

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

OPIS PATENTOWY

136 004

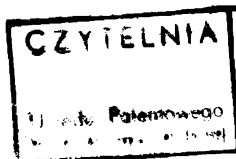
Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 82 05 20 /P. 242101/

Pierwszeństwo: 81 05 21 Stany Zjedno-
czone Ameryki

Zgłoszenie ogłoszono: 84 07 16

Opis patentowy opublikowano: 1987 06 30



Int. Cl.³ C07D 473/18

Twórcy wynalazku:

Julien P.H. Verheyden, John C. Martin

Uprawniony z patentu:

Syntex /U.S.A./ Inc., Palo Alto /Stany Zjednoczone
Ameryki/

SPOSÓB WYTWARZANIA NOWEJ 9-/1,3-DWUHYDROKSY-2-PROPOKSYMETYLO/GUANINY

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowej 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaniny to jest związku o wzorze 1, w którym Y oznacza atom wodoru, a także farmakologicznie dopuszczalnych soli tych związków.

Infekcje wirusowe są szeroko rozpowszechnione i powodują dużą gamę objawów. Niektóre infekcje wirusowe są łatwo zwalczane przez mechanizmy obronne organizmu, podczas gdy inne są znacznie poważniejsze i prowadzą do trwałych uszkodzeń, np. ślepoty, a nawet śmierci. Jedną z takich rodzin wirusów, mogących wywoływać poważne infekcje, są wirusy Herpes.

Obecnie stosowano leki do leczenia infekcji wirusowych są w wielu przypadkach nieskuteczne lub, jeśli działają skutecznie, wymagają podawania w dużych i/lub ciągłych dawkach, co wywołuje poważne działania uboczne i/lub toksyczność. Dlatego istnieje zapotrzebowanie na skuteczny związek o działaniu przeciwwirusowym, skuteczny przy niższych dawkach niż leki obecnie dostępne, zmniejszający tym samym szansę występowania ewentualnych efektów ubocznych i toksyczności.

W opisie patentowym St. Zjedn. Am. nr 4199574 ujawniono związki o ogólnym wzorze 2; w którym X oznacza atom tlenu lub siarki, R¹ oznacza atom wodoru, chlorowca, grupę hydroksylową, alkokeylową, azydową, tio, alkilotio, aminową, alkiloaminową lub dwualkiloaminową, R² oznacza atom wodoru, chlorowca, grupę alkilotio, acyloaminową, aminową lub azydową, R³ oznacza atom wodoru, grupę alkilową o łańcuchu prostym lub rozgałęzionym albo grupę cykloalkilową, hydroksyalkilową, benzyloksyalkilową lub fenyłową, R⁴ oznacza atom wodoru, grupę hydroksylową lub alkilową, R⁵ oznacza atom wodoru, grupę hydroksylową, aminową, alkilową, hydroksyalkilową, benzyloksylową, benzoiloksylową, benzoiloksymetylową, sulfamoioksylową, fosforanową, karboksypropilamyloksylową, grupę alkokeylową o prostym łańcuchu lub cykliczną, np. grupę acetoksylową lub podstawioną grupę karbamoiłową o wzorze NHCO-Z, w którym Z oznacza

grupę alkilową, aryłową lub aralkilową ewentualnie podstawioną jedną lub więcej grupę sulfonylową, aminową, karbamoilową lub atomem chlorowca; R^6 oznacza atom wodoru lub grupę alkilową, przy czym gdy X oznacza atom tlenu, a R^2 , R^3 , R^4 i R^6 oznaczają atomy wodoru, to R^1 ma znaczenie inne niż grupa aminowa lub metyloaminowa gdy R^5 oznacza atom wodoru lub grupę hydroksyloową, lub ich sole.

Klasę związków przedstawionych wzorem 2 i ich farmakologicznie dopuszczalne sole addycyjne opisano aby wykazać ich działanie przeciwwirusowe. Patrz także Tetrahedron Letters, 21, 327-30 /1980/.

Obecnie nieoczekiwanie stwierdzono, że 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guanina i jej sole są szczególnie aktywnymi związkami przeciwwirusowymi. Selekttywne działanie tego związku jest wybitne gdy porównać go z najbardziej zbliżonymi strukturalnie związkami ujawnionymi w opisie patentowym St. Zjedn. Am. nr 4199574.

Cechą sposobu według wynalazku jest to, że dearalkiluje się związek o ogólnym wzorze 3; w którym Y ma wyżej podane znaczenie, a R' oznacza grupę ochronną, taką jak grupa benzylowa, ewentualnie podstawioną jedną lub dwiema grupami alkokeylowymi; w których rodnik alkilowy stanowi prosty lub rozgałęziony łańcuch węglowodorowy o 1-4 atomach węgla, bądź jedną lub dwiema niższymi grupami alkilowymi; będącymi prostymi lub rozgałęzionymi łańcuchami węglowodorowymi o 1-4 atomach węgla, po czym ewentualnie powstały związek o wzorze 1 przeprowadza się w jego farmakologicznie dopuszczalną sól lub przeprowadza się sól związku o wzorze 1 w związek o wzorze 1 lub jego farmakologicznie dopuszczalną sól.

Korzystnymi grupami stanowiącymi podstawniki benzylowej grupy ochronnej R' są grupa metylowa lub metoksylowa.

"Farmakologicznie dopuszczalne sole" oznaczają tu te sole, które odznaczają się działaniem biologicznym i właściwościami wolnego związku i które nie są niepożądane biologicznie ani w żaden inny sposób. Sole te mogą być zarówno solami addycyjnymi z kwasami jak i nieorganicznymi solami metali, korzystnie solami metali ziem alkalicznych. Kwasami odpowiednimi do tworzenia soli są kwasy nieorganiczne, takie jak kwas solny, bromowodorowy, siarkowy, azotowy, fosforowy i podobne, i kwasy organiczne, takie jak kwas trójfluorooctowy, metanoesulfonowy, etanoesulfonowy, p-toluenoesulfonowy i podobne. Odpowiednimi zasadami dla tworzenia soli są zasady organiczne i zasady nieorganiczne takie jak wodorotlenek miedziowy lub srebrowy, a zwłaszcza związki metali alkalicznych, takie jak wodorotlenki metali alkalicznych, np. wodorotlenek sodu, wodorotlenek potasu i podobne.

Benzylowe grupy ochronne usuwa się ze związku o wzorze 3 jedną z kilku metod, w reakcji i katalitycznego uwodorniania z kwasami Lewisa lub na drodze acetolizy.

Katalityczne uwodornienie prowadzi się zwykle w obecności katalizatora uwodorniania, takiego jak pallad, platyna, rod lub nikiel na nośniku takim jak węgiel, i w obecności obojętnego rozpuszczalnika związku o wzorze 1. Wodór dodaje się do roztworu pod ciśnieniem $1,034 \cdot 10^5$ - $13,790 \cdot 10^5$ Pa, korzystnie $2,068 \cdot 10^5$ - $5,516 \cdot 10^5$ Pa. Reakcję prowadzi się zwykle w temperaturze 0-50°C. W korzystnych warunkach, do roztworu związku o wzorze 3 w rozpuszczalniku takim jak wodny roztwór niższego alkanolu, w którym część alkilowa stanowi prosty lub rozgałęziony łańcuch węglowodorowy o 1-4 atomach węgla, korzystnie w wodnym roztworze metanolu, dodaje się zawiesinę palladu na węglu. Korzystnie związek o wzorze 3 kontaktuje się z kwasem Lewisa lub kwasem octowym.

Farmakologicznie dopuszczalne sole związku o wzorze 1 wytwarza się, poddając związek o wzorze 1 reakcji z odpowiednią wspomnianą wyżej zasadą lub kwasem. Przekształcenie to można prowadzić w rozpuszczalniku, dodając w odpowiednim obojętnym rozpuszczalniku w temperaturze 0-50°C do związku o wzorze 1 w przybliżeniu stechiometryczne równoważniki zasady lub kwasu.

Podobnie, związek o wzorze 1 można uwalniać z jego soli przez dodanie stechiometrycznego równoważnika zasady do soli addycyjnej z kwasem lub kwasu do soli addycyjnej związku o wzorze 1 z zasadą; w rozpuszczalniku w temperaturze 0-50°C.

Podobnie, sól związku o wzorze 1 można przekształcać w farmakologicznie dopuszczalną sól związku o wzorze 1, np. przez konwencjonalną reakcję podwójnej wymiany, dzięki czemu anion lub kation wyjściowy soli zastępuje się farmakologicznie dopuszczalnym anionem lub kationem. Reakcja podwójnej wymiany ma tę zaletę, że w temperaturze 0-50°C otrzymuje się w niej sól o mniejszej rozpuszczalności z soli o większej rozpuszczalności.

Związek o wzorze 1 i jego farmakologicznie dopuszczalne sole wyróżniają się tym, że znajdujące się w nich grupa 1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylowa podstawiona w pozycji 9 pierścienia guaniny zapewnia nieoczekiwanie wysoką aktywność.

Związek o wzorze 1 i jego farmakologicznie dopuszczalne sole, podawane zwierzętom, zwłaszcza ssakom /z ludźmi włącznie/, zwierzętom zimnokrwistym takim jak ryby i ptakom, a zwłaszcza ludziom, wykazują silne działanie przeciwwirusowe. Np. związek wytwarzany sposobem według wynalazku wykazuje doskonałe działanie przeciw wirusowi I i II Herpes Simplex i przeciw wirusom pokrewnym, takim jak cytomegalowirus, wirus Epstein-Barra i wirus ospy wietrznej Zoster.

Związek o wzorze 1 można podawać pozajelitowo np. przez wstrzyknięcie dożylną, dostrzewnową lub domięśniową /; doustnie, miejscowo lub doodbytniczo; w zależności od tego, czy preparat stosuje się do leczenia zewnętrznej czy wewnętrznej infekcji wirusowej.

Alternatywnie, w przypadku infekcji oczu lub innych tkanek zewnętrznych, np. jamy ustnej i skóry, preparaty stosuje się na zainfekowaną część ciała pacjenta w postaci maści, kremu, aerozolu lub pudru, korzystnie maści lub kremu. Ze związków wytworzonych sposobem według wynalazku można sporządzać preparaty w postaci maści, np. z rozpuszczalnym w wodzie nośnikiem maści, lub w postaci kremu, np. z podstawa kremu typu emulsji olej w wodzie, o stężeniu substancji czynnej od około 0,01 - 10%, korzystnie 0,1-7%, zwłaszcza 0,5% wagowo/objętościowych. Ponadto wirusowe infekcje oczu, takie jak zapalenie rogówki wywołane wirusem Herpes, można leczyć przy użyciu układu utrzymującego uwalnianie dostarczanego leku, jak opisano w opisie patentowym St. Zjedn. Am. nr 4217898.

Preparaty farmaceutyczne zawierające związki wytworzone sposobem według wynalazku są również przydatne do leczenia ssaków innych lub ludzi, ptaków, np. kurcząt i indyków i zwierząt zimnokrwistych, takich jak ryby. Chorobom wirusowym typu Avian, takim jak choroba New Castle, choroba Mareka i podobne, można zapobiegać i/lub leczyć je związkami wytwarzanymi sposobem według wynalazku sposobami dobrze znanymi w weterynarii, takimi jak zanurzanie niewyklutych jaj w roztworze zawierającym taki związek, wstrzykiwanie ptakom kompozycje zawierające taki związek lub dodając taki związek do pokarmu lub wody do picia.

Ryby, przebywające w ograniczonej przestrzeni takiej jak sadzawki, akwaria lub zbiorniki do ich przechowywania można również leczyć przeciw infekcjom wirusowym, takim jak powodowane przez wirusy typu Herpes, np. wirus zębacza kanałowego /CCV/, wirus Herpes Tosori, wirus Nerka i podobne, przez dodawanie związku wytwarzanego sposobem według wynalazku bezpośrednio do wody w sadzawce, akwarium lub zbiorniku do przechowywania ryb, albo przez wprowadzanie tego związku do karmy.

Dokładny sposób podawania związków wytworzonych sposobem według wynalazku i zawierających go ujawnionych tutaj kompozycji będzie zawsze zależał od potrzeb leczonego pacjenta, rodzaju kuracji i oczywiście doświadczenia leczącego.

Wyjątkowo silne działanie przeciwwirusowe związku o wzorze 1 potwierdzono w następujących próbach.

W hodowlach komórek REp-2 wytwarza się szczep C wirusa Herpes simplex infekowania. Wirus adsorbuje się w ciągu 1 godziny, na komórkach umieszcza się świeżą pożywkę i inkubuje się je w temperaturze 35°C aż wszystkie komórki zostaną zainfekowane. Zawiesinę komórek zamraża się w temperaturze -70°C, stapia i odwirowuje w celu usunięcia resztek komórek. Ciecz z nad osadu dzieli się na szereg próbek i przechowuje w stanie zamrożenia w temperaturze -70°C do dalszego użycia. Rozcieńczenie $10^{8,7}$ cieczy z nad osadu stanowi dawkę infekującą 50% hodowli /CCID₅₀/ w komórkach Hep-2; a rozcieńczenie $10^{3,7}$ stanowi dawkę powodującą 50% śmiertelnych zakażeń /LD₅₀/ u myszy.

Grupy 20 żeńskich osobników myszy szczepu Swiss Webster /15-17 g/ zakaża się dootrzewnowo, stosując 0,2 EMEM zawierającego wirus w ilości 10 LC₅₀/mysz. Myszy zakażone dawką wirusa 10^{0,3} mniejszą lub większą niż dawka 10 LD₅₀ służą jako próba porównawcza jadowności wirusa aby upewnić się, że model działa prawidłowo.

Traktowanie badanymi związkami rozpoczyna się w 6 godzin po zakażeniu. Myszy, podzielone na grupy po 20 sztuk, podaje się podskórnie związki w roztworze soli w dawce 5 mg/kg, 10 mg/kg i 20 mg/kg. Jedną grupę 20 myszy używa się jako porównawczą i podaje jej podskórnie roztwór soli. Traktowanie takie powtarza się w 24, 48, 72 i 96 godzin po zakażeniu.

Jako badane związki stosuje się związek wytwarzany sposobem według wynalazku i trzy związki ujawnione w opisie patentowym St. Zjedn. Am. nr 4199574, o budowie strukturalnej podobnej do budowy związku wytwarzanego sposobem według wynalazku.

T a b e l a 1

Badany związek	Dawka	Ilość osobników /spośród 20/ które przeżyły Ilość dni po zakażeniu		
		<u>12</u>	<u>14</u>	<u>21</u>
Próba porównawcza		0	0	0
9-/1,3-dwubenzoksy-2-propoksymetylo/adenina	5 mg/kg	2	2	2
	10 mg/kg	1	0	0
	20 mg/kg	1	1	1
9-/1,3-dwubenzoksy-2-propoksymetylo/-6-mer-kaptopuryna	5 mg/kg	2	0	0
	10 mg/kg	0	0	0
	20 mg/kg	1	0	0
9-/1-hydroksy-2-etokey-metylo/guanina	5 mg/kg	1	1	1
	10 mg/kg	3	3	3
	20 mg/kg	5	4	4
9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guanina	5 mg/kg	15	14	14
	10 mg/kg	19	18	18
	20 mg/kg	19	18	15

Wyniki przedstawione w tablicy stanowiące porównanie ilości zwierząt, które przeżyły po podaniu im związku wytwarzanego sposobem według wynalazku a ilością zwierząt, które przeżyły po podawaniu trzech znanych związków wskazują wyraźnie na znacznie wyższe działanie przeciwwirusowe związku wytwarzanego sposobem według wynalazku.

Wynalazek ilustrują następujące przykłady.

P r z y k ł a d I. Mieszaninę 0,87 g /2 mmole/ 9-/1,3-dwubenzylloksy-2-propoksymetylo/guaniny i 1 g 20% Pd/OH/₂/C w 20 ml etanolu i 10 ml cykloheksanu ogrzewa się w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną w ciągu 24 godzin. Roztwór rozcieńcza się 100 ml wody i przesącza na gorąco. Przesącz chłodzi się i przesącza, otrzymując kryształy 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaniny.

P r z y k ł a d II. W temperaturze -78°C do roztworu 0,87 g /2 mmole/ 9-/1,3-dwubenzylloksy-2-propoksymetylo/guaniny w 100 ml chlorku metylenu dodaje się 4 mmole BBr₃. Po upływie 24 godzin do roztworu dodaje się 5 ml etanolu, a potem całość odparowuje się. Pozostałość przemywa się chlorkiem metylenu /2 x 20 ml/, a potem rekrytalizuje się ją z wodą, otrzymując 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaninę.

P r z y k ł a d III. Do roztworu 0,63 g /3 mmole/ soli sodowej 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaniny w 10 ml wody dodaje się 0,48 g /9 mmoli/ chlorku amonowego i powstały roztwór ochłodzi się do temperatury 0°C. Powstałe kryształy odsącza się i rozpuszcza w 100 ml wody zawierającej 0,17 g /3 mmole/ KOH. Roztwór zamraża się, a potem liofilizuje; otrzymując sól potasową 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/-guaniny.

P r z y k ł a d IV. W roztworze wodnym, zawierającym 1 równoważnik molowy wodorotlenku sodu; rozpuszcza się 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaninę. Następnie roztwór liofilizuje się; otrzymując sól sodową 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaniny w postaci białego proszku.

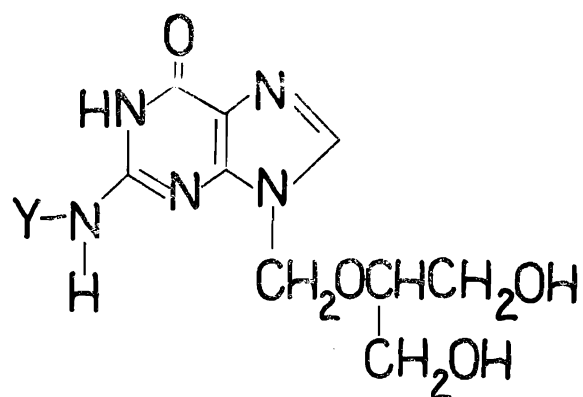
P r z y k ł a d V. Sól sodową 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaniny rozpuszcza się w niewielkiej ilości wody i dodaje rozcieńczony kwas solny; nastawiając pH roztworu na wartość 7. Z roztworu krystalizuje 9-/1,3-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guanina o temperaturze topnienia 250°C /z rozkładem/.

Z a s t r z e ż e n i a p a t e n t o w e

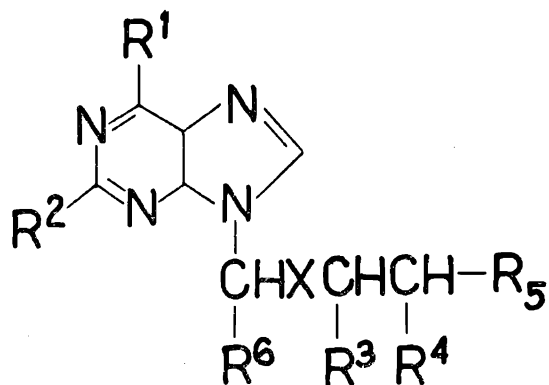
1. Sposób wytwarzania nowej 9-/1,2-dwuhydroksy-2-propoksymetylo/guaniny o ogólnym wzorze 1; w którym Y oznacza atom wodoru; a także farmakologicznie dopuszczalnych soli tego związku; z n a m i e n n y t y m, że dealkiluje się związek o ogólnym wzorze 3; w którym Y ma wyżej podane znaczenie; a R' oznacza grupę ochronną; taką jak grupa benzylowa, ewentualnie podstawiona jedną lub dwiema grupami alkoksylowymi; w których rodnik alkilowy stanowi prosty lub rozgałęziony łańcuch węglowodorowy o 1-4 atomach węgla; bądź jedną lub dwiema niższymi grupami alkilowymi; będącymi prostymi lub rozgałęzionymi łańcuchami węglowodorowymi o 1-4 atomach węgla, po czym ewentualnie powstały związek o wzorze 1 przeprowadza się w jego farmakologicznie dopuszczalną sól lub przeprowadza się sól związku o wzorze 1 w związek o wzorze 1 lub jego farmakologicznie dopuszczalną sól.

2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m; że związek o wzorze 3 poddaje się reakcji z kwasem Lewisa.

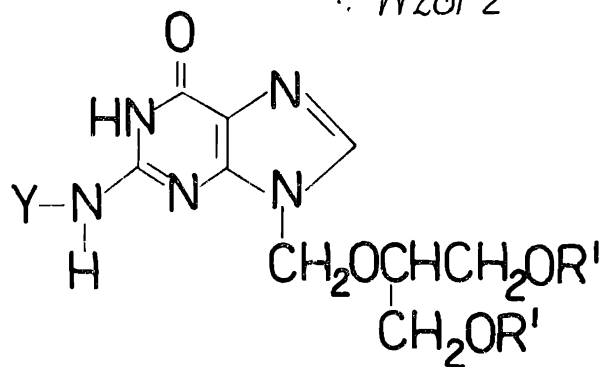
3. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że związek o wzorze 3 poddaje się reakcji z kwasem octowym.



Wzór 1



Wzór 2



Wzór 3