



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

235042
(11) (B2)

(51) Int. Cl.³
C 07 D 473/18

(22) Přihlášeno 20 05 82

(21) [PV 4402-83]

(32) (31) (33) Právo přednosti od 21 05 81
(267210) Spojené státy americké

(40) Zveřejněno 13 08 84

(45) Vydáno 15 02 87

(72)

Autor vynálezu

VERHEYDEN JULIEN P., LOS ALTOS, MARTIN JOHN C., REDWOOD CITY
(Sp. st. a.)

(73)

Majitel patentu

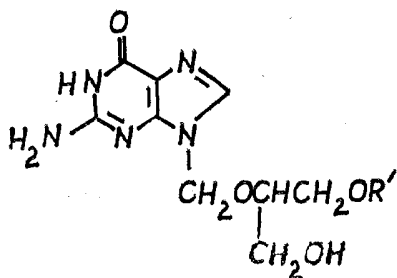
SYNTEX (U.S.A.) INC., PALO ALTO (Sp. st. a.)

(54) Způsob přípravy 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu

1

2

Způsob přípravy 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu a jeho farmaceuticky vhodných solí, při kterém se odstraňuje chránicí skupina ze sloučeniny obecného vzorce



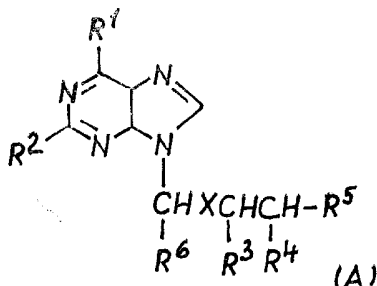
kde znamená R' chránicí skupinu, jako je skupina benzylová, substituovaná případně jednou nebo dvěma alkylovými skupinami nebo alkoxy skupinami vždy s přímým nebo s rozvětveným řetězcem a s 1 až 4 atomy uhlíku, nebo z její soli a popřípadě se 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin převádí na farmaceuticky vhodnou sůl, nebo se sůl převádí na volnou sloučeninu, nebo se sůl převádí na farmaceuticky vhodnou sůl. Připravená sloučenina má protivirové působení.

Vynález se týká způsobu přípravy 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu a jeho farmaceuticky vhodných solí, které jsou vhodné jako protivirové látky.

Virové infekce jsou značně rozšířené a vedou k nejružnějším symptomům. Některým virovým infekcím se snadno předchází obranným mechanismem těla, zatímco jiné mají mnohem závažnější povahu a vedou k trvalým následkům, například k oslepnutí nebo dokonce k úmrtí. Jedním takovým rodem virů, které způsobují závažné infekce, je skupina virů Herpes.

V současné době používaná léčiva pro ošetřování virových infekcí jsou v mnoha případech neúčinná, nebo pokud jsou účinná, musejí se podávat ve velkých dávkách a/nebo v trvalých dávkách, čímž dochází k závažným vedlejším účinkům a/nebo k toxicitě. Proto je potřebný účinný protivirový prostředek, který by byl účinný v menších dávkách než dosud dostupná léčiva, a tak by snižoval nebezpečí vedlejších účinků a toxicitu.

Americký patentový spis číslo 4 199 574 popisuje sloučeniny obecného vzorce A



kde znamená

X atom síry nebo atom kyslíku,
R¹ atom vodíku, atom halogenu, hydroxyskupinu, alkoxy skupinu, azidoskupinu, thioskupinu, alkylthioskupinu, aminoskupinu, alkylaminoskupinu nebo dialkylaminoskupinu,

R² atom vodíku, atom halogenu, alkylthioskupinu, acylaminoskupinu, aminoskupinu nebo azidoskupinu,

R³ atom vodíku, alkylovou skupinu s přímým, rozvětveným nebo cyklickým řetězcem, hydroxyalkylovou skupinu, benzyloxyalkylovou skupinu nebo fenylovou skupinu,

R⁴ atom vodíku, hydroxyskupinu nebo alkylovou skupinu,

R⁵ atom vodíku, hydroxyskupinu, aminoskupinu, alkylovou skupinu, hydroxyalkylovou skupinu, benzyloxy skupinu, benzyloxy skupinu, benzyloxymethylovou skupinu, sulfamoyloxyskupinu, fosfátovou skupinu, karboxypropamoyloxyskupinu, acyloxyskupinu s přímým nebo s cyklickým řetězcem a s 1 až 8 atomy uhlíku, jako například acetoxy skupinu nebo substituovanou karbamoylovou skupinu obecného vzorce



kde znamená

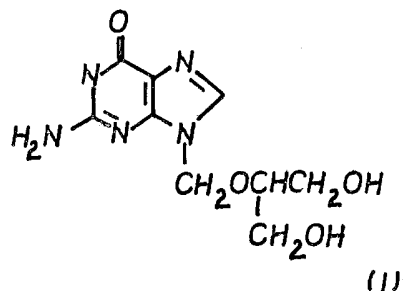
Z alkylovou skupinu, arylovou skupinu nebo aralkylovou skupinu, popřípadě substituovanou alespoň jednou skupinou sulfonylovou, aminoskupinou, karbamoylovou skupinou nebo atomem halogenu,

R⁶ atom vodíku nebo alkylovou skupinu, za podmínky, že v případě, kdy X znamená atom kyslíku, a R², R³, R⁴ a R⁶ znamenají atom vodíku, pak R¹ neznámá aminoskupinu nebo methylaminoskupinu, jestliže R⁵ znamená atom vodíku nebo hydroxyskupinu, nebo jejich soli.

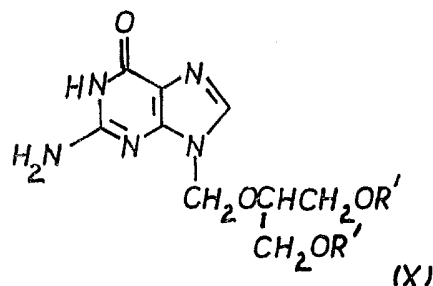
O třídě sloučenin shora uvedeného obecného vzorce A a o jejich farmaceuticky vhodných adičních solích s kyselinami se udává, že mají protivirovou účinnost. Viz například Tetrahedron Letters, **21**, str. 327 až 330 (1980).

Nyní se s překvapením zjistilo, že 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin a jeho soli jsou obzvláště účinnými protivirovými prostředky. Selektivní účinnost této sloučeniny je zřejmá, jestliže se tato sloučenina porovnává se strukturálně nejpodobnější sloučeninou známou z amerického patentového spisu číslo 4 199 574 při protivirových zkouškách, podrobně popsanych v příkladu 5.

Vynález se tedy týká způsobu přípravy 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu vzorce I



tak, že se odstraňují chránicí skupiny ze sloučeniny obecného vzorce X



kde znamená

R' chránicí skupinu, jako je benzylová skupina, případně substituovaná jednou nebo dvěma alkylovými skupinami nebo alkoxy skupinami vždy s přímým nebo rozvětveným řetězcem a s 1 až 4 atomy uhlíku, s vý-

hodou methylovou skupinou nebo methoxy-skupinou, tedy například alkylbenzyllová skupina, dialkylbenzyllová skupina a alkoxybenzyllová skupina nebo dialkoxybenzyllová skupina, nebo z její soli a získaný 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin se převede na farmaceuticky vhodnou sůl nebo se sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu převede na 9-(1,3-dihydroxy)-2-propoxymethylguanin, nebo se sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu převede na farmaceuticky vhodnou sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu.

Výrazem „farmaceuticky vhodná sůl“ se vždy míní soli, které mají biologickou účinnost a vlastnosti volné sloučeniny a které nejsou biologicky nebo jinak nežádoucí. Soli mohou být buď adiční soli s kyselinou, nebo to mohou být soli anorganické s kovy, s výhodou to jsou soli s kovy alkalických zemin. Výhodnými kyselinami pro přípravu solí jsou anorganické kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková, bromovodíková, kyselina sírová, kyselina dusičná, kyselina fosforečná a jako jsou podobné kyseliny a organické kyseliny, jako je například kyselina trifluoroctová, kyselina methansulfonová, ethansulfonová, p-toluensulfonová. Vhodnými zásadami pro přípravu solí jsou organické zásady, anorganické kovové zásady, jako jsou zásadité sloučeniny mědi, stříbra a zásadité sloučeniny alkalických kovů, jako jsou například hydroxidy alkalických kovů, například hydroxid sodný, hydroxid draselný a jako jsou podobné sloučeniny.

Sloučeniny obecného vzorce I, připravené způsobem podle vynálezu a jejich farmaceuticky vhodné soli jsou založeny na objevu, že substitucí 1,3-dihydroxy-2-propoxymethylovou skupinou v poloze 9 guaninového jádra se získají překvapivě vysoce účinné sloučeniny.

Sloučeniny vzorce I a její farmaceuticky vhodné soli mají potenciální protivirové působení při podávání živočichům, zvláště savcům (zvířatům nebo lidem), studenokrevným živočichům, jako jsou ryby a ptákům, zvláště však při podávání lidem. Například sloučenina vzorce I má vynikající působení proti virům Herpes Simplex virus I a II a příbuzným virům, jako jsou cytomegalovirus, Epstein-Barr virus a virus varicella Zoster.

Farmaceutické prostředky jak pro veterinární, tak pro humánní medicínu, obsahující sloučeninu vzorce I, vhodnou pro protivirové použití, se připravují o sobě známými způsoby a mohou obsahovat o sobě známé excipienty. Obecně uznávaný soubor takových způsobů a takových složek je popsán v publikaci Remington's Pharmaceutical Sciences, E. W. Martin (Mark Publ. Co., 15. vydání, 1975).

Farmaceutické prostředky podle vynálezu mohou obsahovat další protivirově účinné látky. Obecně má farmaceutický prostředek

obsahovat hmotnostně 0,1 až 90 % účinné látky.

Sloučenina vzorce I se může podávat parenterálně (například intravenózní, intraperitoneální nebo intramuskulární injekcí), orálně, topicky nebo rektálně, v závislosti na tom, zda se prostředku používá pro ošetření vnitřní nebo zevní virové infekce.

V případě vnitřních infekcí se prostředky podávají orálně nebo parenterálně ve formě dávek, přepočtených na volnou zásadu, přibližně 0,1 až 300 mg/kg tělesné hmotnosti savce, s výhodou 0,1 až 30 mg/kg tělesné hmotnosti savce a v případě lidí se může používat jednotkové dávkovací formy podávané jednou až čtyřikrát denně při množství 1 až 250 mg na dávkovací jednotku.

Pro orální podání mohou jemné prášky nebo granule obsahovat zředovací, dispergační a/nebo povrchově aktivní látky a mohou být obsaženy v doušku vody nebo v sirupu; dále mohou být v kapslích nebo v sáčcích v suchém stavu nebo ve formě vodného roztoku nebo suspenze, přičemž může být současně obsaženo suspenzační činidlo; účinná látka může být v tabletách, které mohou obsahovat také pojídlo a mazadla, nebo mohou být ve formě suspenzí ve vodě nebo v sirupu. Popřípadě nebo nutně mohou takové farmaceutické prostředky obsahovat chuťové látky, konzervační látky, suspenzační činidla, zahušťovadla nebo emulgátory. Výhodné jsou tablety a granule, přičemž mohou být povlečeny.

Pro parenterální podání nebo pro podání ve formě kapek, jako při ošetřování očních infekcí, mohou být účinné látky ve formě vodného roztoku o koncentraci hmotnostně 0,1 až 10 %, s výhodou o koncentraci přibližně hmotnostně 0,1 až 7 %. Roztok může obsahovat antioxidanty, pufrý a podobné látky.

Nebo se pro oční infekce nebo pro jiné venkovní tkáně, například pro ošetřování úst a pokožky, účinná látka vzorce I s výhodou nanáší na infikované místo na těle nemocného topicky ve formě masti, krému, aerosolu nebo prášku, s výhodou však ve formě masti nebo krému. Účinná látka vzorce I může být obsažena v masti, například spolu s ve vodě rozpustnou masťovou látkou nebo v krému, například v krémové hmotě na bázi oleje ve vodě, v koncentraci přibližně 0,01 až 10 %, s výhodou v množství 0,1 až 7 % a především v množství 0,5 procent hmotnost/objem. Kromě toho při virovém onemocnění oka, jako je herpetická keratitis, se může ošetření provádět použitím systému uvolňujícího léčivo popsaného v americkém patentovém spise č. 4 217 898.

Prostředky podle vynálezu jsou také vhodné při ošetřování nehumánních savců, ptáků, například kuřat a studenokrevných živočichů, jako jsou ryby. Virovým onemocněním ptáků, jako je nemoc New Castle,

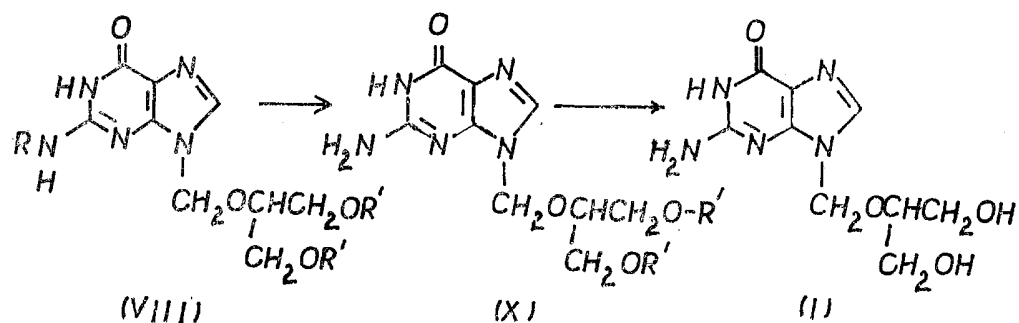
Marekova nemoc a jako jsou podobné nemoci, lze předcházet a/nebo je lze léčit sloučeninou vzorce I, připravenou způsobem podle vynálezu, a to o sobě známými způsoby z veterinární praxe, jako máčením nenasazených vajec do roztoku obsahujícího sloučeninu vzorce I, vstřikováním sloučeniny vzorce I ptákům, přičemž sloučenina vzorce I je ve formě vhodného farmaceutického prostředku nebo přidáváním sloučeniny vzorce I do krmiva nebo do napájecí vody.

Ryby, které žijí ve vymezených prostorech, jako jsou bazény, akvária nebo pěstovací nádrže, se rovněž mohou ošetřovat pro zdolávání virové infekce, jako je infekce

herpesovitým virem, jako je virus vodních dravých ryb (CCV), salomony působené herpesovým virem, onemocnění Nerka virem a jako jsou podobná onemocnění, přidáváním sloučeniny vzorce I přímo do vody bazénu, akvária nebo nádrže pro pěstování ryb nebo vnášením této sloučeniny do krmiva.

Přesný režim podávání sloučeniny vzorce I nebo farmaceutického prostředku, který ji obsahuje, závisí nutně na potřebách jednotlivého ošetřovaného subjektu, na typu ošetření a na úsudku ošetřujícího.

Sloučenina vzorce I se může připravit podle tohoto reakčního schéma



přičemž R' znamená chránicí skupinu, jako je benzylová skupina, případně substituovaná jednou nebo dvěma alkoxy skupinami nebo alkylovými skupinami, jako jsou například skupina benzylová, alkoxybenzylová, dialkoxybenzylová, alkylbenzylová a dialkylbenzylová, přičemž alkylový podíl nebo alkoxy podíl mají přímý nebo větvený řetězec a 1 až 4 atomy uhlíku, jako je skupina methylová, ethylová, n-propylová, isopropylová, n-butylová, isobutylová a terc.-butylová, s výhodou však methoxyskupina nebo methylová skupina.

Benzylové chránicí skupiny symbolu R' se mohou odstranit o sobě známým způsobem ze sloučeniny obecného vzorce X. Jako takové způsoby se uvádějí katalytická hydrogenace, reakce s Lewisovými kyselinami nebo acetolysou, přičemž vznikají sloučeniny obecného vzorce I. Katalytická hydrogenace se obecně provádí v přítomnosti hydrogenačního katalyzátoru, jako je palladium, platina, rhodium nebo nikl na nosičích, jako je uhlík, a v přítomnosti inertního rozpouštědla pro sloučeninu obecného vzorce X. Vodík se zavádí do roztoku pod tlakem 105 až 1400 kPa, s výhodou pod tlakem 210 až 560 kPa. Reakční teplota je zpravidla 0 až 50 °C. Za uvedených podmínek tlaku se palladium na uhlí přidává ve formě suspenze do roztoku sloučeniny obecného vzorce X, rozpuštěné v rozpouštědle, jako je například vodný alkohol s 1 až 4 atomy uhlíku, s výhodou methanol.

Farmaceuticky vhodné soli sloučeniny vzorce I se připravují reakcí sloučeniny vzorce I se vhodnou zásadou nebo se vhod-

nou kyselinou, jak je shora uvedeno. Tato konverze se může provádět v rozpouštědle, přičemž se přidává přibližně stechiometricky ekvivalentní množství zásady nebo kyseliny do sloučeniny vzorce I rozpuštěné ve vhodném rozpouštědle při teplotě 0 až 50 stupňů C.

Podobně se sloučeniny vzorce I mohou uvolňovat ze solí sloučenin vzorce I přidáním stechiometricky ekvivalentního množství zásady do adiční soli s kyselinou, nebo přidáním kyseliny do adiční soli se zásadou sloučeniny vzorce I, rozpuštěné v rozpouštědle při teplotě 0 až 50 °C.

Podobně se sůl sloučeniny vzorce I může převádět na farmaceuticky vhodnou sůl sloučeniny vzorce I, například běžným podvojným rozkladem soli, přičemž se aniont nebo kationt výchozí nahrazuje farmaceuticky vhodným aniontem nebo kationtem. Podvojný rozklad soli zpravidla využívá výhody skutečnosti, že se připravuje méně rozpustná sůl z více rozpustné soli při teplotě podvojného rozkladu 0 až 50 °C.

Následující specifický popis příkladů je určen pro pracovníky v oboru k lepšímu pochopení provádění způsobu podle vynálezu. Není míněn jako jakékoliv omezení vynálezu, pouze vynález objasňuje.

Příklad 1

Do roztoku 9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxy-methyl)guaninu (0,87 g, 2 mmoly) v methylenchloridu (100 ml) při teplotě -78 °C se přidá bromid boritý (4 mmoly). Po 24 ho-

dinách se do roztoku přidá methanol (5 ml) a roztok se odpaří. Zbytek se promyje dvakrát methylenchloridem (20 ml) a pak se překrystaluje z vody, čímž se získá 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin.

Příklad 2

Směs 9-(1,3-dibenzyloxy-2-propoxymethyl)guaninu (0,87 g, 2 mmoly) a 20% hydroxidu paládia Pd(OH)₂ na uhlí (1 g) v ethanolu (20 ml) a cyklohexanu (10 ml) se vaří pod zpětným chladičem po dobu 24 hodin. Roztok se pak zředí vodou (100 ml) a za horka se filtruje. Filtrát se ochladí a krystaly se oddělí. Tak se získá 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin o teplotě tání 250 °C.

Příklad 3

Do roztoku sodné soli 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu (0,83 g, 3 mmoly) ve vodě (10 ml) se přidá chlorid amonný (0,48 g, 9 mmolu) a vzniklý roztok se ochladí na teplotu 0 °C. Krystaly se oddělí filtrací a usuší se. Krystaly se potom rozpustí ve vodě (100 ml) obsahující hydroxid draselný (0,17 g, 3 mmoly). Vzniklý roztok se zmrazí a pak se lyofilizuje, čímž se získá draselná sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu.

Příklad 4

3-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin se rozpustí ve vodě obsahující 1 molekulivalent hydroxidu sodného. Roztok se pak lyofilizuje, čímž se získá sodná sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu ve formě bílého prášku.

Příklad 5

Sodná sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu se rozpustí v minimálním množství vody a chlorovodíkovou kyselinou zředěnou se hodnota pH upraví na 7. Z roztoku vykřystaluje 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin o teplotě tání 250 °C.

Příklad 6

Následující příklad objasňuje způsob přípravy reprezentativních farmaceutických prostředků obsahujících účinnou látku vzorce I.

A. Topický prostředek

Účinná látka	0,2 až 2,0 g
Span 60 (sorbitanmonostearát)	2,0 g
Tween 60 (polysorbát 60)	2,0 g
Minerální olej	5,0 g
Petrolatum	10,0 g
Methylparaben	0,15 g
Propylparaben	0,05 g

BHA (butylovaný hydroxyanisol)	0,01 g
Voda	do 100,00 ml

Všechny složky s výjimkou vody se smíchají a udržují se na teplotě 60 °C za míchání. Pak se přidá dostatečné množství vody o teplotě 60 °C za intenzivního míchání, čímž se získá 100 g krémového prostředku, který se ochladí na teplotu místnosti.

B. Prostředek pro intraperitoneální a intramuskulární vstřikování

Účinná látka	0,5 g
Propylenglykol	20,0 g
Polyethylenglykol	20,0 g
Tween 80 (polysorbát 80)	1,0 g
0,9% fyziologický roztok	do 100,0 ml

Účinná látka se rozpustí v propylenglykolu, polyethylenglykolu 400 a Tweenu 80. Pak se přidá dostatečné množství fyziologického roztoku 0,9% za míchání k získání 100 ml roztoku pro intraperitoneální nebo intramuskulární vstřikování, který se zfiltruje 0,2 mikrometrovým membránovým filtrem a plní se za sterilních podmínek.

C. Prostředek pro intravenózní vstřikování

Účinná látka	0,5 g
0,9% fyziologický roztok	100,0 g

Účinná látka se přidá do 100 ml 0,9% fyziologického roztoku za míchání k získání 100 ml roztoku pro intravenózní vstřikování, který se zfiltruje 0,2 mikrometrovým membránovým filtrem a plní se do obalů za sterilních podmínek.

D. Tablety

	Hmotnostní díly
Účinná látka	200
Stearát hořečnatý	3
Škrob	30
Laktóza	116
Polyvinylpyrrolidon	3

Složky se smíchají a granulují se za použití methanolu jakožto rozpouštědla. Prostředek se pak usuší a zpracuje se na tablety (obsahující 200 mg účinné látky) za použití vhodného tabletovacího stroje.

Příklad 7

Mimořádná protivirová účinnost sloučeniny vzorce I, připravené způsobem podle vynálezu, se dokládá tímto způsobem:

Virus Herpes simplex 2, kmen G, se pro infikování připravuje v HEp-2 buněčných kulturách. Virus se adsorbuje po dobu jedné hodiny, čerstvé prostředí se umístí na buňky a pak se inkubuje při teplotě 35 °C tak dlouho, až jsou všechny buňky infiko-

vány. Buněčná suspenze se zmrazí na teplotu -70°C , nechá se roztát a odstředí se k odstranění zlomků buněk. Kapaliny nad buňkami se dělí na alikvotní podíly a uloží se ve zmrazeném stavu -70°C až do použití. Zředění $10^{6.7}$ kapaliny nad buňkami vytváří 50% infekční dávku buněčné kultury (CCID₅₀) v HEp-2 buňkách a zředění $10^{3.7}$ vytváří 50% letální dávku (LC₅₀) pro myši.

Skupina 20 myších samic Swiss Webster (o hmotnosti 15 až 17 g) se ošetří intraperitoneálně použitím 0,2 ml EMEM obsahujícím 10 LC₅₀/myš viru. Myš ošetřená o $10^{0.5}$ více nebo méně viry, než je dávka 10 LD₅₀, slouží jako kontrola virulence.

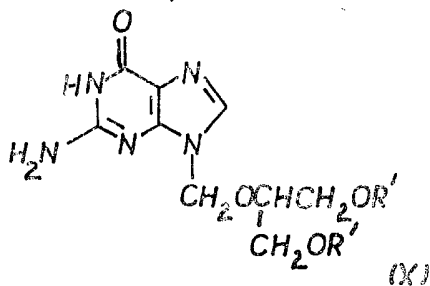
Zkoušená sloučenina	Dávka mg/kg	Přežilé (z 20 myší) dny po podání		
		12	14	21
Neošetřená kontrola		0	0	0
9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)adenin	5	2	2	2
	10	1	0	0
	20	1	1	1
9-(1,3-dibenzoxo-2-propoxymethyl)-6-merkaptopurin	5	2	0	0
	10	0	0	0
	20	1	0	0
9-(1-hydroxy-2-ethoxymethyl)guanin	5	1	1	1
	10	3	3	3
	20	5	4	4
9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin	5	15	14	14
	10	19	18	18
	20	19	18	15

Uvedené výsledky dokládají výrazně vyšší protivirové působení sloučeniny vzorce I,

připravené způsobem podle vynálezu.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob přípravy 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu a jeho farmaceuticky vhodných solí, vyznačený tím, že se odstraňuje chránicí skupina ze sloučeniny obecného vzorce X



kde znamená

R' chránicí skupinu, jako je skupina benzylová, případně substituovaná jednou nebo dvěma alkylovými skupinami nebo alkoxy skupinami vždy s přímým nebo s rozvětveným řetězcem a s 1 až 4 atomy uhlíku, s výhodou methylovou skupinou nebo methoxyskupinou, nebo z její soli a získaný 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guanin se převádí na farmaceuticky vhodnou sůl, nebo se sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu převádí na volnou sloučeninu nebo se sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu převádí na farmaceuticky vhodnou sůl 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl)guaninu.