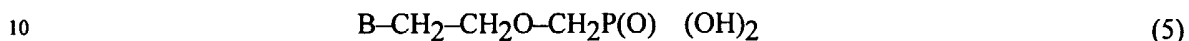


Ve vzorci 3, R² a R³ jsou H nebo spolu uzavírají ribonukleosidový kruh; a obě R⁴ jsou alternativně H a -CH₂P(O)(OH)₂ skupina.

Preferovaný příklad jedné z těchto sloučenin, známé jako (S - HPMPA) vzorce 4, byl popsán DeClercqem a spol. v Nature, 1986, 323, str. 464-467 a dříve Holým a spol., Nucleic Acids Research (výzkum nukleových kyselin), Sympoziová řada č. 14, 1984, str. 277-278.

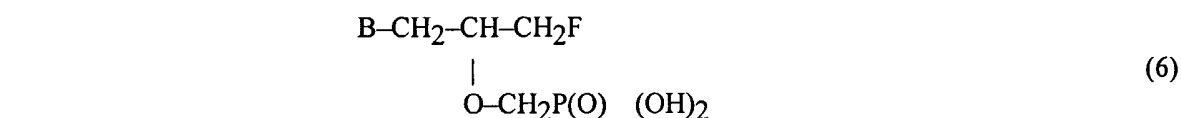


Další velice příbuznou skupinou sloučenin jsou 9-(2-fosfonymethoxyethyl) puriny vzorce 5, které byly popsány v československém autorském osvědčení autorů Holý a kol., AO č. 263 951. Sloučeninou rozsáhle zkoumanou byl derivát adeninu, zejména PMEPA, jak uvedeno v čs. AO Holého a spol. č. 263 952. Různé testy s pokusnými zvířaty prokázaly jeho účinnost na virus Molonyho sarkoma, virus leukémie, simian virus imunodeficitu (SIV) a v tkáňových kulturách na HIV jak to popsal E. DeClercq v *Antiviral Res.*, 12, 1 (1989).



Ve vzorci 5 B označuje purin-9-yl.

Rovněž jsou blíže příbuznou skupinou sloučenin N-(3-fluoro-2-fosfonymethoxypropyl) deriváty purinových a pyrimidinových heterocyklických bází vzorce 6, jejich příprava a použití, které jsou popsány v čs. patentu č. 285 420, Holý a kol.



20

Ve vzorci 6, B označuje purin-9-yl nebo pyrimidin-1-yl vazby a absolutní konfigurace na C-2 uhlíkovém atomu je S, R nebo RS. Sloučeniny vzorce 6 vykazují selektivní antiretrovirovou aktivitu.

25 A. Holý také popisuje syntézu racemických (RS), (R) a S 3'-azidomethylových a 3'-aminomethylových adeninoanalogů HPMPA v *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 54, 446 (1989).

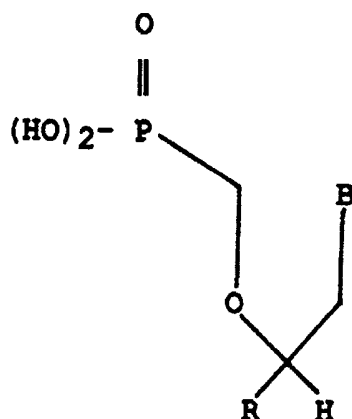
V těchto referencích nejsou obsaženy nebo předpokládány jejich kombinace, ze kterých by byly známy tyto sloučeniny, jejich příprava a kompozice a použití podle předloženého vynálezu.

30 Nyní byly syntetizovány fosfonomethoxyalkenylové a azidoalkylové deriváty purinu a pyrimidinu a zjistilo se, že mají užitečnou antivirovou aktivitu. Stejnou aktivitu vykazovaly alkenylové deriváty purinu a pyrimidinu, které lze připravit stejným syntetickým postupem, který je používán pro přípravu alkenylových derivátů. Aminoalkylové deriváty lze připravit redukcí odpovídajících azidoalkyl derivátů. Tyto sloučeniny se odlišují od přírodních nukleotidů tím, že mají strukturní variace (změny) ve složce analogické cukru, což může být provázeno také změnou ve vazbě jejich nukleotidové báze. Navíc se tyto sloučeniny odlišují od přírodně se

vyskytující fosfátové struktury nukleotidů povahou vazeb kyslík - uhlík - fosfor v těchto fosfonomethoxy derivátech.

Podstata vynálezu

- 5 Předmětem předloženého vynálezu jsou acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované, alkenyl nebo alkynyl deriváty purinu a pyrimidinu vzorce I



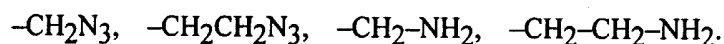
(I),

- 10 kde B je zbytek purinové nebo pyrimidinové báze, vybrané ze skupiny, zahrnující adenin, xantin, hypoxantin, guanin, 8-bromoguanin, 8-chlorguanin, 8-aminoaguanin, 8-hydrazinoguanin, 8-hydroxyguanin, 8-methylguanin, 8-thioguanin, 2-aminopurin, 2,6-diaminopurin, thymin, cytosin, uracil, 5-bromuracil, 5-ioduracil, 5-ethyluracil, 5-propyluracil, 5-vinyluracil a 5-(2-bromovinyl)uracil; R je lineární alkyl s 1 až 2 atomy uhlíku, substituovaný skupinou azido nebo amino, lineární nebo větvený alkenyl s 2 až 6 atomy uhlíku nebo lineární nebo větvený alkynyl s 2 až 6 atomy uhlíku; a jeho monoester, diester a odpovídající sůl, hydrát, solvát, R nebo S izomer
15 a jejich racemická směs (RS) s předpokladem, že když R je azidomethyl nebo aminomethyl, potom B není zbytek adeninu a když R je azidomethyl nebo azidoethyl, potom B není zbytek cytosinu.

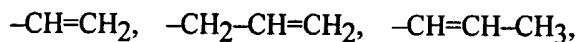
- 20 Dále je předmětem vynálezu příprava těchto sloučenin, jejich zpracování do farmaceutických kompozic a použití těchto kompozic pro léčení virových infekcí savců, včetně a zejména těch, způsobených HIV.

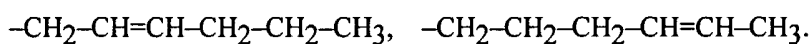
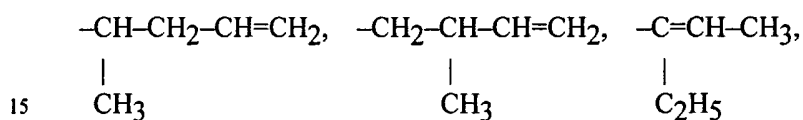
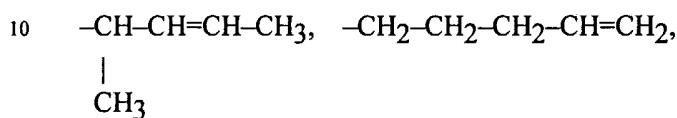
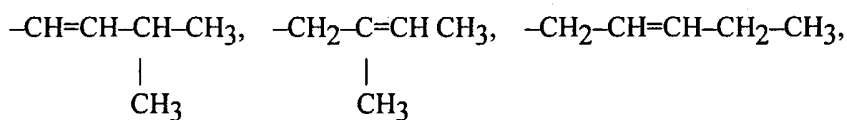
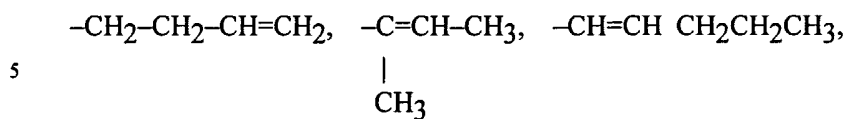
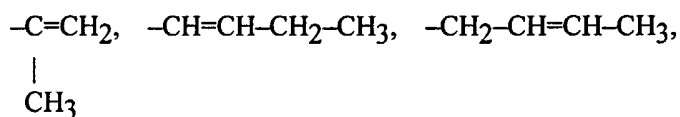
Farmaceutické kompozice podle vynálezu obsahují terapeuticky účinné množství antivirové látky podle předmětného vynálezu nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, mono nebo diester, hydrát nebo solvát v kombinaci s farmaceuticky přijatelným nosičem.

- 25 Příklady alkylů s 1 až 2 atomy uhlíku, substituovaných aminem nebo azidem, jsou:

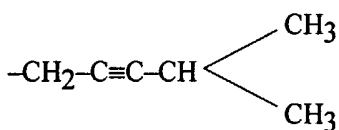
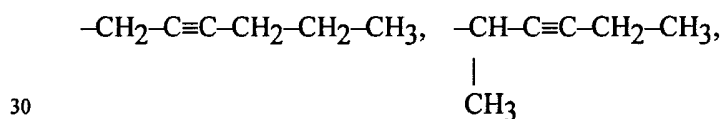
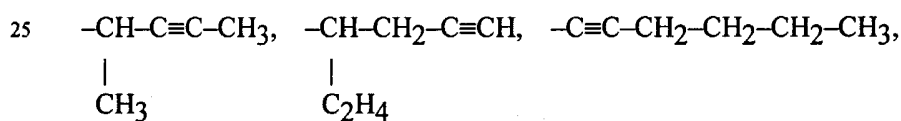
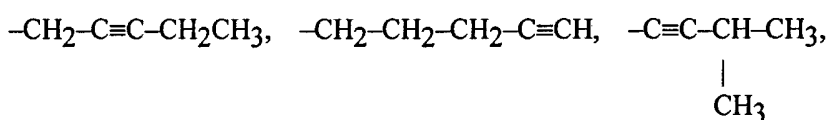
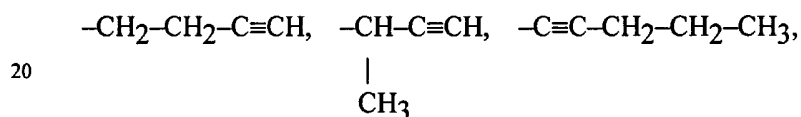
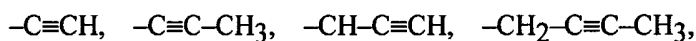


Příklady řečeného alkenylu s 2 až 6 atomy uhlíku jsou:





Příklady alkynylů s 2 až 6 atomy uhlíku jsou:



Monoestery a diestery jsou odvozené od alkanolů s 1 až 5 atomy uhlíku, jako například methanol, ethanol, propanol, izopropanol, butanol, izobutanol, pentanol atd. Preferovanou fosfonátovou jednotkou jsou monoester a kyselina.

- 5 Soli jsou farmaceuticky přijatelné netoxické soli. Takové fyziologicky přijatelné soli mohou zahrnovat ty, odvozené kombinací vhodných kationtů, jako iontů alkalických kovů a kovů alkalických zemin nebo amoniových a kvarterně amoniových iontů s kyselinovou aniontovou jednotkou - skupinou kyseliny alkylfosfonové. Dále také soli mohou být tvořeny adicí kyselin organických a anorganických s bázeckými centry purinů a pyrimidinů. Takovými kyselinami jsou například HCl, HBr, H_2SO_4 a organické sulfonové kyseliny a podobně. Příklady kovových solí
- 10 jsou Li^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{++} a Mg^{++} .

- Sloučeniny podle předloženého vynálezu mohou existovat v různých tautomerních formách, ve své sjednocené formě, jakož i obojetné formě a/nebo ve formě solvátů a hydrátů, které jsou zahrnuté do rozsahu předloženého vynálezu. Příklady takových solvátů jsou methanolát, ethanolát, propanolát, izopropanolát, butanolát atd., a hydrátů, jako jsou monohydrát, dihydrát,
- 15 trihydrát atd.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu existují jako optické izomery a oboje, tedy jak racemické (RS) a individuální chirální izomery R nebo S spadají do rozsahu vynálezu. Výhodný izomer je R, který neočekávaně vykazuje úplnou ochranu buňky proti HIV v širokém rozsahu koncentrací bez pozorovatelné cytotoxicity.

- 20 Výhodné sloučeniny podle vzorce I jsou ty, kde B je guanin, adenin, uracil, cytosin nebo thymin a R je lineární alkyl s 1 až 2 atomy uhlíku, které jsou substituované azido nebo amino skupinou, lineární alkenyl nebo alkynyl s 2 a 3 atomy uhlíku.

Nejvýhodnějšími sloučeninami podle vzorce I jsou ty, kde B je guanin, adenin, uracil, cytosin nebo thymin a R je CH_2N_3 , $-CH=CH_2$, $-CH_2-CH=CH_2$ nebo $-C\equiv CH$.

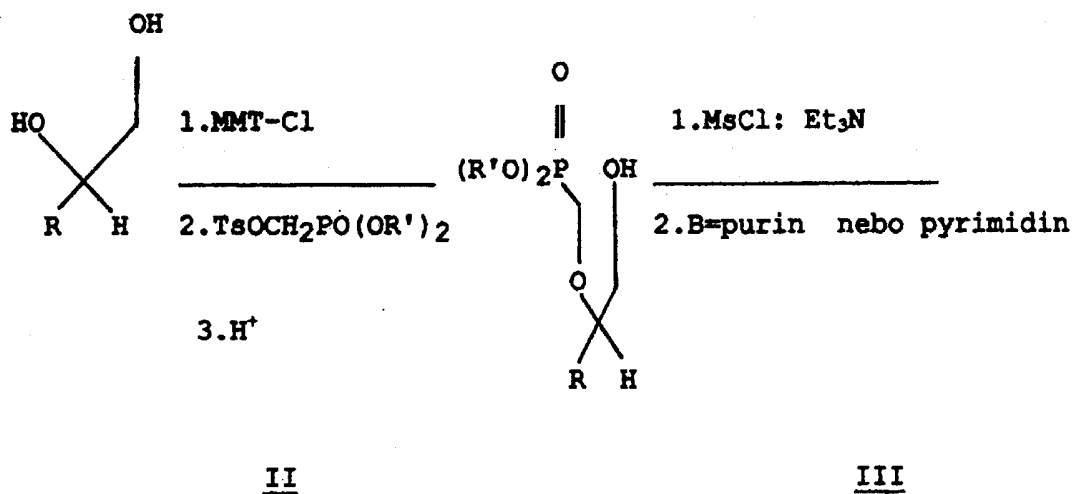
- 25 Výjimečné sloučeniny podle vzorce I jsou (R)-9-[(2-fosfonomethoxy)-3-butenyl]guanin ((R)-2'-vinyl PMEG) a (R)-9-[(2-azidomethyl-2-fosfonomethoxy)propyl]guanin ((R)-2'-azidomethyl PMEG), které překvapivě a dramaticky vykazují ochranu buněk proti HIV v širokém rozmezí koncentrací bez pozorovatelné cytotoxicity.

- Sloučeniny podle vzorce I, zejména chirální izomery (R) a (S), lze připravit stero-specifickou syntézou, začínající příslušným enantiomerním (chirálním) výchozím materiálem. Postup je znázorněn v reakčním schématu 1 pro (R) izomer. (S) izomer se připraví také podle reakčního schématu 1, s tím rozdílem, že se použije opačný enantiomerní (chirální) výchozí materiál.
- 30

- Chirální izomery (R) a (S) lze také připravit opětovným rozpuštěním racemické směsi (RS) dobře známými technikami, například separací diastereomerickými solemi, vytvořenými s opticky aktivními přísadami, například kyselinami nebo zásadami, následovanou konverzí na (R) a (S) izomer.
- 35

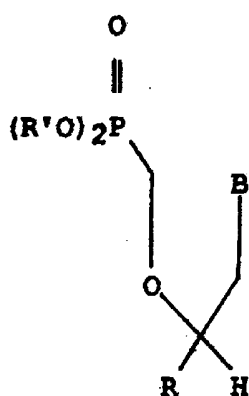
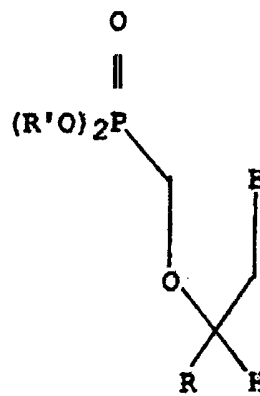
Racemická směs (RS) může být připravena za použití reakčního schématu 1 pro použití racemického výchozího materiálu.

Schéma 1



R = $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$
nebo $-\text{C}\equiv\text{CH}\cdot\text{CH}_2\text{N}_3$ atd.

R' = alkyl, jako methyl, ethyl, propyl
i-propyl atd.

IVhydrolýzaV

R' = alkyl nebo H

5

10

Příprava chirálního (R)-izomeru vzorce I je ilustrována v reakčním schématu 1, začínající s (R)-1,2-propandiolem vzorce II jako výchozí látkou. 1,2-propandiol vzorce II lze syntetizovat pomocí postupu, známého v tomto oboru za použití komerčně dostupných výchozích materiálů. Primární alkohol vzorce II může být selektivně chráněn p-anisylchlorodifenylmethanem (MMT-Cl) v přítomnosti dimethylaminopyridinu a triethylaminu za vzniku příslušného etheru, který lze potom alkylovat diizopropyl tosyloxymethanfosfonátem za vzniku odpovídajícího fosfonátového esteru. Fosfonátový ester lze potom hydrolyzovat kyselinou a odstranit etherovou skupinu za vzniku sloučeniny podle vzorce III. Primární alkohol vzorce II lze konvertovat na organickou odštěpitelnou skupinu jako halogenid, tosylát, mesylát a triflát v přítomnosti organické báze.

- S výhodou lze reakci provést methylsulfonylchloridem a triethylaminem za vzniku odpovídajícího mesylátu. Kondenzaci purinové nebo pyrimidinové báze lze provést kopulační reakcí s mesylátem v inertním organickém rozpouštědle, jako je acetonitril, dimethylformamid a podobně, v přítomnosti přebytku anorganických zásad, jako je uhličitán cesný nebo hydrid sodíku, za vzniku sloučeniny vzorce IV. Sloučenina vzorce IV se může nejdříve nechat reagovat s bromotrimetylsilanem, aby se získala příslušná bromová sloučenina, která může být poté hydrolyzována v kyselém prostředí, například 2N kyseliny chlorovodíkové (kyseliny solné), za vzniku opticky aktivního (R)-izomeru vzorce I. Sloučenina vzorce IV může být hydrolyzována zásadou za vzniku odpovídajících monoesterů vzorce V.
- 10 Příprava chirálního (S)-izomeru vzorce I vychází z (S)-1,2-propandiolu, který je obchodně dostupný nebo může být syntetizován pomocí známých postupů z obchodně dostupných výchozích materiálů. Opticky aktivní (S)-izomer vzorce I se dá připravit z primárního alkoholu podle stejných obecných postupů a reakčních stupňů, znázorněných v reakčním schématu 1 pro přípravu (R)-izomeru vzorce I. Racemická směs (RS) sloučeniny vzorce I se dá připravit podle
- 15 stejných obecných postupů a reakčních sekvencí, uvedených v reakčním schématu 1 pro přípravu (R)-izomeru vzorce I, ale za použití racemického (RS) 1,2-propandiolu vzorce II jako výchozího materiálu.

Alternativní cesta pro přípravu chirálních izomerů (S) a (R) sloučeniny vzorce I, když R je vinyl, je znázorněna v reakčním schématu 2.

20 Schéma 2

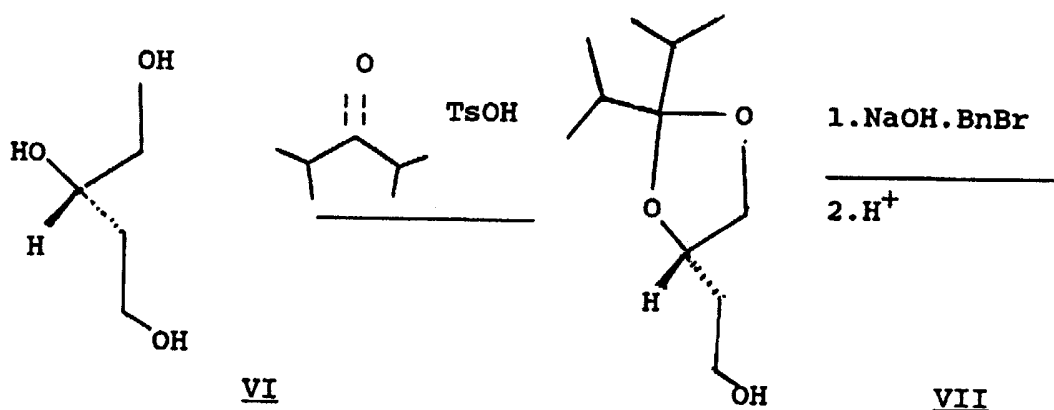


Schéma 2 - pokračování

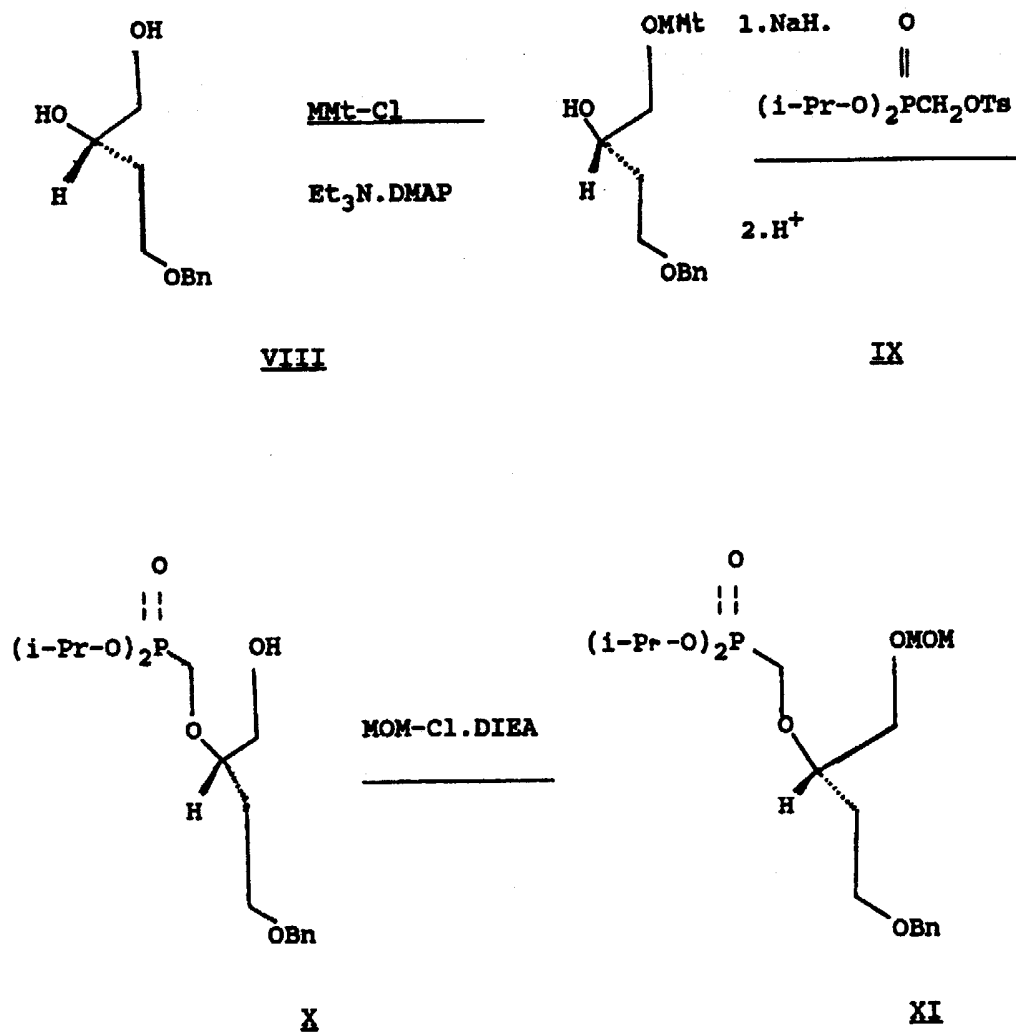


Schéma 2 - pokračování

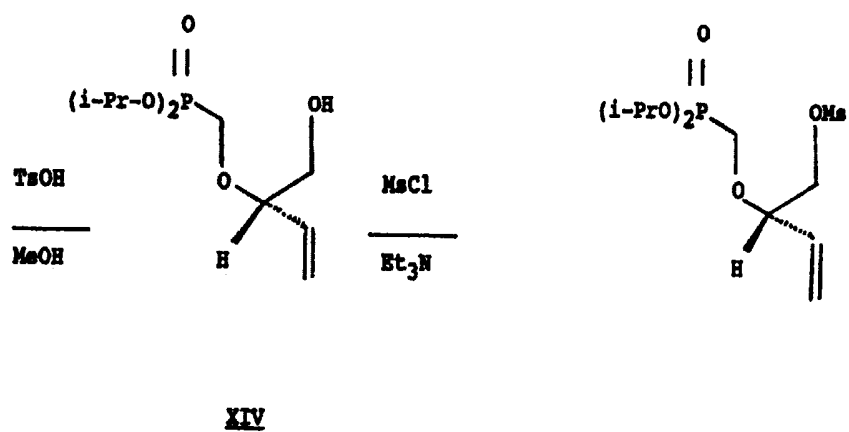
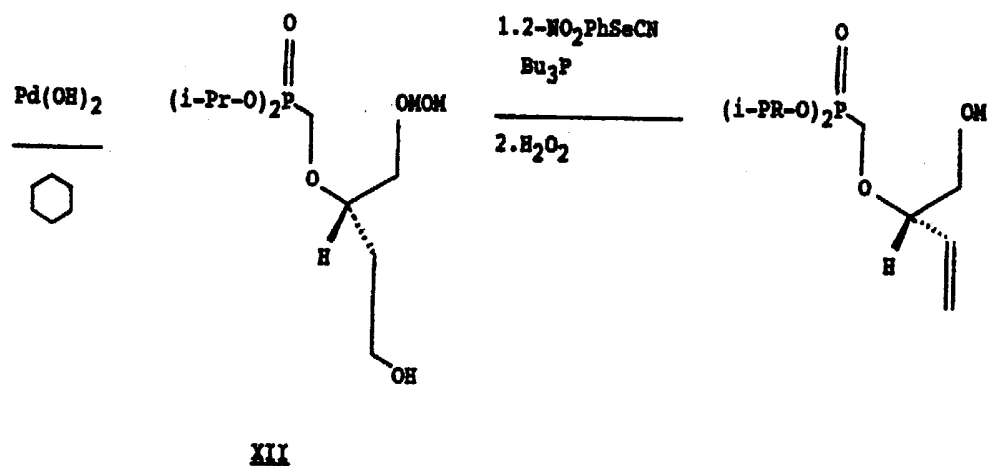
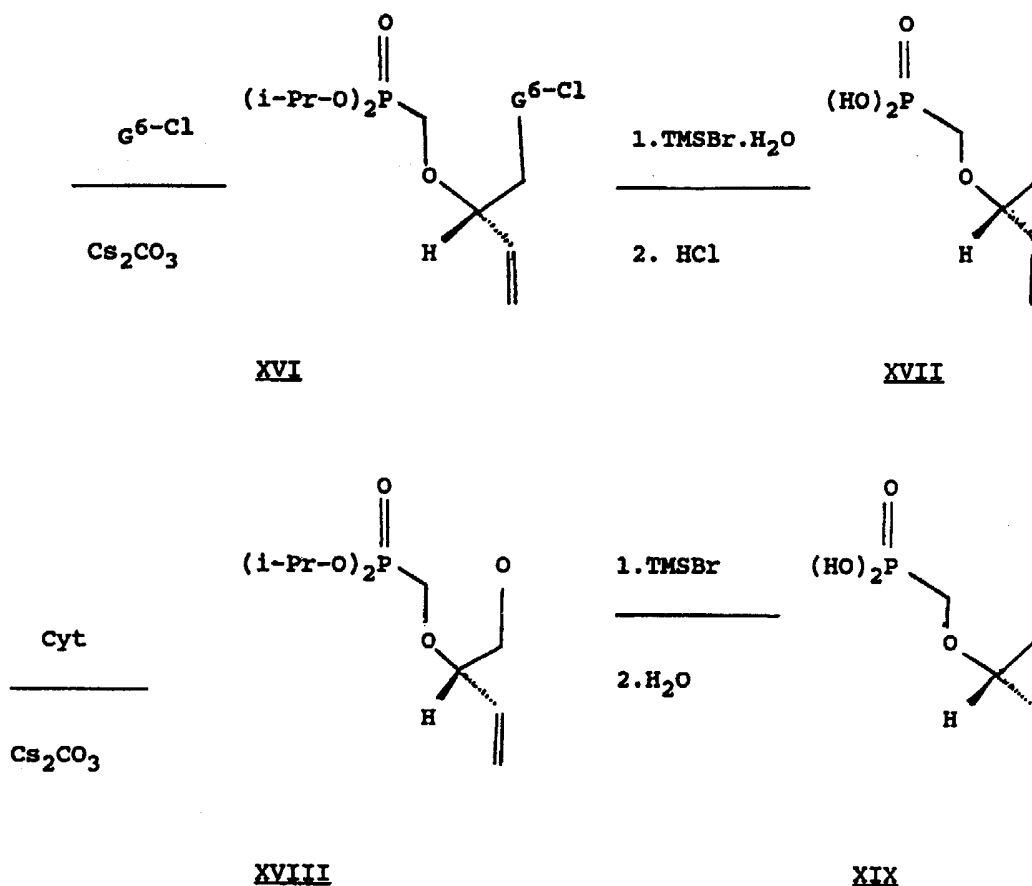
**XV**

Schéma 2 - pokračování



- 5 Komerčně dostupný chirální (S)-1,2,4-butantriol vzorce VI je konvertován na (S)-2-2-diizopropyl-4-(2-hydroxyethyl)-dioxolan vzorce VII 2,4-di-methyl-3-pentanonem a kyselinou p-toluensulfonovou v inertním organickém rozpouštědle, například benzenu. Dioxolan vzorce VII se převede na (S)-4-O-benzyl-1,2,4-butantriol vzorce VIII s benzylbromidem a jodidem tetrabutylammonia v přítomnosti hydroxidu sodného za vzniku 4-O-benzyl-dioxolanu jako meziproduktu, který je pak hydrolyzován kyselinou na sloučeninu vzorce VIII. Primární alkohol
- 10 sloučeniny vzorce VIII je selektivně chráněn s p-anisylchlorodifenylmethanem (MMT-Cl) v přítomnosti dimethylaminopyridinu a triethylaminu na sloučeninu vzorce IX. Sloučenina vzorce IX se alkyluje diizopropyltosyloxymethanfosfonátem na meziprodukt, který je potom hydrolyzován v přítomnosti kyseliny na sloučeninu vzorce X. Primární alkohol fosfonátového
- 15 esteru vzorce X je chráněn chloromethylethyletherem (MOM-Cl) v přítomnosti diizopropylethylaminu a methylenchloridu na sloučeninu vzorce XI. Benzylová ochranná skupina sloučeniny vzorce XI se pak selektivně odstraní katalytickou hydrogenolýzou za použití hydroxidu palladičitého na uhlíku v organickém prostředí, obsahujícím cyklohexan a ethanol, za vzniku sloučeniny XII. Sloučenina vzorce XII se převede na sloučeninu vzorce XIII 2-nitrofenylseleno-
- 20 kyanidem a tributyl-fosfinem v bezvodém tetrahydrofuranu na nitrofenyl-selenylový meziprodukt, který se pak oxiduje peroxidem vodíku. Sloučenina vzorce XIII se převede na sloučeninu vzorce XIV hydrolyzou methoxymethyletherové skupiny sloučeniny XIII p-toluensulfonovou kyselinou v přítomnosti alkoholu, jako methanolu. Sloučenina vzorce XIV se převede na mesylát vzorce XV mesylchloridem v přítomnosti triethylaminu a inertního organického rozpouštědla, jako je methylenchlorid. Mesylát vzorce XV se kopuluje s purinovou nebo pyridinovou bází,
- 25

například guaninem nebo cytosinem, v inertním organickém rozpouštědle, jako například acetonitrilu, dimethylformamidu a podobně v přítomnosti nadbytku organické zásady, jako uhličitanu cesného nebo hydridu sodného, za vzniku sloučenin vzorců XVI a XVIII. Sloučeniny vzorců XVI a XVIII pak reagují s bromtrimethylsilanem za vzniku příslušných bromovaných meziproductů, které jsou potom hydrolyzovány v kyselém prostředí, například 2N kyselinou solnou, za vzniku opticky aktivního (S)-izomeru vzorců XVII a XIX. Monoestery podle vzorců XVII a XIX lze připravit tak, že se sloučeniny vzorců XVI a XVIII podrobí alkalické hydrolyze. Opticky aktivní chirální (R) izomer sloučeniny vzorce I, kde R je vinyl, se připravuje z výchozího materiálu chirálního (R)-1,2,4-butantriolu a podle obecných postupů a reakčních sekvencí, ilustrovaných ve schématu 2, pro přípravu (S)-vinyl izomeru. Chirální (R)-1,2,4-butantriol může být syntetizován postupy, známými v tomto oboru.

Racemická směs (RS) pro sloučeninu vzorce 1, kde R je vinyl, lze připravit z výchozího materiálu (RS)-1,2,4-butantriolu podle postupů a reakcí, ilustrovaných v reakčním schématu 2, pro přípravu (S)-vinyl izomeru. Racemická směs (RS) pro sloučeninu vzorce I, kde R je vinyl, se může rozštěpit na (R) a (S) izomer obecně známými metodami. (RS)-1,2,4-butantriol lze připravit metodami, v tomto oboru obecně známými.

Další cesta pro přípravu (S) a (R) chirálních izomerů sloučeniny vzorce I, když R je azidomethyl nebo aminomethyl, je znázorněna v reakčním schématu 3.

Schéma 3

20

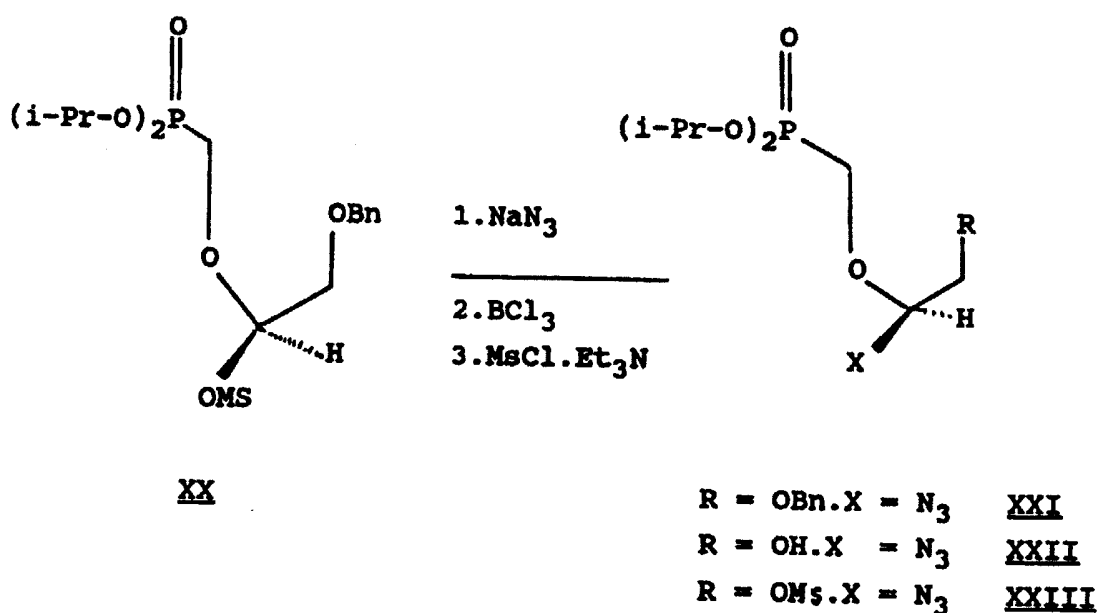
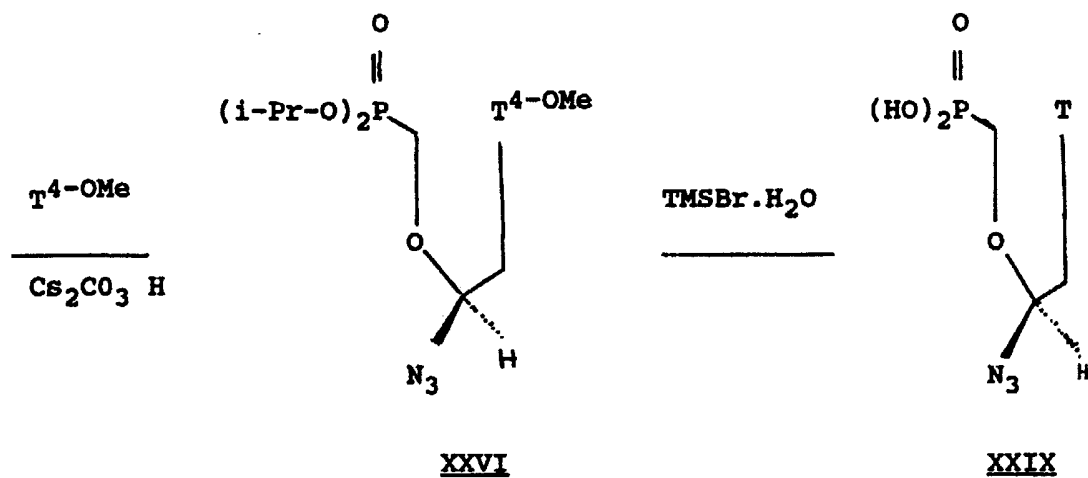
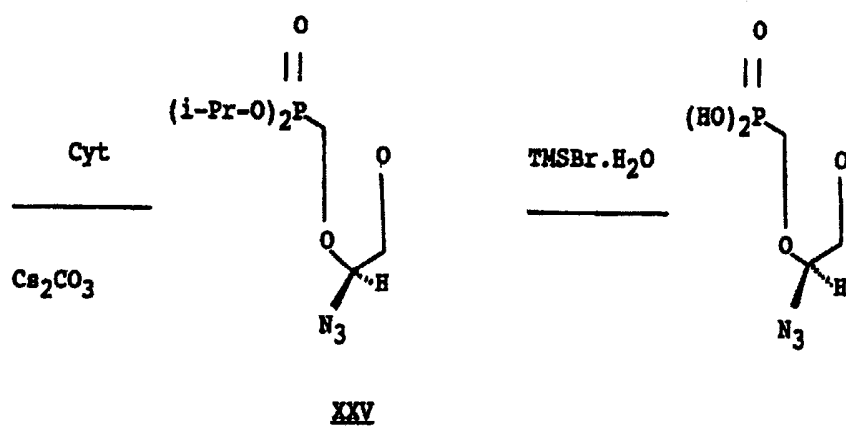
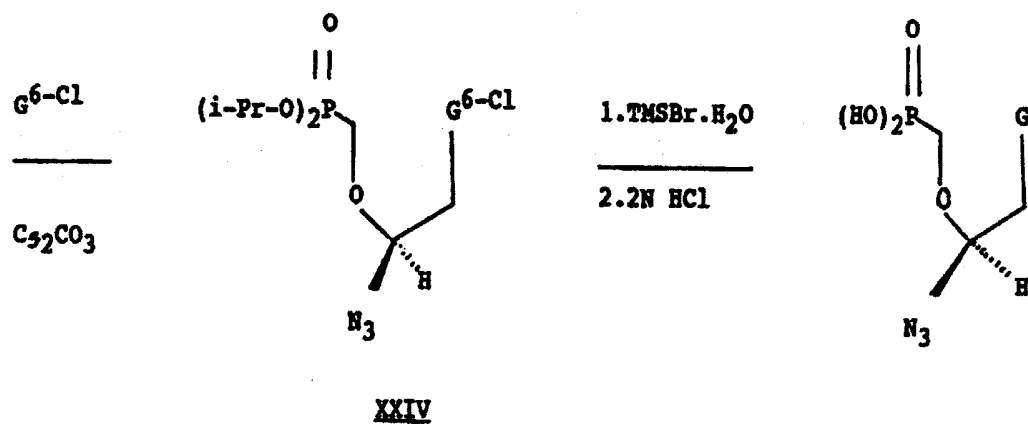


Schéma 3 - pokračování



(R)-3-O-benzyl-2-O-(diizopropylfosfonometoxyl)-1-O-(methan-sulfonyl) glycerin vzorce XX, který se připravuje postupem podle J. J. Bronsona a kol., J. Med. Chem., 32, 1457, 1989 se převede na (R)-3-azido-1-O-benzyl-2-O-(diizopropylfosfonometoxyl)-1,2-propandiol vzorce XXI azidem sodným v bezvodém organickém rozpouštědle, například N',N'-dimethylformamidu.

- 5 Sloučenina vzorce XXI se převede na R)-3-azido-2-O-(diizopropylfosfonometoxyl)-1,2-propandiol vzorce XXII bortrichloridem v inertním organickém rozpouštědle, jako je například methylenchlorid. Sloučenina vzorce XXII se potom převede na (R)-3-azido-2-O-(diizopropylfosfonometoxyl)-1-O-methansulfenyl-1,2-propandiol vzorce XXIII methansulfonylchloridem v přítomnosti organické báze, například triethylaminu v inertním organickém rozpouštědle, například methylenchloridu. Sloučenina vzorce XXIII se převede na (S)-2-amino-9-[3-azido-2-(diizopropylfosfonometoxy)propyl]-6-chloro-purin vzorce XXIV kondenzací s 2-amino-6-chlorpurinem v přítomnosti uhličitanu cesného a N',N'-dimethylformamidu. Kondenzace sloučeniny vzorce XXIII s cytosinem nebo 4-O-methylthyminem v přítomnosti uhličitanu cesného a N',N'-dimethylformamidu dává sloučeninu (S)-[3-azido-2-[(diizopropylfosfonometoxy)propyl]cytosin vzorce XXV nebo případně sloučeninu (S)-[3-azido-2-[(diizopropylfosfonometoxy)propyl]-4-O-methylthymin vzorce XXVI.

- Sloučeniny vzorců XXIV nebo XXV nebo XXVI se potom nechají reagovat s bromotrimethylsilanem, načež následuje hydrolyza kyselinou nebo vodou za vzniku sloučeniny (S)-9-(3-azido-2-(fosfonometoxy)propyl] guanin vzorce XXVII nebo (S)-9-(3-azido-2-fosfonometoxypropyl]cytosin vzorce XXVIII nebo (S)-9-(3-azido-2-fosfonometoxy)propyl] thymin vzorce XXIX.

- Chirální (R) izomer sloučenin vzorců XXVII nebo XXVIII se připraví z výchozího materiálu (S)-3-O-benzyl-2-O-(diizopropylfosfonometoxyl)-1-O-(methansulfonyl)glycerin podle stejného reakčního sledu, jak je znázorněn v reakčním schématu 3.
- 25 (S) a (R) izomer aminomethylových sloučenin vzorců XXVII nebo XXVIII nebo XXIX lze připravit redukcí odpovídajících (S) nebo (R) azidomethylových sloučenin vzorců XXVII nebo XXVIII nebo XXIX.

- Farmaceuticky akceptovatelné soli vzorce I se připravují způsoby o sobě známými v tomto oboru. Soli zahrnují soli amoniové a soli fyziologicky akceptovatelných kovů, jako jsou zejména lithium Li⁺, draslík K⁺, sodík Na⁺, vápník Ca⁺⁺, a hořčík Mg⁺⁺, a představují další předmět vynálezu. Kovové soli lze připravit reakcí hydroxidu kovu se sloučeninou vzorce I podle předloženého vynálezu. Příklady solí kovů, které lze tímto způsobem připravit, jsou soli, obsahující Li⁺, Na⁺ a K⁺. Méně rozpustné soli lze připravit vysrážením z roztoku více rozpustné soli přidáním vhodné sloučeniny kovu.

- 35 Kyselé soli lze připravit reakcí sloučeniny vzorce I s anorganickou nebo organickou kyselinou, například chlorovodíkovou HCl, bromovodíkovou HBr, kyselinou sírovou H₂SO₄, s organickými sulfonovými kyselinami a podobně.

Solváty a hydráty sloučenin vzorce I lze připravit vykrystalováním sloučeniny vzorce I z rozpouštědla, jako je voda, methanol, ethanol atd.

40 Zkratky sloučenin

Zkratky, používané na identifikaci sloučenin této třídy nukleotidů, jsou o sobě známe a jsou zde použity, jak uvedeno dále:

- PMEG: 9-[2-(fosfonometoxy)ethyl]-guanin (sloučenina z příkladu 7 evropské patentové přihlášky EP-269 947 a sloučenina 5 v tabulce 2 evropské patentové přihlášky EP-253 412),

(S)-2'-vinyl-PMEG: (S)-9-[2-(fosfonometoxy)-3-butenyl]guanin (sloučenina z příkladu 1),

- (R)-2'-vinyl-PMEG: (R)-9-[2-(fosfonomethoxy)-3-butenyl]guanin (sloučenina z příkladu 2),
 Racemický-2'-vinyl-PMEG: (RS)-9-[2-(fosfonomethoxy)-3-butenyl]guanin,
 (S)-2'-azidomethyl-PMEG: (S)-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin (sloučenina z příkladu 4),
 5 (R)-2'-azidomethyl-PMEG: (R)-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin (sloučenina z příkladu 5),
 Racemický-2'-azido-PMEG: (RS)-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin,
 (S)-2'-azidoethyl-PMEG: (S)-9-[4-azido-2-(fosfonomethoxy)butyl]guanin (sloučenina z příkladu 11),
 10 (S)-2'-azidoethyl-PMEC: (S)-9-[4-azido-2-fosfonomethoxy)propyl]cytosin (sloučenina z příkladu 12),
 (S)-2'-azidomethyl-PMEC: (S)-9-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]cytosin (sloučenina z příkladu 6),
 (S)-2'-vinyl-PMEC: (S)-9-[2-(fosfonomethoxy)-3-butenyl]cytosin (sloučenina z příkladu 3),
 15 (S)-2'-azidomethyl-PMET: (S)-9[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]thymín (sloučenina z příkladu 8).

Biologická aktivita

Pro znázornění antivirové účinnosti proti viru lidské imunologické nedostatečnosti (HIV) jsou sloučeniny předloženého vynálezu a známá sloučenina PMEG uvedeny v tab. I a na obrázcích 1 až 7 spolu s relativními cytotoxicitami.

Zkoušky s virem (HIV)

Sloučeniny byly hodnoceny na účinnost proti viru (HIV) (HIV RF kmen, získaný od Luc Montagniera, Institut Pasteur, Paris, France) v CEM-SS buňkách (P. L. Nara, a kol., v AIDS Res. Human. Retroviruses, 1987, 3, 283-302) za použití zkoušek XTT, popsaných O. S. Weislowem a kol. v J. Natl. Cancer Instit., 1989, 81, 577-586. CEM-SS buňky byly získány od Owena Weislowa z Národního ústavu pro rakovinu. Buňky byly vystaveny účinku HIV a kultivovány na mikrotitračních miskách v přítomnosti testovacích sloučenin při koncentracích 0,32, 1, 3,16, 10, 31,6, 100, 316 a 1000 m. Na 7. den po infekci byl antivirový účinek měřen za použití XTT zkoušek, u kterých se dosáhne optická hustota odečtu při každé koncentraci léčiva. Optická hustota odečtu je úměrná počtu životaschopných buněk. Křivky závislosti koncentrace účinné látky na relativní optické hustotě odečtu jsou uvedeny na obrázcích obr 1 až 7. Hodnoty relativní optické hustoty byly odvozeny dělením pozorované optické hustoty vzorků hodnotou získanou pro kontrolní pokus. Zkoušky, prováděné s infikovanými buňkami, ukazují antivirový účinek testovaných sloučenin, kde vzrůst počtu životaschopných buněk (vyšší OD odečet) ukazuje ochrannou antivirovou účinnost sloučenin. Zkoušky, prováděné s neinfikovanými buňkami, poskytují míru buněčné toxicity.

Antivirový účinek je také vyjádřený (viz tab.1) jako koncentrace sloučeniny, která se snižuje s počtem životaschopných buněk v infikovaných kulturách na 50 % neošetřených, neinfikovaných kontrolních (srovnávacích) kultur (ED₅₀). Buněčná toxicita je vyjádřena jako koncentrace sloučeniny, která snižuje počet životaschopných buněk na 50 % hodnoty neošetřených kontrol (TD₅₀). Index selektivity (SI) je poměr TD₅₀ k ED₅₀.

Anti HIV-účinnost a buněčná toxicita testovaných sloučenin jsou naneseny na obr. 1 až 7 jako funkce relativní optické hustoty proti stoupajícímu logaritmu koncentrací testovaných sloučenin (XTT zkoušky). Obrázky 1 až 7 názorně ukazují výsledky relativní anti-HIV účinnosti

testovaných sloučenin na infikovaných buňkách (–O–) a buněčné toxicity těchto testovaných sloučenin na neinfikované buňky (–_–).

Anti-HIV účinnost (R)-izomeru, (R)-2'-vinyl-PMEG podle předloženého vynálezu je ukázána na obr. 1 (CEM-SS buňky), a (S)-izomer (S)-2'-vinyl-PMEG je ukázána na obr. 2 (CEM-SS buňka). Anti-HIV účinnost srovnávací sloučeniny PMEG je ukázána na obr. 7 (CEM-SS buňky). Anti-HIV účinnost (R)-2'-azidomethyl PMEG a (S)-2'-azidomethyl PMEG je znázorněna na obr. 3 a 4. Anti-HIV aktivita racemického (RS)-2'-vinyl PMEG a (RS)-2'-azidomethyl PMEG je znázorněna na obr. 5 a 6. Obr. 1 ukazuje, že v koncentračním rozmezí od 5 do 100 μM , (R)-2'-vinyl-PMEG poskytuje kompletní ochranu před viry HIV v CEM-SS buňkách bez pozorované buněčné toxicity při koncentracích menších než 100 μM . Obr. 2 ukazuje, že (S)-2'-vinyl-PMEG poskytuje úplnou ochranu před HIV v buňkách CEM-SS při 100 μM bez pozorované buněčné toxicity při koncentracích menších než 100 μM . Při porovnání, jak je ukázáno na obr. 7, PMEG vykazuje nějaký anti-HIV účinek v buňkách CEM-SS, ale buněčná toxicita PMEG brání ochraně před virem.

15 Index selektivity testovaných sloučenin

Další hodnocení účinnosti sloučeniny pro použití proti HIV v prevenci a/nebo léčení AIDS je index selektivity (in vitro "terapeutický index") jako poměr toxické dávky 50 k účinné dávce 50. Index selektivity (SI) pro (RS), (R)- a (S)-2'-vinyl-PMEG a (RS), (R), (S)-2'-azidomethyl PMEG podle předloženého vynálezu a pro srovnávací látku PMEG jsou ukázány v tab. 1. Údaje v tab. 1 jasně ukazují, že (R)-2'-vinyl PMEG a (R)-2'-azidomethyl PMEG jsou v porovnání s ostatními sloučeninami obě silná a selektivní činidla proti viru HIV.

Tabulka 1

Účinnost proti viru HIV v CEM-buňkách, hodnocená pomocí XTT zkoušek 6 dní po infekci.

Sloučenina	ED ₅₀ (μM) ^a	TD ₅₀ (μM) ^b	SI ^c
PMEG	0,2	15	30
(R)-2'-vinyl-PMEG	12,6	>1000	>79
(S)-2'-vinyl-PMEG	48,5	>1000	>21
(R,S)-2'-vinyl-PMEG ^d	19,6	>1000	>51
(R)-2'-azidomethyl PMEG	5,0	>1000	>200
(S)-2'-azidomethyl PMEG	51,0	>1000	>20
(R,S)-2'-azidomethyl PMEG ^d	8,0	>1000	>125
(S)-2'-azidoethyl-PMEG ^e	>500	>500	NA ^f
(S)-2'-azidoethyl-PMEC ^e	>500	>500	NA ^f
(S)-2'-azidomethyl-PMEC ^e	>500	>500	NA ^f
(S)-2'-vinyl-PMEC ^e	>500	>500	NA ^f
(S)-2'-azidomethyl-PMET ^g	>500	>500	NA ^f

a) Účinná dávka 50: v infikovaných buňkách koncentrace sloučeniny, která vede k zvýšení počtu životaschopných buněk na 50 % neinfikované srovnávací kontroly.

- b) Toxická dávka 50: v neinfikovaných buňkách koncentrace sloučeniny, která vede k 50% poklesu životaschopných buněk.
- c) Index selektivity: poměr TD_{50} k ED_{50} .
- d) Vzorek byl připraven smícháním (R) a (S) izomeru v poměru 1 ku 1.
- 5 e) Sloučeniny byly hodnoceny použitím HIV viru kmene LAV BRU, získaného od Luc Montagniera, Pasteurův ústav, Paříž, Francie.
- f) NA: není dostupné.
- g) Sloučenina byla hodnocena v Southern Research Institute za použití viru HIV kmene HTLV-IIB a MT-2 buňky (S. Harada a kol., Science, 1985, 229, 563).
- 10 Cytotoxicita PMEG, (R)-2'-vinyl PMEG, (S)-2'-vinyl PMEG a (R)-2'-azidomethyl PMEG byla stanovena zkouškou inhibice růstu buněk v CEM-SS buňkách. Hodnoty CC_{50} těchto čtyř sloučenin jsou uvedeny v tab. 2.

Tabulka 2

15 Zkouška inhibice růstu buněk v CEM-SS buňkách

	Sloučenina	CC_{50} (μM)*
	PMEG	2,4
20	(R)-2'-vinyl PMEG	1600
	(S)-2'-vinyl PMEG	1600
	(R)-2'-azidomethyl PMEG	1400

- * CC_{50} je koncentrace léčiva, která způsobuje 50% pokles v počtu buněk v porovnání s kontrolou (se srovnávací sloučeninou) v třetí den (72 hodin).

Shora uvedené hodnoty ukazují, že (R)-2'-vinyl PMEG, (S)-2'-vinyl PMEG a (R)-2'-azidomethyl PMEG jsou relativně netoxické v buňkách CEM-SS v porovnání s PMEG.

Protokol pro shora uvedenou zkoušku je uveden dále:

1. Volba správného rozsahu koncentrací farmaceuticky účinné látky (substance), která se vyhodnocuje.
2. Příprava zásobních roztoků farmaceuticky účinných látek (substancí) v RPMI 1640 prostředí v 10násobku nejvyšší koncentrace potřebné při kultivaci buněk.
3. Příprava série zředění 10násobných zásobních roztoků v RPMI 1640 podle potřeby, obvykle se používají čtyři různé koncentrace pro každou farmaceuticky účinnou látku (substanci).
- 35 4. Příprava suspenze CEM buněk v koncentraci 5×10^4 buněk/ml.
5. Do každých 18 ml suspenze CEM buněk se přidají 2 ml roztoku dobře rozpuštěné farmaceuticky účinné látky (substance) (ze stupně 2 a 3) a zvlášť dobře se promíchají.
6. Do srovnávacího roztoku buněk se místo roztoků farmaceuticky účinných látek (substancí) přidají 2 ml RPMI 1640.
- 40 7. Dva ml roztoků z kroků 5 a 6 se rozdělí do misek 24místné očkovací Petriho misky, jak je ukázáno na následujícím grafu.

Koncentrace
farmaceuticky
účinné látky *

	24h	48h	72h	96h
500 $\mu\text{g/ml}$				
100 $\mu\text{g/ml}$				
20 $\mu\text{g/ml}$				
4 $\mu\text{g/ml}$				

5

* koncentrace, používané pro N_3 - a vinyl-analogy PMEG.

8. V nulovém čase se ve 4 miskách srovnávacího roztoku buněk (není přidána žádná farmaceuticky účinná látka - substance) spočítají buňky.
- 10 9. Potom se za 24, 48, 72 a 96 hodin po přidání farmaceuticky účinné látky spočítají buňky oboje, jak ošetřené, tak srovnávací (kontrolní).
10. Všechny pokusy se provádějí dvojmo, tedy pro každou farmaceuticky účinnou látku se použijí dvě 24 místné očkovací misky.
11. Počty buněk, získané z ošetřených kultur, se srovnávají se srovnávacími (kontrolními) kulturami.
- 15 12. Koncentrace farmaceuticky účinné látky (substance), která způsobuje 50% pokles počtu buněk v porovnání se srovnávacím (kontrolním) vzorkem na třetí den (72 hodin), je označována jako CC_{50} hodnota farmaceuticky účinné látky (drug).

20 Vynález zahrnuje sloučeniny vzorce I a jejich farmaceuticky přijatelné soli a jejich solváty, a s výhodou sloučeniny vzorce I, kterou je (R)-izomer a jeho farmaceuticky přijatelné soli a jejich solváty pro použití v terapii nebo profylaxi virových infekcí, zejména viru HIV v lidských subjektech.

25 Sloučeniny podle vynálezu, včetně farmaceuticky přijatelných solí a jejich solvátů, mají požadovanou antivirovou aktivitu. Vykazují účinnost proti retrovirům. Zejména sloučenina vzorce I vykazuje anti-HIV účinnost bez pozorovatelné cytotoxicity.

30 Pro použití proti virovým infekcím se sloučeniny podle vynálezu mohou míchat do farmaceutických přípravků každým vhodným způsobem, a proto do rozsahu vynálezu spadají také farmaceutické kompozice obsahující sloučeninu podle vzorce I nebo farmaceuticky přijatelné soli nebo jejich solváty, upravené pro použití v humánní medicíně. Takové kompozice mohou být připraveny k použití obvyklým způsobem ve směsi s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosiči nebo inertními pomocnými látkami. V literatuře Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Edition E. W. Martin (Mark Publishing Company, 1975), jsou popsány typické nosiče a způsoby přípravy.

35 Pro antivirové účely lze sloučeniny podávat topicky nebo systemicky. Systemickým podáváním se myslí podávání orální, rektální a parenterální (např. intramuskulárně, intravenózně, podkožní a nasální) cestou. Všeobecně se zjišťuje, že když se látka podle vynálezu podává orálně (per os), je potřebné větší množství látky k dosažení stejného účinku jako při podávání parenterálním.

V souladu s klinickou praxí je výhodné podávat předmětné sloučeniny v takové koncentraci, aby koncentrační hladina poskytovala účinný antivirový účinek, aniž by způsobila škodlivé nebo vedlejší účinky.

5 Terapeuticky a profylakticky jsou předmětné sloučeniny dány jako farmaceutické kompozice obsahující účinné antivirové množství sloučeniny vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli a farmaceuticky přijatelného nosiče, jak výše uvedeno. Farmaceutické kompozice, účinné pro léčbu, budou obsahovat největší nebo nejmenší množství, např. od 95 % do 0,5 %, nejméně jedné sloučeniny podle předloženého vynálezu, nosič, zahrnující jednu nebo více tuhých nebo polotuhých nebo tekutých rozpouštědel, plnidel a přísad do směsi, které nejsou toxické, jsou 10 inertní a farmaceuticky přijatelné. Takovéto farmaceutické kompozice jsou s výhodou ve formě dávkovacích jednotek, například fyzikálních jednotek, obsahujících předem určené množství látky, odpovídající zlomku nebo násobku dávky, která podle kalkulace vytvoří požadovanou terapeutickou odezvu. Jiná terapeutická činidla mohou být také přítomna. S výhodou se používají farmaceutické kompozice, obsahující od asi 0,1 až do 500 mg účinné přísady na jednotkovou 15 dávku a jsou běžně připraveny jako tablety, pastilky, kapsle, prášky, vodné a olejové suspenze, sirupy, elixíry a vodné roztoky. Preferované orální kompozice jsou ve formě tablet nebo kapslí a mohou obsahovat běžné přísady jako pojiva (např. sirup, akácie, želatina, sorbitol, tragant nebo polyvinylpyrrolidon), plniva (např. laktóza, cukr, kukuřičný škrob, fosfát vápenatý), mazadla (např. stearan hořečnatý, mastek, polyethylenglykol nebo kysličník křemičitý), dezintegrátory 20 (např. škrob) a smáčedla (např. laurylsulfát sodný). Roztoky a suspenze sloučeniny vzorce I s běžnými farmaceutickými látkami se používají pro parenterální kompozice, jako vodný roztok pro intravenózní injekce nebo olejová suspenze pro intramuskulární injekce. Takové kompozice mající požadovanou čírost, stabilitu a adaptabilitu pro parenterální použití, se získají rozpouštěním od 0,1 % do 10 % hmotn. účinné látky ve vodě nebo v pomocných látkách, 25 sestávajících z alifatického polyhydroxyalkoholu, jako je glycerin, propylenglykol a polyethylenglykol nebo jejich směsi. Polyethylenglykoly sestávají ze směsi netěkavých, běžně kapalných polyethylenglykolů, které jsou rozpustné jak ve vodě, tak v organických kapalinách, a mají molekulovou hmotnost v rozmezí od 200 do 1500.

30 Z hlediska biologické účinnosti, kterou mají sloučeniny podle předloženého vynálezu, je zřejmé, že tyto sloučeniny mají antivirové vlastnosti zejména vhodné pro jejich použití v boji proti AIDS (acquired immunodeficiency syndrome) (syndrom získané imunologické nedostatečnosti).

Dalším předmětem předloženého vynálezu je způsob léčení infekcí, způsobených virem HIV u savců, včetně lidí, kteří potřebují léčení. Způsob zahrnuje systemické nebo topické podávání účinné dávky sloučeniny vzorce I nebo farmaceuticky přijatelné soli nebo jejich solvátů 35 takovýmto savcům. Dalším předmětem předloženého vynálezu je léčení lidských buněk, infikovaných infekcemi HIV, které zahrnuje systemické a topické podávání účinné dávky sloučeniny vzorce I nebo farmaceuticky přijatelné soli nebo jejich solvátů takovýmto buňkám. Na základě zkoušek je očekávaná účinná dávka v rozmezí od 0,001 do 30 mg/kg tělesné hmotnosti. Počítá se s tím, že pro klinické antivirové aplikace budou sloučeniny předmětného 40 vynálezu podávány a užívány stejným způsobem jako referenční léky AZT, DDI a DYT. Avšak pro klinické aplikace musí být v každém případě dávkování a dávkovací režim opatrně upraven podle profesionálního soudu lékaře s ohledem na věk, váhu a kondici pacienta, cestu podávání a povahu a vážnost nemoci. Obecně denní orální dávka představuje asi 0,1 až 750 mg, s výhodou 10 až 500 mg, sloučeniny vzorce I, podávaná 1 až 3krát denně. V některých případech může být 45 dosažen dostatečný terapeutický účinek nižšími dávkami, v některých může být požadován vyšší.

Počítá se s tím, že sloučenina vzorce I může být podána v týdenních intervalech jako například jednou nebo dvakrát týdně; dávka, používaná při tomto režimu, může být upravena s ohledem na výše uvedené faktory a tak, aby se udržela hladina farmaceuticky účinné látky na účinné anti-HIV úrovni.

Popis specifických provedení vynálezu

V následujících příkladech jsou všechny teploty uvedené ve stupních Celsia. Teploty tání byly zaznamenány na elektrotermálním digitálním kapilárním zařízení pro teploty tání a teploty varů byly měřeny při specifických tlacích (mm Hg) a obě teploty jsou nekorigovány. Protonové magnetické rezonance (^1H NMR) spektra byla zaznamenána spektrometrem Bruker AM 300 nebo Varian Gemini 300. Všechna spektra byla stanovena v CDCl_3 , DMSO-d_6 nebo D_2O , pokud není uvedeno jinak, a chemické posuny jsou uváděny v jednotkách směrem dolů od mezinárodního standardu tetramethylsilanu (TMS), a konstanty spinové interakce jsou uváděny v hertzech (Hz). Štěpné modely jsou označeny následovně: s, singlet; d, dublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet; br, široké spektrum (pík); a dd, dublet z dubletu. Spektra nukleární magnetické rezonance uhlíku-13 (^{13}C NMR) byla zaznamenána na spektrometrech Bruker AM 300 nebo Varian Gemini 300 a byla širokopásmová proton decoupled. Všechna spektra byla stanovena v CDCl_3 , DMSO-d_6 , nebo D_2O , pokud není uvedeno jinak, s mezinárodním deuteriovým blokem a chemické posuny jsou uvedeny v jednotkách směrem dolů od tetramethylsilanu, mezinárodního standardu.

Infračervená (IR) spektra byla stanovena na Perkin-Elmerově 1800 FT-IR spektrometru od 4000 cm^{-1} do 400 cm^{-1} , kalibrovaném na absorpci 1600 cm^{-1} polystyrenu a jsou uvedena v cm^{-1} . Optické rotace $[\alpha]^{20}$ byly stanoveny na polarimetru Perkin-Elmer 41 v uvedených rozpouštědlech. Hmotová spektra byla zaznamenána na zařízeních Kratos MS-50 nebo Finnegan 4500 za použití metody rychlého bombardování atomu ((fast atom bombardment (FAB)) nebo technikou přímé chemické ionizace (DCI). Hmotová data jsou vyjádřena ve formě protonizovaného výchozího iontu (MH^+).

Kolonová chromatografie, uvedená jako kolonová (flash) chromatografie, byla prováděna ve skleněné koloně za použití jemného silikagelu (32-64 m na silikagel-H) a tlaku něco nad atmosférickým tlakem s uvedenými rozpouštědly.

Všechny roztoky byly odpařovány za snížených tlaků. Celite je zapsaná ochranná známka firmy Johns-Manville Products Corporation pro infuzoriovou hlinku (zemín). Zde použitý termín "hexany" je směs izomerních C_6 uhlovodíků, jak jsou specifikovány Americkou chemickou společností, a termín "inertní" atmosféra je argonová nebo dusíková atmosféra, pokud není uvedeno jinak.

Příklady

Příklad 1

Syntéza (S)-9-[(2-vinyl-2-fosfonomethoxy)ethyl]guaninu

((S)-2'-vinyl PMEG)

((S)-9-[2-fosfonomethoxy)-3-butenyl]guanin)

(S)-2,2-diizopropyl-4-(2-hydroxyethyl) dioxolan

V trojhrdlé baňce, opatřené mechanickým míchadlem, Dean-Starkovým odlučovačem a chladičem, se do 300 ml benzenu zamíchají (S)-1,2,4-butantriol (48 g, 0,45 mol), 2,4-dimethyl-3-pentanon (180 ml, 1,27 mol) a p-toluensulfonová kyselina (0,35 g). Poté, co byla směs 20 h mírně vařena pod zpětným chladičem (refluxována), byla ochlazená na teplotu místnosti a bylo přidáno 10 ml triethylaminu. Rozpouštědlo bylo odpařeno. Zbytek byl čištěn (flash) chromatografií na silikagelu (aceton : methylenchlorid = 1 : 10 až 1 : 2) a získáno 77,2 g (84% výtěžek) produktu jako olej.

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 1,6^\circ$ (C 15,6, CH_2Cl_2).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,33-4,23 (m, 1H, H-4), 4,14 (t, $J = 7,0$ Hz, H-5), 3,85-3,72 (m, 2H, H-2'), 3,49 (t, $J = 8,3$ Hz, 1H, H-5), 2,10-1,97 (m, 2H, CHCH_3), 1,90-1,65 (m, 2H, H-1'), 0,90-0,86 (m, 12H, CH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 116,7 (C-O-C), 77,2 (C-4), 72,2 (C-5), 60,9 (C-2'), 35,0 (C-1'),
5 34,3, 33,5 (CHCH_3), 14,3, 17,2, 17,0 (CHCH_3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 203$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{O}_3$: C, 65,31; H, 10,96;
nalezeno: C, 65,25; H, 11,11.

(*S*)-4-*O*-benzyl-1,2,4-butantriol

10 (*S*)-2,2-diizopropyl-4-(2-hydroxyethyl) dioxolan (76,2 g, 0,377 mol), benzylbromid (129 g, 0,753 mol) a jodid tetrabutylammonia (7 g, 19 mmol) byly v 3-hrdlé baňce, opatřené míchadlem a chladičem, míchány s koncentrovaným roztokem hydroxidu sodného (40 g v 90 ml vody, 2,26 mol). Po míchání při 110 °C po dobu 18 hodin byla směs ochlazena na teplotu místnosti a organická vrstva oddělena. Vodná vrstva byla extrahována methylenchloridem (100 ml x 2).
15 Spojené methylenchloridové extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek se nechal reagovat s 300 ml 1,5 M kyseliny sírové. Směs byla 8 hodin míchána při 100 °C, poté ochlazena na teplotu místnosti a přidán hexan (300 ml). Vodná vrstva byla promyta dvakrát hexanem (200 ml x 2) a pak pH upraveno koncentrovaným hydroxidem sodným na 8 až 9. Roztok byl extrahován ethylacetátem (200 ml x 3). Spojené ethylacetátové
20 extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek byl čištěn frakční destilací ve vakuu (0,1 mm Hg, b.v. 150 - 170 °C), a získáno 68,3 g (92% výtěžek) žádané sloučeniny ve formě oleje.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,48-7,24 (m, 5 H, Ph), 4,51 (s, 2H, CH_2Ph), 3,96-3,84 (d, 1H, H-2), 3,74-3,53, 3,53-3,42 (m, 4 H, H-1 a H-4), 2,24 (bs, 1H, OH), 3,08 (bs, 1H, OH), 1,88-1,58
25 (m, 2H, H-3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 137,9, 128,6, 128,0, 127,9 (Ph), 73,3 (CH_2Ph), 71,2 (C-2), 68,1 (C-4), 66,5 (C-1), 32,6 (C-3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 196$ (MH^+).

(*S*)-4-*O*-benzyl-1-*O*-[*p*-methoxyfenyl]difenylmethyl]-1,2,4-butantriol

30 (*S*)-4-*O*-benzyl-1,2,4-butantriol (68,3 g, 348 mmol), triethylamin (70,4 g, 969 mmol) a dimethylaminopyridin (3,42 g, 28 mmol) byly míchány s methylenchloridem (300 ml) v dusíkové atmosféře. K roztoku byl při 0 °C přidán *p*-anisylchlorodiphenylmethan (129,1 g, 418 mmol). Reakční směs byla 30 minut míchána při 0 °C a potom 5 hodin při teplotě místnosti. K směsi byl přidán nasycený bikarbonát sodný a výsledná směs byla 1 hodinu míchána při
35 teplotě místnosti. Vodná vrstva byla extrahována methylenchloridem (150 ml x 2). Spojené methylenchloridové extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek byl čištěn kolonovou chromatografií na silikagelu (ethylacetát : hexan = 1 : 5 až 1 : 1), přičemž bylo získáno 155,5 g (95% výtěžek) shora uvedené sloučeniny ve formě hustého oleje.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 3,0^\circ$ (c 3,29, MeOH).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,43-7,40, 7,32-7,15, 6,82-6,79 (m, 14 H, Ar), 4,44 (s, 2H, CH_2Ph), 4,03-3,93 (m, 1H, H-2), 3,76 (s, 3 H, OCH_3), 3,64-3,50 (m, 2H, H-4), 3,12-3,05 (m, 2H, H-1), 2,80 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, OH), 1,80-1,70 (m, 2H, H-3).

^{13}C NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 158,7, 144,6, 138,2, 135,7, 130,5, 128,5, 127,9, 127,7, 127,0, 113,1, 88,2, 73,1 (CH_2Ph), 67,9, 67,2 (C-4 a C-1), 65,0 (OCH_3), 33,2 (C-3).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_4$: C, 79,45; H, 6,88;

nalezeno: C, 79,21; H, 7,05.

(*S*)-4-*O*-benzyl-*O*-2-[(diizopropylfosfonomethyl)]-1,2,4-butantriol

K roztoku (*S*)-4-*O*-benzyl-1-*O*-[(*p*-methoxyphenyl)difenyl methyl]-1,2,4-butantriolu (153,5 g, 327,6 mmol) v suchém tetrahydrofuranu (700 ml) byl po dávkách v atmosféře dusíku přidán hydrid sodný (80 % v minerálním oleji, 11,8 g, 393 mmol). Po 5ti hodinovém zahřívání pod zpětným chladičem byla směs ochlazena v ledové koupeli. Pak byl ke směsi pomalu přidáván tosyloxymethyldiizopropylfosfonát (137,7 g, 393,1 mmol) v 300 ml suchého tetrahydrofuranu. Směs byla 30 min míchána při 0 °C a 14 hodin při teplotě místnosti. Výsledná řídká kaše byla filtrována přes podložku z infuzoriové hlinky (celite^R). Filtrát byl odpařen a k odparku byly přidány methylenchlorid (400 ml) a voda (200 ml). Vodná vrstva byla extrahována methylenchloridem (200 ml x 2). Spojené extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým. Roztok byl odpařen a byly přidány methanol (400 ml) a kyselina toluensulfonová (10 g). Směs byla míchána 8 hodin při asi 60 °C. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek byl čištěn (flash) chromatografií na silikagelu (ethylacetát : hexan = 1 : 3 až 1 : 0, potom ethylacetát : ethanol = 10 : 1) a bylo získáno 44,1 g (37% výtěžek) požadované (v názvu uvedené) sloučeniny ve formě oleje.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,38-7,24 (m, 5 H, Ar), 4,80-4,63 (m, 2H, POCH), 4,49 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H, CH_2Ph), 4,44 (d, $J = 12,0$ Hz, 1H, CH_2Ph), 3,87 (dd, $J = 7,2, 14,1$ Hz, 1H, CH_2P), 3,72 a 3,80-3,60 (dd over m, $J = 9,0, 14,1$ Hz, 2H, CH_2P a H-2), 3,60-3,47 (m, 4 H, H-1 a H-4), 1,82-1,70 (m, 2H, H-3), 1,36-1,25 (m, 12H, POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 138,8, 129,0, 128,3 (Ph), 82,1 (d, ^3Jc , $p = 8,7$ Hz, C-2), 73,4 (CH_2Ph), 72,0 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 71,6 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 66,7 (C-4), 65,4 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 64,9 (C-1), 31,8 (C-3), 24,2 (m, POCHCH_3).

(*S*)-4-*O*-benzyl-2-*O*-(diizopropylfosfonomethyl)-1-*O*-methoxymethyl-1,2,4-butantriol

K roztoku (*S*)-4-*O*-benzyl-*O*-2-[(diizopropyl(fosfonomethyl)]-1,2,4-butantriolu (20 g, 53,42 mmol) a diizopropylethylaminu (13,8 g, 106,8 mmol) v 100 ml methylenchloridu bylo při 0 °C a v dusíkové atmosféře přidán chlormethylether (6,45 g 80,13 mmol). Výsledný roztok byl míchán 14 hodin při teplotě místnosti. Pak byly přidány methylenchlorid (100 ml) a 1 N kyselina solná (100 ml). Vodná vrstva byla extrahována methylenchloridem (75 ml x 2). Spojené extrakty byly vyprány nasyceným roztokem bikarbonátu sodného (100 ml) a solanky (100 ml) a sušeny nad síranem hořečnatým. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl čištěn kolonovou chromatografií na silikagelu (ethylacetát : petrolether = 1 : 1 až 1 : 0), čímž bylo získáno 21,9 g (výtěžek 98 %) olejovitého produktu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,33-7,20 (m, 5 H, ArH), 4,76-4,62 (m, 2H, POCH), 4,58 (s, 2H, OCH_2Ph), 4,47 (s, 2H, OCH_2O), 3,94 (dd, $J = 8,7, 13,6$ Hz, 1H, CH_2P), 3,74 a 3,75-3,69 (dd

over m, $J = 9,5, 13,6$ Hz, 2H, CH_2P a H-2), 3,65-3,50 (m, 4 H, H-1 a H-4), 1,80 (q, $J = 6,2$ Hz, 2H, H-3), 1,32-1,26 (m, 12H, POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 138,4, 128,3, 127,6, 96,4 (OCH_2O), 77,9 (d, ^3Jc , $p = 13$ Hz, C-2), 72,7 (CH_2Ph), 70,6 (d, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 69,6 (C-1), 66,2 (C-4), 64,7 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 54,9 (OCH_3), 54,9 (OCH_3), 31,5 (C-3), 23,6 (t, ^3Jc , $p = 6$ Hz, POCHCH_3).

MS (DCI, izobuten): $m/e = 419$ (MH^+).

(*S*)-2-*O*-(diizopropylfosfonomethyl)-1-*O*-methoxymethyl-1,2,4- butantriol

Hydroxid palladičitý na uhlíku (20%, 10 g) byl přidán do roztoku 4-*O*-benzyl-2-*O*-(diizopropylfosfonomethyl)-1-*O*-methoxy methyl-1,2,4-butantriolu (21,9 g, 52,33 mmol) ve směsi ethanolu a cyklohexanu (každý po 200 ml). Výsledná směs byla 6 hodin zahřívána pod zpětným chladičem. Směs byla ochlazená na teplotu místnosti a filtrována. Filtrát byl odpařen a odparek byl čištěn kolonovou (flash) chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : methanolu = 20 : 1 až 10 : 1). Přitom bylo získáno 16,79 g (98% výtěžek) požadované sloučeniny ve formě oleje.

$[\alpha]_D^{20} + 3,4^\circ$ (c 2,33, MeOH).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,80-4,60 (m, 2H, 2 X POCH), 4,60 (s, 2H, OCH_2O), 4,03-3,80 a 3,67-3,48 (m, 7H, H-1, H-2, H-4, a CH_2P), 1,80-1,50 (m, 2H, H-3), 1,34-1,29 (m, 12H, POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 96,5 (OCH_2O), 77,7 (d, ^3Jc , $p = 14$ Hz, C-2), 71,1 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 70,2 (C-1), 64,7 (d, ^1Jc , $p = 167$ Hz, CH_2P), 57,9 (C-4), 55,0 (OCH_3), 34,3 (c-3), 23,6 (t, ^3Jc , $p = 5$ Hz, POCHCH_3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 329$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{13}\text{H}_{29}\text{O}_7\text{P}$: C, 47,55; H, 8,90;

nalezeno: C, 47,50; H, 8,93.

(*S*)-2-*O*-(diizopropylfosfonomethyl)-1-*O*-methoxymethyl-3-buten-1,2-diol

K roztoku (*S*)-2-*O*-(diizopropylfosfonomethyl)-1-methoxy methyl-1,2,4-butantriolu (9,0 g, 27,41 mmol) a 2-nitrofenyl-selenokyanidu (9,33 g, 41,12 mmol) v bezvodém tetrahydrofuranu (100 ml) byl pomalu při 0 °C pod dusíkem přidáván tributylfosfin (10,3 g, 41,12 mmol). Směs byla míchána 30 minut při 0 °C, potom 1 den při teplotě místnosti. Potom byla přidána voda (100 ml) a vodná vrstva oddělena a extrahována ethylacetátem (150 ml x 2). Spojené organické extrakty byly sušeny na síranem hořečnatým. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek byl čištěn kolonovou (flash) chromatografií na silikagelu (ethylacetát : hexan = 1 : 1 až 1 : 0 a potom ethylacetát : aceton 10 : 1). Byl získán (*S*)-2-*O*-(diizopropylfosfonomethyl)-1-*O*-methoxy-methyl-4-(2-nitrophenyl) selenyl-1,2,4-butantriol ve formě hustého žlutého oleje.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,27 (dd, $J = 1,5, 8,3$ Hz, 1H, ArH), 7,60-7,49, 7,32-7,26, (m, 3H, ArH), 4,80-4,67 (m, 2H, POCH), 4,59 (s, 2H, OCH_2O), 3,99 (dd, $J = 8,6, 13,7$ Hz, 1H, CH_2P), 3,79 (dd, $J = 9,3, 13,7$ Hz, 1H, CH_2P), 3,79 (dd, $J = 9,3, 13,7$ Hz, 1H, CH_2P), 3,76-3,68 (m, 1H, H-2), 3,60 (dd, 1H, $J = 5,1, 10,5$ Hz, 1H, H-1), 3,56 (dd, $J = 4,8, 10,5$ Hz, 1H, H-1), 3,33

(s, 3 H, OCH_3), 2,90-3,01 a 3,17-3,06 (m, 2H, H-4), 2,06-1,98 (m, 2H, H-3), 1,26-1,34 (m, 12H, 4 X POCHCH_3).

Získaný (S)-2-O-diizopropylfosfonomethyl-1-O-methoxymethyl-4-(2-nitrofenyl)-selenyl-1,2,4-butantriol byl rozpuštěn v tetrahydrofuranu (15 ml) a zreagován peroxidem vodíku (29%, 20 ml) při 0 °C. Roztok byl míchán 1 hod. při 0 °C a potom 16 hodin při teplotě místnosti. Pak byla přidána voda (40 ml) a ethylacetát (100 ml). Vodná vrstva byla extrahována ethylacetátem (100 ml x 2). Spojené extrakty byly promyty nasyceným bikarbonátem sodným (50 ml) a sušeny nad síranem hořečnatým. Roztok byl odpařen a odparek čištěn kolonovou chromatografií na silikagelu (ethylacetát : hexan = 1 : 1 až 1 : 0). Bylo získáno 6,59 g (výtěžek 77 %) požadované sloučeniny ve formě oleje.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 5,75-5,63 (m, 1H, H-3), 5,38-5,28 (m, 2H, H-2), 4,78-4,62 (m, 2H, 2 X POCH), 4,61 (s, 2H, OCH_2O), 4,05-3,96 (m, 1H, H-2), 3,79 (dd, $J = 9,5, 13,5$ Hz, 1H, CH_2P), 3,63 (dd, $J = 8,4, 13,5$ Hz, 1H, CH_2P), 3,62-3,50 (m, 2H, H-1), 3,57 (s, 3 H, OCH_3), 1,35-1,28 (m, 12H, 4 X POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 134,5 (C-3), 119,8 (C-4), 96,5 (OCH_2O), 82,0 (d, ^3Jc , $p = 12$ Hz, C-2), 70,8 (t, $J = 5$ Hz, POCH), 69,7 (c-1), 63,0 (d, ^1Jc , $p = 169$ Hz, CH_2P), 55,0 (OCH_3), 23,7 (t, $J = 5$ Hz, POCHCH_3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 311$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{O}_5\text{P}$: C, 49,62; H, 8,71;

nalezeno: C, 49,26; H, 8,54.

(S)-2-O-(diizopropylfosfonomethyl)-3-buten-1,2-diol

(S)-2-O-(diizopropylfosfonomethyl)-1-O-methoxymethyl-3-buten-1,2-diol (3,45 g, 11,12 mmol) a kyselina kamforsulfonová (0,2 g, 0,8 mmol) byly smíchány v 45 ml methanolu. Získaný roztok byl zahříván 5 hodin pod zpětným chladičem. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl čištěn chromatograficky (ethylacetát : petrolether = 1 : 1 až 1 : 0, potom ethylacetát : methanol 20 : 1). Bylo získáno 2,73 g (92 %) žádané sloučeniny ve formě oleje.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 5,69-5,57 (m, 1H, H-3), 5,32-5,23 (m, 2H, H-4), 4,78-4,62 (m, 2H, POCH), 3,82 (dd, $J = 8,8, 13,5$ Hz, 1H, CH_2P), 3,56 (dd, $J = 8,3, 13,5$ Hz, 1H, CH_2P), 3,92-3,83 (m, 1H, H-2), 3,54 (d, $J = 4,8$ Hz, 2H, H-1), 3,13 (b s, 1H, OH), 1,34-1,26 (m, 12H, 4 X POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 134,1 (C-3), 119,0 (C-4), 84,0 (d, ^3Jc , $p = 12$ Hz, C-2), 70,5 (d, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 70,7 (d, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 64,3 (C-1), 62,8 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 23,3 (t, ^3Jc , $p = 4$ Hz, POCHCH_3).

MS (izobutan-DCI): $m/e = 267$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{O}_5\text{P}$: C, 49,62; H, 8,71;

nalezeno: C, 49,26; H, 8,54.

(S)-methansulfonyl-2-(diizopropylfosfonomethyl)-3-buten

(S)-2-*O*-(diizopropylfosfonomethyl)-3-buten-1,2-diol (2,62 g, 9,84 mmol) byl míchán s triethylaminem (1,99 g, 19,68 mmol) a 4-dimethylaminopyridinem (10 mg) v 30 ml methylenchloridu. K roztoku byl při 0 °C pomalu přidáván mesylchlorid (1,35 g, 11,81 mmol). Směs byla
 5 míchána 30 minut při 0 °C, potom dalších 30 minut při teplotě místnosti. Byly přidány nasycený bikarbonát sodný (50 ml) a methylenchlorid (50 ml). Vodná vrstva byla extrahována methylenchloridem (75 ml x 2). Spojené methylenchloridové extrakty byly sušeny na síranem hořečnatým. Roztok byl odpařen, odparek čištěn kolonovou chromatografií (ethylacetát :
 10 petrolether = 1 : 1 až 1 : 0, potom ethylacetát : aceton = 5 : 0 až 5 : 1). Získáno bylo 3,27 g (výtěžek 97 %) v názvu uvedené sloučeniny ve formě oleje.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 5,69-5,58 (m, 1H, H-3), 5,45-5,39 (m, 2H, H-4), 4,77-4,62 (m, 2H, POCH), 4,20 (d, J = 5,7 Hz, 2H, H-1), 4,17-4,05 (m, 1H, H-2), 3,77 (dd, J = 9,7, 13,6 Hz, 1H, CH₂P), 3,57 (dd, J = 8,8, 13,6 Hz, 1H, CH₂P), 3,05 (s, 3H, SCH₃), 1,34-1,23 (m, 12H, 4 X POCHCH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 131,8 (C-3), 121,7 (C-4), 80,3 (d, ³J_C, p = 13 Hz, C-2), 70,8 a
 15 70,7 (t over s, ²J_C, p = 6 Hz, POCH a C-1), 62,8 (d, ¹J_C, p = 171 Hz, CH₂P), 37,33 (SCH₃), 23,5 (d, ³J_C, p = 5 Hz, POCHCH₃).

MS (FAB): m/e = 344 (MH⁺).

Analýza: vypočteno pro C₁₂H₂₅O₇PS: C, 41,85; H, 7,32;

20 nalezeno: C, 41,89; H, 7,32.

(S)-2-amino-6-chlor-9-[2-(diizopropylfosfonomethoxy)-3-butenyl]purin

(S)-methansulfonyl-2-(diizopropylfosfonomethyl)-3-buten (1 g, 2,90 mmol) byl míchán s 2-amino-6-chlorpurinem (0,59 g, 3,48 mmol) a uhličitánem cesným (1,42 g, 4,35 mmol) v 8 ml suchého N,N'-dimethylformamidu. Směs byla 5 hodin míchána při 95 - 100 °C pod dusíkovou
 25 atmosférou. Směs byla ponechána vychladnout na teplotu místnosti a zfiltrována. Rozpouštědlo bylo odstraněno za mírného tlaku. Zbytek byl čištěn chromatografií v koloně na silikagelu (methylenchlorid : aceton = 3 : 1 až 0 : 1; podruhé methylenchlorid : methanol = 15 : 1). Bylo získáno 675 mg (výtěžek 56 %) produktu, který byl vykrytalizován ze směsi ethylacetát - diethylether a získáno 502 mg titulu sloučeniny. Bod tání 106 - 108 °C.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,90 (s, 1H, H-8), 5,70-5,54 (m, 1H, H-3'), 5,41-5,36 (m, 2H, H-4'), 4,71-4,55 (m, 2H, POCH), 4,27-4,05 (m, 3H, H-1' a H-2'), 3,49 (dd, J = 8,5, 13,6 Hz, 1H, CH₂P), 1,29-1,19 (m, 12H, POCHCH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159,3, 154,1, 151,3, 143,8 (G), 133,2 (C-3'), 124,9 (G), 121,9 (C-4'), 80,7 (d, ³J_C, p = 12 Hz, C-2'), 71,1 (d, ²J_C, p = 7 Hz, POCH), 62,9 (d, ¹J_C, p = 170 Hz, CH₂P), 46,9 (C-1'), 23,7 (d, ³J_C, p = 4 Hz, POCHCH₃).

35 MS (FAB): m/e = 418 (MH⁺), 456 (MK⁺).

(S)-9-[(2-vinyl-2-(fosfonomethoxy)ethyl]guanin

((*S*)-2'-vinyl-PMEG))

((*S*)-9-[2-(fosfonomethoxy)-3-butenyl]guanin))

40 Bromtrimethylsilan (1,82 g, 12,0 mmol) byl pomalu přidáván k roztoku *(S)*-2-amino-6-chlor-9-[2-(diizopropylfosfonomethoxy)-3-butenyl]purinu (0,5 g, 1,2 mmol) v 10 ml bezvodého

acetonitrilu v dusíkové atmosféře. Roztok byl míchán při teplotě místnosti po dobu 16 hodin. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl sušen ve vakuu. K odparku byly přidány voda (2 ml) a aceton (15 ml). Směs byla 14 hodin míchána při teplotě místnosti. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl promyt acetonem a vodou a potom mírně zahříván pod zpětným chladičem v 20 ml
 5 10% kyseliny chlorovodíkové po dobu 6 hodin. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl čištěn chromatografií na koloně v obrácené fázi (C18, voda : methanol = 1 : 0 až 10 : 1). Surový produkt byl rekrystalován z vody při zisku 186 mg žádané sloučeniny v krystalické formě. Matečný luh byl koncentrován a krystalizován, čímž se získalo dalších 62 mg produktu (celkový výtěžek 66 %). Teplota tání 275 °C.

10 $[\alpha]_D^{20} + 50,9^\circ$ (c 0,46, 1N HCl).

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 8,82 (s, 1H, H-8), 5,79-5,68 (m, 1H, H-3'), 5,44-5,37 (m, 2H, H-4'), 4,45-4,36 a 4,30-4,22 (m, 3H, H-2' a H-1'), 3,69 (dd, $J = 9,3, 13,0$ Hz, 1H, CH_2P), 3,38 (dd, $J = 9,3, 13,0$ Hz, 1H, CH_2P).

^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) δ 161,8, 157,5, 155,0, 144,0, 136,9 (C-3'), 124,2 (C-4'), 117,5 (G),
 15 83,8 (d, ^3Jc , $p = 13$ Hz, C-2'), 67,8 (d, ^1Jc , $p = 158$ Hz, CH_2P), 50,0 (C-1').

UV (H_2O): 252 nm ($\epsilon = 13,400$).

MS (FAB): $m/e = 316$ (MH^+).

IR (KBr): 3600-2600 (NH, OH), 1712 (C=O), 1668, 1650 (C=C, C=N), 1106, 1050, 992 (P-O) cm^{-1} .

20 Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_5\text{P}$: C, 38,10; H, 4,48; N, 22,21;
 nalezeno: C, 37,95; H, 4,41; N, 22,05.

Příklad 2

(R)-9-[(2-vinyl-2-fosfonomethoxy)ethyl]guanin

((R)-2'-vinyl PMEG))

25 ((R)-9-[2-(fosfonomethoxy)-3-butenyl]guanin))

Tato sloučenina byla syntetizována za použití stejného postupu jako v příkladu 1 z (R)-1,2,4-butantriolu, připraveného z kyseliny D-jablečné postupem, popsáním v Can. J. Chem. 62, 2146 (1984). Teplota tání 278 °C.

$[\alpha]_D^{20} - 27,2^\circ$ (c 0,41, H_2O).

30 $[\alpha]_D^{20} - 46,7^\circ$ (c 0,30, 1N HCl).

UV (H_2O): 252 nm ($\epsilon = 12,800$).

MS (FAB): $m/e = 316$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_5\text{P}$: C, 38,10; H, 4,48; N, 22,21;
 nalezeno: C, 37,89; H, 4,48; N, 21,92.

Příklad 3

(S)-9-[(2-vinyl-2-fosfonomethoxy)ethyl]cytosin

((S)-2'-vinyl P MEC)

((S)-9-[2-fosfonomethoxy]-3-butenyl]cytosin)

5 (S)-[2-(diizopropylfosfonomethoxy)-3-butenyl]cytosin

(S)-methansulfonyl-2-(diizopropylfosfonomethyl)-3-buten (1 g, 2,9 mmol) byl smíchán s cytosinem (0,39 g, 3,48 mmol) a uhličitánem cesným (1,42 g, 4,35 mmol) v 8 ml suchého N,N'-dimethylformamidu. Směs byla míchána 4 hodiny při 95 °C v atmosféře dusíku. Směs se nechala ochladnout na teplotu místnosti a byla zfiltrována. Pevná látka byla promyta methylenchloridem (50 ml). Filtrát byl odpařen a odparek byl čištěn kolonovou (flash) chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : methanol = 15 : 1 až 5 : 1). Bylo získáno 427 mg (výtěžek 41 %) produktu, který byl vykryštalizován z ethylacetát-etheru s výsledkem 345 mg žádané látky ve formě krystalů. Teplota tání 137 - 138 °C.

$$[\alpha]^{20}_D + 84,0^\circ \text{ (c 0,96, CH}_2\text{Cl}_2\text{)}.$$

15 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,39 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-6), 5,77 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-5), 5,72, 7,58 (m, 1H, H-3'), 5,46-5,32 (m, 2H, H-4'), 5,74-5,59 (m, 2H, POCH), 4,22-4,10 (m, 2H, H-1'), 3,74 (dd, $J = 9,5, 13,6$ Hz, 1H, CH_2P), 3,45 a 3,54-3,41 (dd over m, $J = 9,5, 13,6$ Hz, 2H, CH_2P a H-2'), 1,36-1,22 (m, 12H, 4 X POCHCH $_3$).

$^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 166,6 (C-2), 156,9 (C-4), 146,8 (C-6), 133,8 (C-3'), 128,8 (C-4'), 94,2 (C-5), 80,9 (d, ^3Jc , $p = 13,6$ Hz, H-2'), 63,0 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 70,9 (t, ^2Jc , $p =$ Hz, POCH), 53,1 (1'-C), 23,7 (t, ^3Jc , $p = 5$ Hz, POCHCH $_3$).

MS (FAB): $m/e = 360$ (MH^+), 398 (MK^+).Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_5\text{P}$: C, 50,14; H, 7,29; N, 11,69;

nalezeno: C, 49,96; H, 7,12; N, 11,68.

25 (S)-9-[2-(fosfonomethoxy)-3-butenyl]cytosin

K roztoku (S)-[2-(diizopropylfosfonomethoxy)-3-butenyl]cytosinu (377 mg, 1,05 mmol) v 8 ml bezvodého acetonitrilu byl pomalu v dusíkové atmosféře přidán bromtrimethylsilan (1,91 g, 12,6 mmol). Roztok byl míchán 16 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek vysušen ve vakuu. K odparku byla přidána voda (2 ml) a aceton (10 ml). Směs byla míchána 24 hodin při teplotě místnosti. Po odpaření rozpouštědla byl odparek triturován acetonem a čištěn chromatograficky v obrácené fázi (C18, voda : methanol = 10 : 1 až 5 : 1). Zachycený produkt byl rekrystalován z methanolu a vody. Bylo získáno 193 mg (výtěžek 67 %) žádané sloučeniny ve formě krystalů. Teplota tání 294 °C.

$$[\alpha]^{20}_D + 84,0^\circ \text{ (c 1,13, H}_2\text{O)}.$$

35 $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 3,38 (dd, $J = 9,2, 13,2$ Hz, 1H, CH_2P), 3,67 (dd, $J = 9,3, 13,2$ Hz, 1H, CH_2P), 3,82 (dd, $J = 7,9, 13,0$ Hz, 1H, H-1'), 4,08 a 4,05-4,17 (dd over m, $J = 3,5, 14,0$ Hz, 2H, H-1'a H-2'), 5,37-5,44 (m, 2H, H-4'), 5,65-5,78 (m, 1H, H-3'), 6,11 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-5), 7,86 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, 6-CH).

$^{13}\text{C NMR}$ (300 MHz, D_2O) δ 55,63 (1'-C), 67,85 (d, $J = 12,4$ Hz, CH_2P), 83,84 (d, $J = 12,4$ Hz, 2'-C), 98,14 (5-C), 123,70 (4'-C), 137,01 (3'-C), 152,42 (6-C), 158,96 (4-C), 167,72 (2-C).

Analýza: vypočteno pro $C_9H_{14}N_3O_5P$: C, 39,28; H, 5,13; N, 15,27;
nalezeno: C, 39,10; H, 5,06; N, 15,19.

MS (izobutan, DCI): $m/e = 296$ (MH^+).

Příklad 4

- 5 (S)-9-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin
(S)-2'-azidomethyl-PMEG

(R)-3-azido-2-O-(diizopropylfosfonomethoxyl)-1-O-methansulfonyl-1,2-propandiol

- K roztoku (R)-3-azido-2-O-(diizopropylfosfonomethoxyl)-1,2-propandiolu (6,4 g, 21,67 mmol) a triethylaminu (4,39 g, 43,4 mmol) v methylenchloridu (100 ml) byl pomalu přidáván
10 methansulfonylchlorid (2,98 g, 26 mmol) při 0 °C v dusíkové atmosféře. Výsledný roztok byl
1 hodinu míchán při 0 °C a potom pomalu ohřát během hodiny na teplotu místnosti. K roztoku
byla přidána voda (100 ml). Vodná vrstva byla oddělena a extrahována methylenchloridem
(150 ml x 2). Spojené methylenchloridové extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým.
15 Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek vyčištěn kolonovou (flash) chromatografií na silikagelu
(methylenchlorid : aceton = 10 : 1 až 3 : 1). Bylo získáno 7,21 g (výtěžek 87 %) žádané
sloučeniny ve formě oleje.

$[\alpha]^{20}_D + 2,3^\circ$ (c 16,76, CH_2Cl_2).

- 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 4,78-4,63 (m, 2H, POCH), 4,32 (dd, $J = 4,6, 11,2$ Hz, 1H, H-1),
4,26 (dd, $J = 5,1, 11,2$ Hz, 1H, H-1), 3,86 a 3,87-3,81 (d over m, $J = 8,6$ Hz, 3 H, CH_2P a H-2),
20 3,50 (dd, $J = 4,7, 13,1$ Hz, 1H, H-3), 3,42 (dd, $J = 5,7, 13,1$ Hz, 1H, H-3), 3,05 (s, 3H, SCH_3),
1,30 (d, $J = 6,2$ Hz, 12H, 4 X POCH $\underline{CH}_3$).

^{13}C NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 78,1 (d, 3J_C , $p = 10$ Hz, C-2), 71,3 (t, 2J_C , $p = 6$ Hz, POCH), 65,2
(d, 1J_C , $p = 169$ Hz, $\underline{CH}_2P$), 50,5 (C-3), 37,2 (SCH_3), 23,6 (t, 3J_C , $p = 5$ Hz, POCH $\underline{CH}_3$).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 374$ (MH^+).

- 25 Analýza: vypočteno pro $F_{11}H_{24}N_3O_7PS$: C, 35,39; H, 6,48; N, 11,25;
nalezeno: C, 35,15; H, 6,29; N, 11,09.

(S)-2-amino-9-[3-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)propyl]-6-chlorpurin (19)

- (R)-3-azido-2-O-(diizopropylfosfonomethyl)-1-O-methansulfonyl-1,2-propandiol (2,0 g, 5,22 mmol) byl míchán s 2-amino-6-chlorpurinem (3,40 g, 10,43 mmol) a uhlíčanem cesným
30 (3,92 g, 12,0 mmol) v 15 ml bezvodého N,N' -dimethylformamidu. Směs byla míchána 3 hodiny
při 90 °C v dusíkové atmosféře, potom ponechána vychladnout na teplotu místnosti a zfiltrována.
Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku. Zbytek byl čištěn 2x (flash) chromatografií
v koloně na silikagelu (nejdříve - methylenchlorid : aceton = 3 : 1 až 0 : 1; poté -
methylenchlorid : methanol = 15 : 1 až 10 : 1). Byl získán hustý olej, který krystalizoval z
35 ethylacetátu a diethyletheru, čímž se získalo 1,34 g (58 %) sloučeniny ve formě krystalů. Teplota
tání 126 - 128 °C.

$[\alpha]^{20}_D - 9,9^\circ$ (c 0,89, MeOH).

- 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 (s, 1H, H-8), 5,45 (br s, 2H, NH_2), 4,72-4,56 (m, 2H, 2 X
POCH), 4,26 (dd, $J = 4,3, 14,6$ Hz, 1H, H-1'), 4,18 (dd, $J = 5,6, 14,6$ Hz, 1H, H-1'), 3,91-3,82
40 (m, 1H, H-2'), 3,71 (dd, $J = 8,9, 13,9$ Hz, 1H, CH_2P), 3,79 (dd, $J = 8,6, 13,9$ Hz, 1H, CH_2P), 3,43

(dd, J % 5,1, 13,2 Hz, 1H, H-3'), 3,25 (dd, J = 4,9, 13,2 Hz, 1H, H-3'), 1,27-1,19 (m, 12H, 4 X POCHCH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159,4, 154,3, 151,4, 143,6, 124,8, 77,6 (d, ³Jc, p = 12 Hz, C-2'), 71,2 (t, ²Jc, p = 4 Hz, POCH), 65,0 (d, ¹Jc, p = 170 Hz, CH₂P), 47,1 a 45,4 (C-1'a C-4'), 30,7 (C-3'), 23,7 (d, ³Jc, p = 4 Hz, POCHCH₃).

Analýza: vypočteno pro C₁₅H₂₄ClN₈O₄PS: C, 40,32; H, 5,41; N, 25,08;
nalezeno: C, 40,36; H, 5,52; N, 24,94.

(S)-9-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin
((S)-2'-azidomethyl PMEG)

(S)-2-amino-9-[3-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)propyl]-6-chloropurin (1,0 g, 2,24 mmol) byl rozpuštěn v 10 ml acetonitrilu a pomalu reagován s bromtrimethylsilanem (3,43 g, 22,40 mmol) v dusíkové atmosféře. Reakční směs se nechala míchat 14 hodin při teplotě místnosti a potom bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku. Zbytek byl vysušen ve vakuu a pak reagován s acetonem (8 ml) a vodou 2 ml). Výsledná směs byla míchána 6 hodin při teplotě místnosti. Směs byla zfiltrována a zbytek promyt acetonem a vodou. Výsledná pevná látka v 10 ml 2N HCl byla po dobu 5 hodin mírně zahřívána pod zpětným chladičem. Rozpouštědlo bylo odpařeno za sníženého tlaku a odparek rekrystalován z vody, přičemž bylo získáno 533 mg požadované sloučeniny ve formě bleďožlutých krystalů. Matečný louh byl koncentrován, čímž se získalo dalších 72 mg sloučeniny (celkový výtěžek 79 %). Teplota tání 263 °C.

$[\alpha]_D^{20}$ -18,4° (c 0,38, 1N HCl).

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 7,69 (s, 1H, H-8), 4,13 (dd, J = 5,3, 14,8 Hz, 1H, H-1'), 4,06 (dd, J = 5,3, 14,8 Hz, 1H, H-1'), 3,79- 3,74 (m, 1H, H-2'), 3,46-3,40 (m, 2H, CH₂P a H-3'), 3,34 (dd, J = 9,4, 12,2 Hz, 1H, CH₂P), 3,18 (dd, J = 4,7, 13,3 Hz, 1H, H-3').

¹³C NMR (75 MHz, D₂O-NaOD) δ 171,7, 164,6, 155,1, 142,7, 120,5, 80,8 (d, ³Jc, p = 11 Hz, C-2'), 71,1 (d, ¹Jc, p = 151 Hz, CH₂P), 53,7 (C-3'), 46,5 (C-1').

IR (KBr): 3600-2600 (NH, OH) 2110 (N₃), 1712 (C=O), 1685, 1650 (C=C, C=N), 1106, 1000, 958 (P-O) cm⁻¹.

MS (FAB): m/e = 345 (MH⁺).

Analýza: vypočteno pro C₉H₁₃N₈O₅P.1/2H₂O: C, 30,60; H, 4,00; N, 31,72;
nalezeno: C, 30,67; H, 3,79; N, 31,83.

Příklad 5

(R)-9-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin
((R)-2'-azidomethyl PMEG)

((R)-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin)

Uvedená sloučenina byla připravena za použití postupu popsaného v příkladu 4, s tím rozdílem, že byl použit (S) chirální výchozí materiál, (S)-3-O-benzyl-2-O-(diizopropylfosfonomethoxyl)-1-O-(methansulfonyl)glycerin.

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 16,7^\circ$ (c 0,63, 1N HCl).

MS (FAB): $m/e = 345$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_8\text{O}_5\text{P} \cdot 2/3\text{H}_2\text{O}$: C, 30,34; H, 4,05; N, 31,45;
nalezeno: C, 30,41; H, 3,84; N, 31,40.

5 Příklad 6

(S)-9-[3-azido-2-fosfonomethoxy)propyl]cytosin

(S)-2'-azidomethyl-PMEC

(S)-[3-azido-2-[(diizopropylfosfonomethoxy)propyl]cytosin

(R)-3-azido-2-O(diizopropylfosfonomethoxy)-1-O-methan sulfonyl-1,2-propandiol (2,0 g, 5,22 mmol) byl míchán s cytosinem (0,7 g, 6,26 mmol) a uhlíčanem cesným (3,40 g, 10,43 mmol) v 15 ml bezvodého $\text{N}'\text{N}'$ -dimethylformamidu. Směs byla tři hodiny míchána při 90°C v dusíkové atmosféře, potom ponechána vychladnout na teplotu místnosti a zfiltrována. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku. Zbytek byl čištěn (flash) kolonovou chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : methanol = 15 : 1 až 5 : 1), čímž se získalo 1,00 g (49 %) žádané sloučeniny ve formě hustého oleje.

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} - 37,6^\circ$ (c 2,41, MeOH).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,43 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-5), 5,69 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-6), 4,75-4,61 (m, 2H, 2 X POCH), 4,03 (dd, $J = 3,7, 13,5$ Hz, 1H, H-1'), 3,86 a 3,87-3,82 (dd over m, $J = 8,7, 13,6$ Hz, 2H, CH_2P a H-2'), 3,74 (dd, $J = 6,7, 13,5$ Hz, 1H, H-1'), 3,69 (dd, $J = 9,4, 13,6$ Hz, 1H, CH_2P), 3,62 (dd, $J = 3,3, 13,3$ Hz, 1H, H-3'), 3,26 (dd, $J = 5,2, 13,3$ Hz, 1H, H-3'), 1,30 (d, $J = 6,3$ Hz, 2 X POCHCH_3), 1,28 (d, $J = 6,1$ Hz, 2 X POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 166,7, 157,1, 146,7, 94,8, 79,0 (d, ^3Jc , $p = 11$ Hz, C-2'), 71,4 (d, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 71,3 (d, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 65,2 (d, ^1Jc , $p = 169$ Hz, CH_2P), 51,4, 50,6 (C-1' a C-2'), 23,7 (t, ^3Jc , $p = 5$ Hz, POCHCH_3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 389$ (MH^+).

(S)-9-[3-azido-2-fosfonomethoxy)propyl]cytosin

(S)-[3-azido-(diizopropylfosfonomethoxy)propyl]cytosin (0,85 g, 2,2 mmol) byl rozpuštěn v 9 ml bezvodého acetonitrilu a pomalu byl přidáván bromtrimethylsilan (4,06 g, 37,7 mmol) v dusíkové atmosféře. Reakční směs se nechala míchat 12 hodin při teplotě místnosti a potom bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku. Zbytek byl sušen ve vakuu a pak přidány aceton (10 ml) a voda (2 ml). Vzniklá směs byla míchána 6 hodin při teplotě místnosti. Směs byla filtrována a promyta acetonem a vodou. Spojené pevné látky byly rekrystalizovány z roztoku voda- methanol, čímž bylo získáno 370 mg (výtěžek 55 %) žádané sloučeniny ve formě bílých krystalů. Teplota tání 210°C .

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} - 75,0^\circ$ (c 0,32, 1N HCl).

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 7,73 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-5), 6,00 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-6), 4,00 (dd, $J = 6,6, 17,7$ Hz, 1H, H-1'), 3,81-3,72 (m, 2H, H-1' a H-2'), 3,66 (dd, $J = 9,0, 13,1$ Hz, 1H, CH_2P), 3,57 (dd, $J = 3,9, 13,5$ Hz, 1H, H-3'), 3,42 (dd, $J = 9,5, 13,1$ Hz, 1H, CH_2P), 3,28 (dd, $J = 3,6, 13,5$ Hz, 1H, H-3').

^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) δ 170,0, 151,7, 150,7, 95,2, 78,6 (d, ^3Jc , $p = 12$ Hz, C-2'), 66,9 (d, ^1Jc , $p = 158$ Hz, CH_2P), 51,2, 51,0 (C-1' a C-2').

IR (KBr): 3500-2500 (OH, NH), 2110 (N_3), 1722 (C=O), 1680 (C=N, C=C), 1116, 1060, 930 (P-O) cm^{-1} .

5 MS (FAB): $m/e = 305$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_6\text{O}_5\text{P}$: C, 31,59; H, 4,31; N, 27,62;
nalezeno: C, 31,37; H, 4,52; N, 27,90.

Příklad 7

(R)-9-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]cytosin

10 Uvedená sloučenina byla připravena za použití postupů podle příkladu 6, ale začínající s výchozím materiálem (S)-3-azido-2-O-(diizopropylfosfonomethoxy)-1-O-methansulfonyl-1,2-propandiol.

$[\alpha]^{20}_{\text{D}} + 60,6^\circ$ (c 0,46, 1N HCl).

MS (FAB): $m/e = 305$ (MH^+).

15 Analýza: vypočteno pro $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{N}_6\text{O}_5\text{P} \cdot 1/3\text{H}_2\text{O}$: C, 30,93; H, 4,44; N, 27,06;
nalezeno: C, 30,83; H, 4,41; N, 27,07.

Příklad 8

(S)-9-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]thymín
((S)-2'-azidomethyl-PEMT)

20 (S)-[3-azido-2-[(diizopropylfosfonomethoxy)propyl]-4-O-methylthymín

(R)-3-azido-1-O-methansulfonyl-2-O-(diizopropylfosfonomethyl)-1,2-propandiol (1 g, 2,61 mmol) byl míchán s 4-O-methylthymínem (0,44 g, 3,13 mmol) a uhličitánem cesným (1,27 g, 3,91 mmol) v 10 ml bezvodého N,N'-dimethylformamidu. Směs byla míchána 5 hodin při 95°C v dusíkové atmosféře. Směs byla ponechána vychladnout na teplotu místnosti a zfiltrována.
25 Pevná látka byla promyta methylenchloridem. Filtrát byl odpařen a odparek byl čištěn (flash) chromatografií v koloně na silikagelu (methylenchlorid : methanol = 10 : 1 až 5 : 1) a bylo získáno 270 mg (výtěžek 27 %) žádané sloučeniny ve formě hustého oleje.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,41 (s, 1H, H-6), 4,63-4,78 (m, 2H, 2 X POCH), 4,08 (dd, $J = 3,4, 13,4$ Hz, H-1'), 3,96 (s, 3 H, OCH_3), 3,96-3,80 (m, 3 H, H-1', H-2' a CH_2P), 3,71-3,62 (m, 2H, CH_2P a H-3'), 3,26 (dd, $J = 5,2, 13,5$ Hz, H-3'), 1,93 (s, 3 H, CH_3), 1,32-1,27 (m, 12H, 2 X POCHCH_3).
30

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 171,1 (C-2), 156,8 (C-4), 145,8 (C-6), 104,2 (C-5), 78,8 (d, ^3Jc , $p = 10$ Hz, C-2'), 71,0 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 70,9 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 65,2 (D, ^1Jc , $p = 169$ Hz, CH_2P), 54,2 (OCH_3), 51,3 a 50,6 (C-1' a C-3'), 23,4 (t, ^3Jc , $p = 4$ Hz, POCHCH_3),
35 11,4 (5- CH_3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 417$ (MH^+).

(S)-9-[3-azido-2-fosfonomethoxy)propyl]thymin

- (S)-[3-azido-2-[(diizopropylfosfonomethoxy)propyl]-4-O-methylthymin (200 mg, 0,52 mmol) byl rozpuštěn v 5 ml acetonitrilu a pomalu reagován s bromtrimethylsilanem (1,19 g, 7,8 mmol) v dusíkové atmosféře. Reakční směs se nechala při teplotě místnosti 14 hodin míchat a rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku. Zbytek byl vysušen ve vakuu a potom k němu byl přidán aceton (5 ml) a voda (1 ml). Výsledná směs byla míchána 16 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl čištěn chromatografií v obrácené fázi (C18, voda : methanol = 10 : 0 až 5 : 1) a získalo se 103 mg žádané sloučeniny ve formě bílé pěny.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ - 25,0° (c 0,22, H₂O).

- ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,20 (s, 1H, H-6), 3,77 (dd, J = 3,1, 13,9 Hz, 1H, H-1'), 3,68 (dd, J = 8,9, 13,4 Hz, 1H, CH₂P), 3,64-3,57 (m, 1H, H-2'), 3,57-3,47 (m, 2H, H-1' a CH₂P), 3,35 (dd, J = 4,0, 13,3 Hz, 1H, H-3'), 3,11 (dd, J = 4,9, 13,3 Hz, 1H, H-3'), 1,61 (s, 3H, CH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD) δ 167,7 (C-2), 153,8 (C-4), 145,0 (C-6), 111,2 (C-5), 80,7 (d, ³J_C, p = 11 Hz, C-2'), 66,7 (d, ¹J_C, p = 166 Hz, CH₂P), 52,6 a 50,6 (C-1' a C-3'), 12,4 (5-CH₃).

- IR (KBr): 3600-2600 (NH, OH), 2108 (N₃), 1678 (C=O), 1608 (C=C, C=N), 1114, 1004, 940 (P-O) cm⁻¹.

MS (FAB): m/e = 320 (MH⁺).

Příklad 9

(R)-9-[3-azido-2-fosfonomethoxy)propyl]thymin

- Uvedená sloučenina byla připravena za použití postupů podle příkladu 8 s tím rozdílem, že byl použit (S) chirální výchozí materiál.

Příklad 10

Aminomethylové sloučeniny z příkladů 4 až 9

- Aminomethylové analogy sloučenin z příkladů 4, 5, 6, 7, 8 a 9 lze připravit redukcí sloučenin z příkladů 4 až 9.

Příklad 11

Syntéza (S)-9-[4-azido-2-(fosfonomethoxy)butyl]guanin
((S)-azidoethyl-PMEG))

- (S)-2-O-(diizopropylfosfonomethyl)-4-O-methansulfonyl-1-O-methoxymethyl-1,2,4-butantriol

- Mesylchlorid (2,14 g, 18,64 mmol) byl pomalu přidán k roztoku (S)-2-O-(diizopropylfosfonomethyl)-1-O-methoxymethyl-1,2,4-butantriolu v 50 ml methylenchloridu při 0 °C v dusíkové atmosféře. Směs byla míchána 5 minut při 0 °C a poté byl během 30 minut přidán triethylamin. Směs byla potom míchána 30 minut při 0 °C a přidán nasycený bikarbonát (50 ml). Vodný roztok byl extrahován methylenchloridem (50 ml x 2). Spojené extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým. Filtrací a odpařením byl získán odparek, který byl čištěn (flash) chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : aceton = 5 : 1 až 2 : 1. Bylo získáno 6,22 g (99% výtěžek) žádané sloučeniny ve formě oleje.

$[\alpha]_D^{20}$ - 17,9° (c 0,67, MeOH).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,62-4,88 (m, 2H, 2 X POCH), 4,58 (s, 2H, OCH_2O), 4,28-4,42 (m, 2H, H-4), 3,95 (dd, $J = 8,8, 13,7$ Hz, 1H, CH_2P), 3,73 a 3,67-3,74 (dd over m, $J = 9,3, 13,7$ Hz, 2H, CH_2P a H-2), 3,51-3,61 (m, 2H, H-1), 3,32 (s, 3H, OCH_3), 3,00 (s, 3H, CH_3SO_2), 1,83-2,30 (m, 2H, H-3), 1,27-1,31 (m, 12H, POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 96,3 (OCH_2O), 76,6 (d, ^3Jc , $p = 12$ Hz, C-2), 70,7 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 70,6 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 68,7 (C-4), 66,4 (1-C), 64,5 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 54,9 (OCH_3), 36,71 (SCH_3), 31,2 (C-3), 23,5 (t, ^3Jc , $p = 4$ Hz, POCHCH_3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 407$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{14}\text{H}_{31}\text{O}_9\text{PS}$: C, 41,37; H, 7,69;
nalezeno: C, 41,54; H, 7,39.

(S)-4-azido-2-O-(diizopropylfosfonomethoxy)-1,2-butandiol

(S)-2-O-(diizopropylfosfonomethyl)-4-O-methansulfonyl-1-O-methoxymethyl-1,2,4-butantriol (5 g, 12,30 mmol) a azid sodný (1,2 g, 18,45 mmol) v 10 ml bezvodého N,N'-dimethylformamidu byly míchány 3 hodiny při 130 °C v dusíkové atmosféře. Směs byla ochlazená na teplotu místnosti a filtrována. Filtrát byl odpařen a odparek čištěn (flash) chromatografií (methylenchlorid : methanol = 20 : 1 až 10 : 1). Byl získán (S)-4-azido-1-O-methoxymethyl-2-O-(diizopropylfosfonomethoxy)-1,2-butandiol.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,79-4,60 (m, 2H, POCH), 4,59 (s, 2H, OCH_2O), 3,96 (dd, $J = 8,7, 13,6$ Hz, 1H, CH_2P), 3,74 (dd, $J = 9,5, 13,6$ Hz, 1H, CH_2P), 3,69-3,61 (m, 1H, H-2), 3,55 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H, H-1), 3,43 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-4), 3,33 (s, 3 H, OCH_3), 1,80-1,73 (m, 2H, H-3), 1,30 (d, $J = 6,2$ Hz, 6 H, POCHCH_3), 1,29 (d, $J = 6,2$ Hz, 6 H, POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 96,5 (OCH_2O), 77,7 (d, ^3Jc , $p = 12$ Hz, C-2), 70,8 (t, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 69,1 (C-1), 64,7 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 55,1 (OCH_3), 47,4 (C-4), 30,8 (C-3), 23,6 (t, ^3Jc , $p = 4$ Hz, POCHCH_3).

MS (FAB): $m/e = 354$ (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{13}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_6\text{P}$: C, 44,19; H, 7,99; N, 11,89;
nalezeno: C, 43,90; H, 8,02; N, 11,50.

Získaný (S)-4-azido-1-O-methoxymethyl-2-O-(diizopropyl fosfonomethoxy)-1,2-butandiol byl reagován s 50 ml methanolu a 0,5 g kyseliny kafrsulfonové. Výsledná směs byla 16 hodin zahřívána pod zpětným chladičem. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl čištěn (flash) chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : aceton = 5 : 1 až 2 : 1). Bylo získáno 2,53 g (výtěžek 67 %) požadované sloučeniny ve formě oleje.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,81-4,63 (m, 2H, POCH), 3,91 (dd, $J = 7,2, 14,1$ Hz, 1H, CH_2P), 3,73 a 3,76-3,68 (dd over m, $J = 9,1, 14,1$ Hz, 2H, CH_2P a H-1), 3,58-3,46 (m, 2H, H-2 a H-1), 3,40 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H, H-4), 3,37 (d, $J = 5,9$ Hz, 1H, H-4), 1,88- 1,60 (m, 2H, H-3), 1,31 (d, $J = 4,8$ Hz, 6 H, 2 X POCHCH_3), 1,29 (d, $J = 4,8$ Hz, 6 H, 2 X POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 80,8 (d, ^3Jc , $p = 9$ Hz, C-2), 71,5 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 71,1 (d, ^2Jc , $p = 7$ Hz, POCH), 64,7 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 63,6 (C-1), 47,6 (C-4), 30,4 (C-3), 23,6 (m, POCHCH_3).

MS (DCI, izobuten): $m/e = 309$ (MH^+).

5 IR (čistý): 3388 (OH), 2098 (N_3), 1240 (P=O), 1106 (C-O), 994 (P-O-C).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_5\text{P}$: C, 42,71; H, 7,82; N, 13,58;
nalezeno: C, 42,74; H, 7,87; N, 13,32.

(*S*)-4-azido-2-*O*-(diizopropylfosfonomethoxy)-1-*O*-methansulfonyl-1,2-butandiol

10 K roztoku (*S*)-4-azido-2-*O*-[(diizopropylfosfonomethoxy)]-1,2-butandiolu (2,50 g, 8,08 mmol) v 30 ml methylenchloridu byl pomalu přidáván mesylchlorid (1,11 g, 9,7 mmol) při 0 °C. V průběhu 30 minut byl přidán triethylamin (1,64 g, 16,16 mmol). Směs byla míchána 30 minut při 0 °C a přidán nasycený bikarbonát sodný (40 mmol). Vodná vrstva byla extrahována methylenchloridem (75 ml x 2). Spojené extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek čištěn chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : acetone = 5 : 1 až 2 : 1). Bylo získáno 3,05 g (výťažek 97 %) žádané sloučeniny ve formě oleje.

15 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,80-4,64 (m, 2H, 2 X POCH), 4,34 (dd, $J = 3,6, 11,2$ Hz, 1H, H-1), 4,26 (dd, $J = 5,3, 11,2$ Hz, 1H, H-1), 3,87 (dd, $J = 8,8, 13,6$ Hz, 1H, CH_2P), 3,75 a 3,83-3,74 (dd a m, $J = 9,7, 13,6$ Hz, 2H, CH_2P a H-2), 3,48 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-4), 3,06 (s, 3 H, SCH_3), 1,90-1,68 (m, 2H, H-3), 1,32 (d, $J = 6,2$, Hz, 6 H, 2 X POCHCH_3), 1,31 (d, $J = 6,2$, Hz, 6 H, 2 X POCHCH_3).

20 ^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 76,7 (d, ^3Jc , $p = 12$ Hz, C-2), 71,1 (d, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 71,0 (d, ^2Jc , $p = 6$ Hz, POCH), 69,9 (C-1), 65,1 (d, ^1Jc , $p = 170$ Hz, CH_2P), 47,0 (C-4), 37,3 (SCH_3), 30,2 (C-3), 23,7 (d, ^3Jc , $p = 5$ Hz, POCHCH_3).

MS (DCI, izobuten): $m/e = 374$ (MH^+).

25 IR (čistý): 3388(OH), 2098 (N_3), 1240 (P=O), 1106 (C-O), 994 (P-O-C).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_5\text{P}$: C, 42,71; H, 7,82; N, 13,58;
nalezeno: C, 42,74; H, 7,87; N, 13,32.

(*S*)-4-azido-2-*O*-(diizopropylfosfonomethoxy)-1-*O*-methansulfonyl-1,2-butandiol

30 K roztoku (*S*)-4-azido-2-*O*-[(diizopropylfosfonomethoxy)]-1,2-butandiolu (2,50 g, 8,08 mmol) v 30 ml methylenchloridu byl pomalu přidáván mesylchlorid (1,11 g, 9,7 mmol) při 0 °C. V průběhu 30 minut byl přidán triethylamin (1,64 g, 16,16 mmol). Směs byla míchána 30 minut při 0 °C a přidán nasycený bikarbonát sodný (40 ml). Vodná vrstva byla extrahována methylenchloridem (75 ml x 2). Spojené extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek čištěn chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : acetone = 5 : 1 až 2 : 1). Bylo získáno 3,05 g (výťažek 97 %) žádané sloučeniny ve formě oleje.

35 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,80-4,64 (m, 2H, 2 X POCH), 4,34 (dd, $J = 3,6, 11,2$ Hz, 1H, H-1), 4,26 (dd, $J = 5,3, 11,2$ Hz, 1H, H-1), 3,87 (dd, $J = 8,8, 13,6$ Hz, 1H, CH_2P), 3,75 a 3,83-3,74 (dd a m, $J = 9,7, 13,6$ Hz, 2H, CH_2P a H-2), 3,48 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-4), 3,06 (s, 3H, SCH_3),

1,90-1,68 (m, 2H, H-3), 1,32 (d, $J = 6,2$, Hz, 6H, 2 X POCHCH₃), 1,31 (d, $J = 6,2$, Hz, 6H, 2 X POCHCH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 76,7 (D, ³J_C, $p = 12$ Hz, C-2), 71,1 (d, ²J_C, $p = 6$ Hz, POCH), 71,0 (d, ²J_C, $p = 6$ Hz, POCH), 69,9 (C-1), 65,1 (d, ¹J_C, $p = 170$ Hz, CH₂P), 47,0 (C-4), 37,3 (SCH₃), 30,2 (C-3), 23,7 (d, ³J_C, $p = 5$ Hz, POCHCH₃).

MS (DCI, izobuten): $m/e = 374$ (MH⁺).

(S)-2-amino-9-[4-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)]butyl]-6-chlorpurin

(S)-2-amino-9-[4-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)]butyl]-6-chlorpurin (1,0 g, 2,58 mmol) byl smíchán s 2-amino-6-chlorpurinem (0,53 g, 3,10 mmol) a uhlíčanem cesným (1,26 g, 3,87 mmol) v 10 ml suchého N,N'-dimethylformamidu. Směs byla míchána 4 hodiny při 95 - 100 °C v atmosféře dusíku. Směs byla ponechána vychladnout na teplotu místnosti a filtrována. Pevný zbytek byl vyprán methylenchloridem. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a zbytek byl čištěn (flash) chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : aceton = 3 : 1 až 0 : 1; poté - methylenchlorid : methanol = 15 : 1 až 10 : 1). Bylo získáno 681 mg (výtěžek 57 %) žádané sloučeniny ve formě hustého oleje.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,94 (s, 1H, H-8), 5,14 (br s, 2H, NH₂), 4,78-4,63 (m, 2H, 2 X POCH), 4,30 (dd, $J = 3,5, 14,7$ Hz, 1H, H-1'), 4,15 (dd, $J = 5,2, 14,7$ Hz, 1H, H-1'), 3,89-3,81 (m, 1H, H-2'), 3,76 (dd, $J = 9,5, 13,5$ Hz, 1H, CH₂P), 3,72 (dd, $J = 9,5, 13,5$ Hz, 1H, CH₂P), 3,47 (t, $J = 5,9$ Hz, 2H, H-4'), 1,78-1,50 (m, 2H, H-3'), 1,32-1,25 (m, 12 Hz, 4 X POCHCH₃).

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 159,4, 154,3, 151,4, 143,6, 124,8, 77,6 (D, ³J_C, $p = 12$ Hz, C-2'), 71,2 (t, ²J_C, $p = 4$ Hz, POCH), 65,0 (d, ¹J_C, $p = 170$ Hz, CH₂P), 47,1 a 45,4 (C-1' a C-4'), 30,7 (C-3'), 23,7 (d, ³J_C, $p = 4$ Hz, POCHCH₃).

MS (DCI, izobuten): $m/e = 461$ (MH⁺).

Analýza: vypočteno pro C₁₆H₂₆ClN₈O₄P: C, 41,70; H, 5,68; N, 24,31;

nalezeno: C, 41,55; H, 5,50; N, 24,00.

(S)-9-[4-azido-2-(fosfonomethoxy)]butyl]guanin

((S)-azidoethyl-PMEG)

((S)-4-azido-2-(fosfonomethoxy)]butyl]guanin

Bromtrimethylsilan (1,99 g, 13 mmol) byl pomalu přidáván k roztoku (S)-2-amino-9-[4-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)]butyl]-6-chlorpurinu (0,6 g, 1,3 mmol) v 7 ml bezvodého acetonitrilu v dusíkové atmosféře. Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 16 hodin. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek byl sušen ve vakuu. Ke zbytku byly přidány voda (2 ml) a aceton (15 ml). Směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 16 hodin. Sraženina byla odfiltrována a pevná látka byla v 10 ml 2N kyseliny solné 6 hodin jemně zahřívána pod zpětným chladičem. Rozpouštědlo bylo odpařeno a produkt vykrystalován z vody. Bylo získáno 287 mg (výtěžek 62 %) uvedené látky v krystalické formě. Teplota tání 245 °C.

$[\alpha]^{20}_{D-0,45^\circ}$ (c 0,44, 1N HCl).

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 10,6 (bs, 1H, NH), 7,71 (s, 1H, H-8), 6,44 (br s, 2H, NH₂), 4,17 (dd, $J = 3,9, 14,2$ Hz, 1H, H-1'), 4,02 (dd, $J = 4,7, 14,2$ Hz, 1H, H-1'), 3,80-3,71 (m, 1H, H-

2'), 3,66 (dd, $J = 9,3, 13,2$ Hz, 1H, CH_2P), 3,51 (dd, $J = 9,8, 13,2$ Hz, 1H, CH_2P), 3,46 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H, H-4'), 1,65-1,50, 1,50-1,38 (m, 2H, H-3').

^{13}C NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ 157,1, 154,0, 151,8, 138,6, 116,1, 77,0 (d, $^3J_{\text{C}}$, $p = 12$ Hz, C-2'), 65,4 (d, $^1J_{\text{C}}$, $p = 162$ Hz, CH_2P), 47,0 a 44,4 (C-1'a C-4'), 30,8 (C-3').

5 IR (KBr): 3500-2500 (OH,NH), 2106 (N_3), 1708 (C=O), 1102 (O-C), 1016, 950 (P-O), 772 (P-C).

UV (H_2O): 252 nm ($\epsilon = 11,600$).

MS (FAB) m/e : 359 (MH^+).

Analýza: vypočteno pro $\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_6\text{O}_5\text{P} \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$: C, 33,10; H, 4,31; N, 30,89;

10 nalezeno: C, 33,32; H, 4,16; N, 30,50.

Příklad 12

(S)-9-[4-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)butyl]cytosin

(S)-azidoethyl-PMEC

(S)-4-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)butylcytosin

15 (S)-4-azido-2-O-(diizopropylfosfonomethoxy)-1-O-methan sulfonyl-1,2-butandiol (1,0 g, 2,58 mmol) byl smíchán s cytosinem (0,34 g, 3,10 mmol) a uhličitánem cesným (1,26 g, 3,87 mmol) v 10 ml suchého N,N'-dimethylformamidu. Směs byla míchána při 95 - 100 °C 6 hodin v dusíkové atmosféře. Směs byla ponechána vychladnout na teplotu místnosti a zfiltrována. Pevná látka byla praná methylenchloridem. Filtrát byl odpařen a odparek vyčištěn (flash) chromatografií na silikagelu (methylenchlorid : methanol = 10 : 1 až 5 : 1). Bylo získáno 440 mg (výtěžek 42 %) požadované sloučeniny ve formě hustého oleje.

25 ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,43 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-5), 5,70 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-6), 4,75-4,60 (m, 2H, 2 X POCH), 4,00 (dd, $J = 2,1, 12,9$ Hz, 1H, H-1'), 3,82-3,69 (m, 3H, CH_2P , H-1' a H-2'), 3,63 (dd, $J = 9,5, 13,5$ Hz, 1H, CH_2P), 3,52-3,38 (m, 2H, H-4'), 1,90-1,63 (m, 2H, H-3'), 1,31-1,27 (m, 12H, 4 X POCHCH_3).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) δ 167,2, 157,5, 146,9, 95,3, 78,5 (d, $^3J_{\text{C}}$, $p = 5$ Hz, C-2'), 71,6 (t, $^2J_{\text{C}}$, $p = 5$ Hz, 2 X POCH), 65,5 (d, $^1J_{\text{C}}$, $p = 171$ Hz, CH_2P), 52,5 (C-1'), 47,6 (C-4'), 31,3 (C-3'), 24,2 (d, $^3J_{\text{C}}$, $p = 4$ Hz, POCHCH_3).

MS (izobutan, DCI): $m/e = 403$ (MH^+).

30 (S)-9-[4-azido-2-(fosfonomethoxy)butyl]cytosin

((S)-azidoethyl-PMEC)

35 K roztoku (S)-4-azido-2-(diizopropylfosfonomethoxy)-butyl-cytosinu (0,32 g, 0,98 mmol) v 5 ml bezvodého acetonitrilu byl přidán bromtrimethylsilan (1,49 g, 9,75 mmol) v atmosféře dusíku. Rozpouštědlo bylo odpařeno a odparek vysušen ve vakuu. K odparku byly přidány voda (2 ml) a aceton (10 ml). Směs byla míchána 20 hodin při teplotě místnosti. Po odpaření rozpouštědla byl surový produkt čištěn (flash) chromatografií v obrácené fázi (C_{18} , voda : methanol = 10 : 1 až 5 : 1). Získaný produkt byl rekrystalizován z methanolu a vody. Bylo získáno 194 mg (výtěžek 63 %) uvedené sloučeniny v krystalické formě. Teplota tání 247 °C.

$[\alpha]^{20}_D + 32,6^\circ$ (c 0,32, H₂O).

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 7,86 (d, J = 7,7 Hz, 1H, H-5), 6,13 (d, J = 7,7 Hz, 1H, H-6), 4,12 (d, J = 11,5 Hz, 1H, H-1'), 3,88-3,75 (m, 2H, H-1' a H-2'), 3,68 (dd, J = 9,6, 13,0 Hz, 1H, CH₂P), 3,54 (dd, J = 9,7, 13,0 Hz, 1H, CH₂P), 3,49 (t, J = 6,8 Hz, 2H, H-4'), 1,81 (q, J = 6,6 Hz, 2H, H-3').

¹³C NMR (75 MHz, D₂O) δ 164,2, 154,3, 153,7, 97,7, 80,6 (d, ³J_C, p = 13 Hz, C-2'), 69,4 (d, ¹J_C, p = 158 Hz, CH₂P), 54,9 a 50,3 (C-1' a C-4'), 33,2 (C-3').

IR (KBr): 3500-2500 (OH, NH), 2100 (N₃), 1722 (C=O), 1680, 1658 (N=C, C=C), 1114, 1072, 930 (P-O), 770 (P-C).

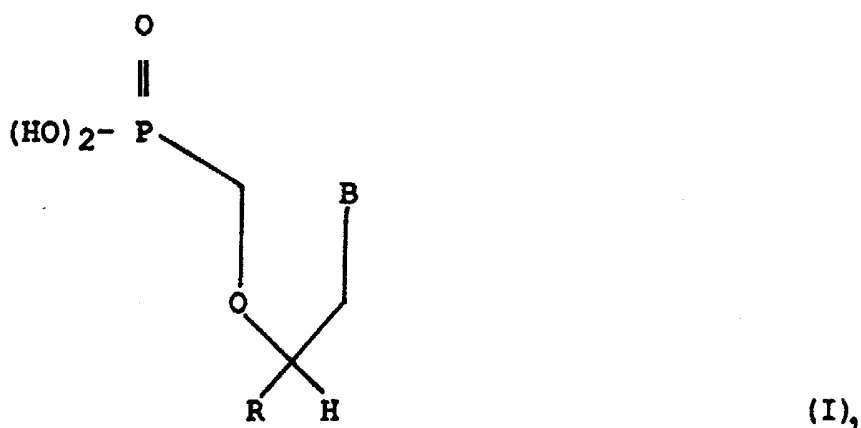
UV (H₂O): 274 nm (ϵ = 9,000),
198 nm (ϵ = 20,200).

MS (FAB): m/e = 319 (MH⁺).

Analýza: vypočteno pro C₉H₁₅N₆O₅P: C, 33,96; H, 4,75; N, 26,40;
nalezeno: C, 33,94; H, 4,65; N, 26,13.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu obecného vzorce I



kde

B je zbytek purinové nebo pyrimidinové báze, vybrané ze skupiny, zahrnující adenin, xanthin, hypoxanthin, guanin, 8-bromguanin, 8-chlorguanin, 8-aminoguanin, 8-hydrazinoguanin, 8-hydroxyguanin, 8-methylguanin, 8-thioguanin, 2-aminopurin, 2,6-diaminopurin, thymin,

- cytosin, uracil, 5-bromuracil, 5-ioduracil, 5-ethyluracil, 5-propyluracil, 5-vinyluracil a 5-(2-bromovinyl)uracil; R je lineární alkyl s 1 až 2 atomy uhlíku, substituovaný skupinou azido nebo amino, lineární nebo větvený alkenyl s 2 až 6 atomy uhlíku, lineární nebo větvený alkynyl s 2 až 6 atomy uhlíku; a jeho monoester, diester odvozený od alkanolů s 1 až 5 atomy uhlíku, odpovídající sůl, odvozená od skupiny, zahrnující ionty alkalických kovů a kovů alkalických zemin nebo amoniových iontů, hydrát, jako monohydrát, dihydrát, trihydrát, a solvát, jako methanolát, ethanolát, propanolát, izopropanolát, butanolát, R nebo S izomer a jejich racemická směs (RS), s předpokladem, že když R je azidomethyl nebo aminoethyl, potom B není zbytek adeninu a když R je azidomethyl nebo azidoethyl, potom B není zbytek cytosinu.
2. Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu podle nároku 1, vzorce I, kde B je guanin-9-yl, adenin-9-yl, uracil-1-yl, thymin-1-yl nebo cytosin-1-yl; R je lineární alkyl s 1 až 2 atomy uhlíku, substituovaný azido nebo amino, lineární alkenyl s 2 až 3 atomy uhlíku nebo lineární alkynyl s 2 až 3 atomy uhlíku.
3. Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu podle nároku 1, vzorce I, kde B je guanin-9-yl, adenin-9-yl, uracil-1-yl, thymin-1-yl nebo cytosin-1-yl; R je $-\text{CH}_2\text{N}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_3$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_2$, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ nebo $-\text{C}\equiv\text{CH}$, řečené sloučeniny jsou R nebo S izomer nebo jejich racemická směs.
4. Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu podle nároku 1, kterými jsou (RS) nebo (R) nebo (S)-9-[(2-vinyl-2-fosfonomethoxy)ethyl]guanin.
5. Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu podle nároku 1, kterými jsou (RS) nebo (R) nebo (S)-9-[(2-vinyl-2-fosfonomethoxy)ethyl]cytosin.
6. Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu podle nároku 1, kterými jsou (RS) nebo (R) nebo (S)-9-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]guanin.
7. Acyklické fosfonomethoxyalkylsubstituované alkenylové a alkinylové deriváty purinu a pyrimidinu podle nároku 1, kterými jsou (RS) nebo (R) nebo (S)-1-[3-azido-2-(fosfonomethoxy)propyl]thymin.
8. Farmaceutická kompozice, **v y z n a č u j í c í s e t í m**, že obsahuje terapeuticky účinné množství antivirové látky podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl, mono nebo diester, hydrát nebo solvát v kombinaci s farmaceuticky přijatelným nosičem.

Konec dokumentu
