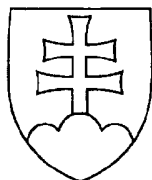


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

- (21) Číslo prihlášky: **985-98**
(22) Dátum podania prihlášky: **14. 2. 1997**
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **1. 7. 2005**
Vestník ÚPV SR č.: **7/2005**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **9600613-5, 9600614-3**
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **16. 2. 1996, 16. 2. 1996**
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **SE, SE**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **2. 12. 1998**
Vestník ÚPV SR č.: **12/1998**
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **27. 6. 2005**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/SE97/00241**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO97/30051**

(11) Číslo dokumentu:

284 613

(13) Druh dokumentu: **B6**

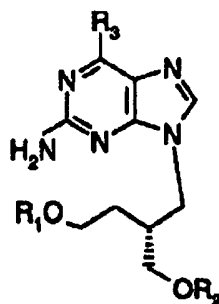
(51) Int. Cl.⁷:

C07D 473/18
C07D 473/32
C07D 473/00
A61K 31/52

- (73) Majiteľ: **MEDIVIR AB, Huddinge, SE;**
(72) Pôvodca: **Engelhardt Per, Stockholm, SE;**
Högberg Marita, Tullinge, SE;
Zhou Xiao-Xiong, Huddinge, SE;
Lindborg Björn, Björnlunda, SE;
Johansson Nils Gunnar, Enhörna, SE;
(74) Zástupca: **Hörmannová Zuzana, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Acyklické nukleozidové deriváty a farmaceutické kompozície s ich obsahom**

- (57) Anotácia:
Acyklické nukleozidové deriváty všeobecného vzorca (I), v ktorom jeden zo substituentov R_1 a R_2 predstavuje skupinu $-C(O)CH(CH(CH_3)_2)NH_2$ alebo skupinu $C(O)CH(CH(CH_3)CH_2CH_3)NH_2$ a druhý zo substituentov R_1 a R_2 predstavuje $-C(O)C_3-C_{21}$ nasýtený alebo monone-nasýtený prípadne substituovaný alkyl a substituent R_3 predstavuje OH skupinu alebo atóm vodíka; a ich farmaceuticky prijateľné soli, ktoré sú účinné ako antivírusové činidlá proti herpesu a retrovírusovým infekciám. Tieto činidlá majú zvýšenú biologickú dostupnosť. Opísané sú tiež farmaceutické kompozície s ich obsahom a ich použitie.



(I)

SK 284613 B6

Oblasť techniky

Vynález sa týka oblasti protivírusových činidiel a najmä derivátov acyklických nukleozidov použiteľných proti herpesu a retrovírusovým infekciám. Vynález sa týka nových zlúčenín, farmaceutických kompozícií, obsahujúcich tieto zlúčeniny a použitia zlúčenín na prípravu liečiv.

Doterajší stav techniky

Praktická užitočnosť mnohých acyklických nukleozidov je obmedzená ich relatívne slabou farmakokinetikou. V snahe zlepšiť biologickú dostupnosť acyklických nukleozidov všeobecne bol preskúmaný rad prekursorových prístupov. Jeden z týchto prístupov zahŕňa prípravu esterových derivátov, najmä alifatických esterov, jednej alebo viacerých hydroxy skupín na acyklickom bočnom reťazci.

Európsky patent EP 165 289 opisuje sľubné antiherpes činidlo 9-[4-hydroxy-(2-hydroxymetyl)butyl]guanín, inak známy ako H2G. Európsky patent EP 186 640 opisuje 6-deoxy H2G. Európsky patent EP 343 133 ukazuje, že tieto zlúčeniny, obzvlášť R-(-) enantiomér, sú navyše účinné proti retrovírusovým infekciám ako je HIV. Rôzne deriváty H2G, ako sú fosfonáty, alifatické estery (napríklad diacetát a dipropionát) a étery hydroxy skupín na acyklickom bočnom reťazci sú opísané v EP 343 133. Tento patent tiež opisuje spôsoby prípravy týchto derivátov, zahrňujúci kondenzáciu acyklického bočného reťazca v N-9 polohe typicky 6-halogénovanej purínovej skupiny alebo alternatívne uzatvorenie imidazolového kruhu pyrimidínovej alebo fura-zano-[3,4-d]pyrimidínovej skupiny, alebo uzatvorenie pyrimidínového kruhu imidazolovej skupiny, kde acyklický bočný reťazec je už prítomný v prekursorovej pyrimidínovej alebo imidazolovej skupine. V najširšom opise oboch týchto spôsobov je acyklický bočný reťazec vopred derivovaný, ale individuálne príklady tiež ukazujú diacyláciu v jednom kroku H2G s anhydridom kyseliny octovej alebo propiónovej a DMF.

Hamden a kol., J. Med. Chem. 32, 1738 (1989) skúmali rad alifatických esterov s krátkym reťazcom acyklického nukleozidu 9-[4-hydroxy-(3-hydroxymetyl)butyl]guanínu, tiež známeho ako penciclovírusu a jeho 6-deoxy analógu. Famciclovírus, komerčné antivírusové činidlo je diacetylový derivát 6-deoxy penciclovírusu.

Benjamin a kol., Pharm. Res. 4, č. 2, 120 (1987) opisuje alifatické estery s krátkym reťazcom 9-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)-metyl]guanínu, inak známeho ako ganciclovírusu. Dipropionátový ester je opísaný ako výhodný ester.

Lake - Bakaar a kol., opisujú v Antimikrob. Agents Chemother. 33, č. 1, 110 - 112 (1989) diacetát a dipropionát derivátov H2G a monoacetát a diacetát derivátov 6-deoxy H2G. Je uvedené, že diacetátové a dipropionátové deriváty H2G prinášajú iba mierne zlepšenie biologickej dostupnosti v porovnaní s H2G.

Medzinárodná patentová prihláška WO 94/24134, publikovaná 27. októbra 1994, opisuje alifatický ester prekursor 6-deoxy N-7 analógu ganciclovírusu, zahrňujúci dipivaloylové, divaleroxylové, monovaleroxylové, monooleoxylové a monostearoxylové estery.

Medzinárodná patentová prihláška WO 93/07163, publikovaná 15. apríla 1993 a Medzinárodná patentová prihláška WO 94/228871 publikovaná 13. októbra 1994, opisujú mono-esterové deriváty nukleozidových analógov odvodené z mono- nenasýtených C₁₈ alebo C₂₀ mastných kyselín. U.S. Patent No. 5,216,142, vydaný 1. júna 1993, tiež

opisuje mono-esterové deriváty mastných kyselín s dlhým reťazcom nukleozidových analógov.

Druhý prístup k vytváraniu prekursorov acyklických nukleozidov zahŕňa prípravu aminokyselinových esterov jednej alebo viacerých hydroxy skupín na acyklickom bočnom reťazci. Európsky patent EP 99 493 opisuje všeobecne aminokyselinové estery acyklovírusov a Európska patentová prihláška EP 308 065, publikovaná 22. marca 1989, opisuje valínové a izoleucínové estery acyklovírusu.

Európska patentová prihláška EP 375 329, publikovaná 27. júna 1990, opisuje aminokyselinové esterové deriváty ganciclovírusov, zahrňujúce divalínové, diizoleucínové, diglycínové a dialanínové esterové deriváty. Medzinárodná patentová prihláška WO 95/09855, publikovaná 13. apríla 1995, opisuje aminokyselinové esterové deriváty penciclovírusu, zahrňujúce monovalínové a divalínové esterové deriváty.

DE 19526163, publikovaná 1. februára 1996 a U.S. patent č. 5,543,414, vydaný 6. augusta 1996, opisujú achi-rálne aminokyselinové estery ganciclovírusu.

Európska patentová prihláška EP 694 547, publikovaná 31. januára 1996, opisuje mono-L-valínový ester ganciclovírusu a jeho prípravu z divalyl-ganciclovírusu.

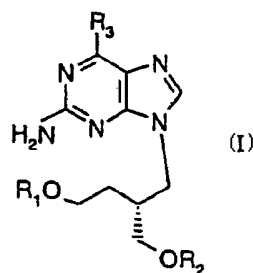
Európska patentová prihláška EP 654 473, publikovaná 24. mája 1995, opisuje rôzne bis aminokyselinové estery derivátov 9-[1',2'-(bishydroxymetyl)-cyklopropán-1'-yl]metylguanínu.

Medzinárodná patentová prihláška WO 95/22330, publikovaná 24. augusta 1995, opisuje alifatické estery, aminokyselinové estery a zmiešané acetát/valínátové estery acyklického nukleozidu 9-[3,3-dihydroxymetyl-4-hydroxy-buterc.1-yl]-guanínu. Táto referencia opisuje, že biologická dostupnosť je redukovaná, keď jeden z valínových esterov trivalínového esterového derivátu je nahradený acetátovým esterom.

Podstata vynálezu

Prihlasovatelia zistili, že diesterové deriváty H2G nesúce špecifické kombinácie aminokyselinových esterov a esterov mastných kyselín sú schopné priniesť významne zlepšenú orálnu biologickú dostupnosť vzhľadom na základnú zlúčeninu (H2G).

Podstatou predloženého vynálezu sú nové zlúčeniny všeobecného vzorca (I)



v ktorom substituent

a) R₁ predstavuje skupinu -C(O)CH(CH(CH₃)₂)NH₂ alebo -C(O)CH(CH(CH₃)CH₂CH₃)NH₂ a R₂ predstavuje -C(O)C₃-C₂₁ alebo predstavuje C₃-C₂₁alkyl, alebo monone-nasýtený C₃-C₂₁alkenyl, prípadne substituovaný jednou až piatimi skupinami vybranými zo súboru, zahrňujúceho hydroxylovú skupinu, C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkoxy, C₁-C₆alkoxy-

-C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkanoyl, skupinu amino, atóm halogénu, skupinu kyano, azido, oxo, merkaptó a nitro;

b) R₁ predstavuje -C(O)C₃-C₂₁ alebo predstavuje C₃-C₂₁alkyl alebo mononenasýtený C₃-C₂₁alkenyl, prípadne substituované jednou až piatimi skupinami vybratými zo súboru, zahŕňajúceho hydroxylovú skupinu, C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkoxy, C₁-C₆alkoxy-C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkanoyl, skupinu amino, atóm halogénu, skupinu kyano, azido, oxo, merkaptó a nitro,

R₂ predstavuje skupinu -C(O)CH(CH(CH₃)₂)NH₂ alebo -C(O)CH(CH(CH₃)CH₂CH₃)NH₂; a

R₃ predstavuje skupinu -OH alebo jej tautoméru formu =O a/alebo atóm vodíka;

a jej farmaceuticky prijateľné soli.

Predmetom vynálezu je i farmaceutická kompozícia, ktorá zahŕňa zlúčeninu všeobecného vzorca (I) spolu s farmaceutickým nosičom alebo rozpúšťadlom.

Ďalším predmetom vynálezu je použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu virálnych infekcií, ako sú napríklad herpes infekcie zahŕňajúce infekciu vírusom Varicella zoster, vírusom Herpes simplex typu 1 a 2, vírusom Epstein - Barr alebo vírusom Herpes typ 6 (HHV-6) a typ 8 (HHV-8).

Výhodný účinok na orálnu biologickú dostupnosť zmiešaných esterov masných kyselín a aminokyselín podľa vynálezu je obzvlášť neočakávaný v porovnaní s orálnou biologickou dostupnosťou zodpovedajúcich esterov masných kyselín. Na základe výsledkov testov, založených na odbere moču (tabuľka 1A) alebo hladiny H2G v plazme (tabuľka 1B) pri krysiach, ani mono- ani diestery masných kyselín H2G neprinášajú žiadne zlepšenie orálnej biologickej dostupnosti vzhľadom na východiskovú zlúčeninu H2G. Distearanový derivát priniesol dokonca významne nižšiu biologickú dostupnosť ako základná zlúčenina, čo indikovalo, že stearanový ester môže byť škodlivý na zlepšenie orálnej biologickej dostupnosti H2G.

Zistilo sa, že konverzia jedného alebo oboch hydroxylov istých ďalších acyklických nukleozidových analógov na zodpovedajúce valínové alebo divalínové estery zlepšuje biologickú dostupnosť. Konverzia H2G na zodpovedajúce mono- alebo divalylové esterové deriváty priniesla podobné zlepšenie biologickej dostupnosti vzhľadom na východiskovú zlúčeninu. Vzhľadom na to, že deriváty H2G na základe masných kyselín sú preukázateľne nepriaznivé na zlepšovanie biologickej dostupnosti, bolo nečakané, že zmiešané diesterové deriváty H2G na základe aminokyselín/masných kyselín môžu priniesť zlepšenie alebo porovnateľnú orálnu biologickú dostupnosť vzhľadom na orálnu biologickú dostupnosť valínových diesterových derivátov H2G, meranú testami, založenými na odbere moču a určovaní hladiny látky v plazme.

Tabuľka 1A

R ₁ skupina	R ₂ skupina	Biologická dostupnosť*
atóm vodíka	Atóm vodíka	8 %
atóm vodíka	Stearoyl	12 %
stearoyl	Stearoyl	1 %
valyl	atóm vodíka	29 %
valyl	valyl	36 %
valyl	stearoyl	56 %

* pozri biologický príklad 1 uvedený kvôli detailom

Tabuľka 1B

R ₁ skupina	R ₂ skupina	Biologická dostupnosť*
atóm vodíka	atóm vodíka	3,8 %
atóm vodíka	stearoyl	1,9 %
stearoyl	stearoyl	0 %
valyl	atóm vodíka	31,3 %
valyl	valyl	35,0 %
valyl	stearoyl	29 %

* pozri biologický príklad 2 uvedený kvôli detailom

Vynález sa tiež týka farmaceutických kompozícií obsahujúcich zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a ich farmaceuticky prijateľných soli spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom. Ďalšie predmety vynálezu zahŕňujú zlúčeniny všeobecného vzorca (I) a ich farmaceuticky prijateľné soli na použitie pri liečení a použití týchto zlúčenín a soli pri príprave liekov na liečenie alebo prevenciu vírusovej infekcie u človeka alebo zvierat.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú silné protivírusové činidlá, najmä proti herpes infekcii, ako sú infekcie, spôsobené vírusom Varicella zoster, vírusom Herpes simplex typu 1 a 2, vírusom Epstein - Barr, vírusom Herpes typ 6 (HHV-6) a typ 8 (HHV-8). Zlúčeniny sú obzvlášť použiteľné proti infekciám vírusom Varicella zoster ako je pásový opar u starých osôb, zahŕňajúci postherpetickú neuralgiu alebo ovčie kiahne u mladých osôb, kde trvanie a sila ochorenia môže byť znížená o niekoľko dní. Infekcie vírusom Epstein - Barr, ovplyvňujúce liečením zlúčeninami podľa vynálezu, zahŕňujú infekčnú mononukleózu/glandulárnu (žľazovú) horúčku, ktoré prv neboli liečiteľné, ale ktoré môžu spôsobiť mnohomesačnú školskú neschopnosť u dospievajúcich.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú tiež účinné proti istým retrovírusovým infekciám, hlavne SIV, HTV-1 a HIV-2 a proti infekciám, pri ktorých je indikovaný transaktívny vírus.

V súlade s tým sa ďalší predmet vynálezu týka spôsobu prevencie alebo liečenia vírusovej infekcie u človeka alebo zvierat, zahŕňajúci podávanie účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli človeku alebo zvierat.

Skupina R₃ je výhodne hydroxy alebo jej tautómér = O tak, že základná časť zlúčeniny podľa vynálezu je prirodzený guanín, napríklad v prípade, že bočný reťazec je štepený in vivo. Alternatívne môže R₃ byť atóm vodíka, čo definuje všeobecne rozpustnejší 6-deoxy derivát, ktorý môže byť oxidovaný in vivo (napríklad xantín oxidázou) na guanínovú formu.

Zlúčenina všeobecného vzorca (I) môže byť prítomná v racemickej forme, čo znamená, že je zmesou 2R a 2S izomérov. Výhodne však zlúčenina všeobecného vzorca (I) obsahuje 70 %, výhodne aspoň 90 % R formy, napríklad viac ako 95 %. Najvýhodnejšia je zlúčenina všeobecného vzorca (I) v enantioméne čistej R forme.

Aminokyselina skupiny R₁/R₂ je výhodne odvodená od L-aminokyseliny.

Masná kyselina skupiny R₁/R₂ má výhodne celkovo párny počet atómov uhlíka, najmä je predstavovaná dekanoylom (C₁₀), laurylom (C₁₂), myristoylom (C₁₄), palmitoylom (C₁₆), stearoylom (C₁₈) alebo eikosanoylom (C₂₀). Ďalšie použiteľné R₁/R₂ skupiny zahŕňujú butyryl, hexanoyl, oktanoyl alebo behenoyl (C₂₂). Ďalšie použiteľné R₁/R₂ skupiny zahŕňujú skupiny odvodené z kyselín myristoleovej, myristelaidovej, palmitoleovej, palmitelaidovej, n6-oktadekánovej, olejovej, elaidovej, gandovej, erukovej a

lebo brazidovej kyseliny. Mononenásytené estery mastných kyselín majú typicky dvojité väzby v transkonfigurácii, výhodne v ω -6, ω -9 alebo ω -11 polohe, v závislosti od ich dĺžky. Výhodne je R_1/R_2 skupina odvodená od mastnej kyseliny, ktorá obsahuje C_9 až C_{17} nasýtený alebo n:9 mononenásytený alkyl.

Nasýtená alebo nenasýtená mastná kyselina alebo R_1/R_2 môžu prípadne byť substituované až piatimi podobnými alebo odlišnými substituentmi nezávisle zvolenými zo súboru zahrnujúceho skupiny ako sú hydroxy, C_1 - C_6 -alkyl, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 alkoxy, C_1 - C_6 alkyl, C_1 - C_6 alkanoyl, amino, halo, kyano, azido, oxo, merkaptó, nitro a podobne.

Najvýhodnejšie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) sú tie zlúčeniny, v ktorých R_1 je $-C(O)CH(CH_3)_2NH_2$ alebo $C(O)CH(CH_3)CH_2CH_3NH_2$ a R_2 je $-C(O)C_9$ - C_{17} nasýtený alkyl.

Výraz „nižší alkyl“, tak ako sa tu používa, znamená alkylový radikál s priamym alebo rozvetveným reťazcom, obsahujúci od 1 do 7 uhlíkových atómov, ktorý môže predstavovať, bez toho, aby bol tým obmedzený, metyl, etyl, n-propyl, izo-propyl, n-butyl, izo-butyl, sek.butyl, terc.-butyl, n-pentyl, 1-metylbutyl, 2,2-dimetylbutyl, 2-metylpentyl, 2,2-dimetylpropyl, n-hexyl a podobne.

Výraz „N-chrániaca skupina“ alebo „N-chránený“, tak ako sa tu používa, znamená tie skupiny, ktorých cieľom je chrániť N-koniec aminokyseliny alebo peptidu, alebo chrániť aminoskupinu proti nežiaducej reakcii v priebehu procedúry syntézy. Bežne používané N-ochranné skupiny sú opísané v Greene, „Protective Groups in Organic Synthesis“, (John Wiley and Sons, New York, 1981), ktorá je tu zahrnutá ako referencia. N-ochranné skupiny zahŕňujú acylové skupiny ako je formyl, acetyl, propionyl, pivaloyl, terc.-butylacetyl, 2-chlóracetyl, 2-brómacetyl, trifluóracetyl, trichlóracetyl, ftalyl, o-nitrofenoxycetyl, α -chlórbutyl, benzoyl, 4-chlórbenzoyl, 4-brómbenzoyl, 4-nitrobenzoyl a podobne; sulfonylové skupiny ako je benzénsulfonyl, p-toluénsulfonyl a podobne, karbaminan vytvárajúci skupiny ako je benzyloxykarbonyl, p-chlórbenzyloxykarbonyl, p-metoxibenzyloxykarbonyl, p-nitrobenzyloxykarbonyl, 2-nitrobenzyloxykarbonyl, p-brómbenzyloxykarbonyl, 3,4-dimetoxybenzyloxykarbonyl, 4-metoxibenzyloxykarbonyl, 2-nitro-4,5-dimetoxybenzyloxykarbonyl, 3,4,5-trimetoxybenzyloxykarbonyl, 1-(p-bifenyl)-1-metyletoxykarbonyl, α,α -dimetyl-3,5-dimetoxybenzyloxykarbonyl, benzhydrixykarbonyl, terc.-butoxykarbonyl, diizopropylmetoxykarbonyl, izopropoxykarbonyl, etoxykarbonyl, metoxykarbonyl, allyloxykarbonyl, 2,2,2-trichlóretoxykarbonyl, fenoxycarbonyl, 4-nitrofenoxycarbonyl, fluorenyl-9-metoxycarbonyl, cyklopentyloxykarbonyl, adamantyloxykarbonyl, cyklohexyloxykarbonyl, fenyltiokarbonyl a podobne; alkylové skupiny ako je benzyl, trifenylmetyl, benzyloxymetyl a podobne; a silylové skupiny ako je trimetylsilyl a podobne. Výhodné N-ochranné skupiny zahŕňujú formyl, acetyl, benzoyl, pivaloyl, terc.butylacetyl, fenylsulfonyl, benzyl, terc.-butoxykarbonyl (BOC) a benzyl-oxykarbonyl (Cbz).

Výraz „aktivovaný esterový derivát“, tak ako sa tu používa, znamená halidy kyselín ako sú chloridy kyselín a aktivované estery zahrnujúce, ale nie tým obmedzené, anhydridy odvodené od kyseliny mravečej a kyseliny octovej, anhydridy odvodené od alkoxykarbonylhalidov ako je izobutyloxykarbonylchlorid a podobne, estery odvodené od N-hydroxysukcinimidu, estery odvodené od N-hydroxyftalimidu, estery odvodené od N-hydroxybenzotriazolu, estery odvodené od N-hydroxy-5-norbornén-2,3-dikarboxamidu, estery odvodené od 2,4,5-trichlórfenylu a podobne.

Výhodné zlúčeniny všeobecného vzorca (I) zahŕňujú:

(R)-9-[2-(butyryloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(4-acetylbutyryloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(hexanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(oktanoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(dekanoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(dodekanoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(tetradekanoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(hexadekanoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(oktadekanoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(eikosanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(dokosanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-((9-tetradecenoyl)oxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((9-hexadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-((6-oktadecenoyl)oxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-((9-oktadecenoyl)oxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((11-eikosanoyl)-oxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((13-dokosenoyl)-oxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-2-amino-9-[2-(butyryloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(4-acetylbutyryloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(hexanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(oktanoyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(dekanoyloxymetyl)-butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(dodekanoyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(tetradekanoyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(hexadekanoyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(oktadekanoyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(eikosanoyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(eikosanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(dokosanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-((9-tetradecenoyl)-oxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-((9-hexadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín,

(R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-((6-oktadecenoyl)-oxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-((9-oktadecenoyl)-oxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-((11-eikosenoyl)oxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín alebo
 (R)-2-amino-9-[2-((13-dokosenoyl)oxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín
 a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Ďalšie výhodné zlúčeniny zahŕňujú:

(R)-9-[2-(butyryloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(4-acetylbutyryloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(hexanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(oktanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(dekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(dodekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(tetradekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(hexadekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(oktadekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(eikosanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(eikosanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(dokosanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((9-tetradecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((9-hexadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((6-oktadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((9-oktadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((11-eikosenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-((13-dokosenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-2-amino-9-[2-(butyryloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(4-acetylbutyryloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(hexanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(oktanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(dekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(dodekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(tetradekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(hexadekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(oktadekanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(eikosanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-(dokosanoyloxy)butyl]-4-(L-valyloxy)butyl]purín,

(R)-2-amino-9-[2-((9-tetradecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-((9-hexadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-((6-oktadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-((9-oktadecenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-((11-eikosenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín alebo
 (R)-2-amino-9-[2-((13-dokosenoyl)oxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín
 a ich farmaceuticky prijateľné soli.

Ďalšie výhodné zlúčeniny všeobecného vzorca (I) zahŕňujú:

(R)-9-[4-(butyryloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(4-acetylbutyryloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(hexanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(oktanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(dekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(dodekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(tetradekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(hexadekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(oktadekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(eikosanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(dokosanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-((9-tetradecenoyl)oxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-((9-hexadecenoyl)oxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-((6-oktadecenoyl)oxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-((9-oktadecenoyl)oxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-((11-eikosenoyl)oxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-((13-dokosenoyl)oxy)-2-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-2-amino-9-[4-(butyryloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(4-acetylbutyryloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(hexanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(oktanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(dekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(dodekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(tetradekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(hexadekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(oktadekanoyloxy)-2-(L-valyloxy)butyl]purín,

(R)-2-amino-9-[4-(eikosanoxyloxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-(dokosanoxyloxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-((9-tetradecenyl)oxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-((9-hexadecenyl)oxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-((6-oktadecenyl)oxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-((9-oktadecenyl)oxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[4-((11-eikosenyl)oxy)-2-(L-valyloxyl)butyl]purín,
 (R)-2-amino-9-[2-((13-dokosenyl)oxymetyl)-2-(L-valyloxyl)butyl]purín alebo
 ich farmaceuticky prijateľné soli.

Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) môžu vytvárať soli, ktoré predstavujú ďalší predmet vynálezu. Vhodné farmaceuticky prijateľné soli zlúčenín všeobecného vzorca (I) zahŕňajú soli organických kyselín, najmä karboxylových kyselín, zahrnujúce, bez toho, aby tým boli obmedzené, acetát, trifluoracetát, mliečnan, glukonát, citrónan, vínian, maleinán, malónan, pantotenan, izetionan, adipan, alginan, aspartan, benzoan, mäslnan, diglukonát, cyklopentan, glukohexpanan, glycerofosfát, šťavelan, heptanoán, hexanoán, fumarán, nikotínan, palmoát, pektínan, 3-fenylpropionan, pikran, pivaloan, proprionan, vínian, laktobionan, pivólát, ester kyseliny gáľovej, undekanoan a jantaran, soli organických sulfónových kyselín ako je metánsulfonan, etánsulfonan, 2-hydroxyetánsulfonan, gáľorsulfonan, 2-naftalén-sulfonan, benzénsulfonan, p-chlórbenzénsulfonan a p-toluénsulfonan, a soli anorganických kyselín ako je hydrochlorid, hydrobromid, hydrojodid, síran, kyslý síran, hemisulfát, tiociranát, persíran a soli kyselín fosforečnej a sírovej. Výhodné sú soli kyseliny chlorovodíkovej.

Zlúčeniny všeobecného vzorca (I) môžu byť izolované vo forme hydrátu. Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť izolované v kryštalickej forme, výhodne ako homogénne kryštály, a preto sa ďalší predmet vynálezu týka zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ktorá sa nachádza v zásade čistej kryštalickej forme, zahrnujúcej viac ako 70 %, výhodne viac ako 90 % homogénneho kryštalického materiálu, napríklad viac ako 95 % homogénneho kryštalického materiálu.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú obzvlášť vhodné na orálne podávanie, ale môžu sa tiež podávať rektálne, vaginálne, nazálne, topicky, transdermálne alebo parenterálne, napríklad intramuskulárne, intravenózne alebo epidurálne. Zlúčeniny sa môžu podávať samotné, napríklad v kapsule, ale všeobecne sa podávajú spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom. Vynález sa tiež týka spôsobu prípravy farmaceutických kompozícií, obsahujúcich zlúčeninu všeobecného vzorca (I) alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ spoločne s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo vehikulom.

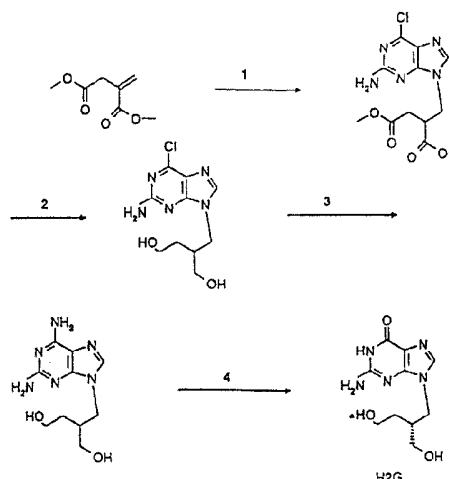
Orálne prípravky sú výhodne pripravené v jednotkovej dávkovej forme ako sú kapsuly alebo tabletky, používajúce konvenčné nosiče alebo väzobné prísady ako je stearan horečnatý, krieda, škrob, laktóza, vosk, guma alebo želatína. Môžu sa použiť liposómy alebo syntetické alebo prírodné polyméry ako je HPMC alebo PVP, aby sa vytvoril prípravok s predĺženým uvoľňovaním. Alternatívne prípravok môže byť podávaný ako nosné alebo očné kvapky, sirup, gél alebo krém, zahrnujúce roztok, suspenziu, emulziu olej vo vode alebo voda v oleji, a to v konvenčných vehikulách

ako je voda, fyziologický roztok, etanol, rastlinný olej alebo glycerín, prípadne s ochucovacím a/alebo konzervačným a/alebo emulzifikačným činidlom.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu podávať v dennej dávke všeobecne v rozmedzí 0,1 až 200 mg/kg/deň, výhodne 0,5 až 100 mg/kg/deň, výhodnejšie 10 až 50 mg/kg/deň, napríklad 10 až 25 mg/kg/deň. Typická dávka pre normálnu dospelú osobu bude zhruba 50 až 500 mg, napríklad 300 mg, raz alebo dvakrát za deň pre herpes infekciu a 2 až 10 násobok tejto dávky pre infekciu HIV.

Ako je bežné pri antivírusovom liečení, zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu podávať v kombinácii s inými antivírusovými činidlami, ako je acyklovírus, valcyklovírus, penciclovírus, famciclovírus, ganciclovírus a ich prekurzorov, cidofovírus, foscarnet a podobne na indikáciu herpes a AZT, ddI, ddC, d4T, 3TC, foscarnet, ritonavírus, indinavírus, saquinavírus, delaviridín, Vertex VX 478, Agouron AG1343 a podobne pre retrovírusové indikácie.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu pripraviť od začiatku alebo esterifikáciou východiskovej H2G zlúčeniny, ktorá je pripravená napríklad syntézou opísanou v Európskom patente EP 343 133, ktorý je zahrnutý ako referencia. Typická reakčná schéma na prípravu H2G je uvedená ďalej:



Kondenzácia v kroku 1 je typicky vykonávaná s bázickým katalyzátorom, ako je NaOH alebo Na₂CO₃, v rozpúšťadle ako je DMF. Krok 2 zahrnuje redukciu, ktorá sa môže vykonávať LiBH₄/tetrahydrofuránom v rozpúšťadle ako je terc.BuOH. Substitúcia chlóru v kroku 3 amino skupinou sa môže vykonávať pod tlakom s amóniom. Krok 4 používa adenosín deaminázu, ktorá môže byť výhodne imobilizovaná na pevnom nosiči. Ochladzovanie reakčnej zmesi dovoľuje, aby nezreagovaný izomerický prekurzor zostal v roztoku, čím sa zvýši čistota.

Východiskové materiály pre zlúčeniny podľa vynálezu, v ktorých R₃ je atóm vodíka, sa môžu pripraviť tak, ako je opísané v Európskom patente EP 186 640, ktorého obsah je zahrnutý ako referencia. Tieto východiskové materiály môžu byť acylované ako je ďalej opísané pre H2G, prípadne po ochrane purínovej 2-amino skupiny konvenčnou N-ochrannou skupinou, ako bolo definované, najmä BOC (terc. BuO-CO-), Z (BnO-CO-) alebo Ph₃C-.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť pripravené z H2G ako je opísané v schémach A a B.

A. Priamy spôsob acylácie

Schéma A

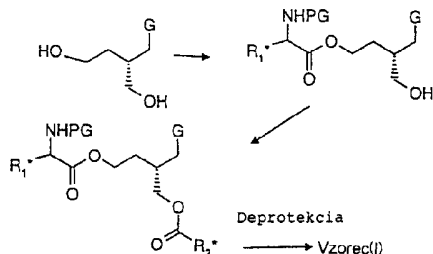


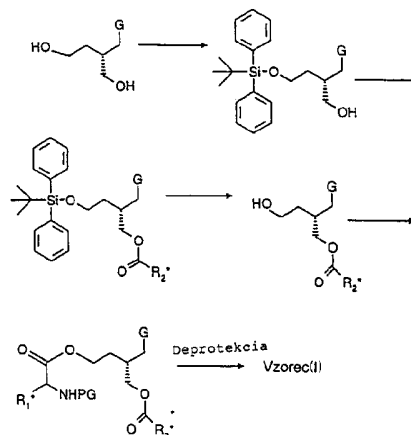
Schéma A ukazuje prípravu zlúčeniny, v ktorej R₁ je odvodený od aminokyseliny a R₂ je odvodený od mastnej kyseliny, ale opačná schéma je použiteľná na zlúčeniny, v ktorých R₁ je odvodený od mastnej kyseliny a R₂ je odvodený od esteru aminokyseliny. V konkrétnom variante znázornenom v schéme A uvedenej skôr je G guanín alebo 6-deoxyguanín. PG je prípadná N-ochranná skupina alebo atóm vodíka. R₁* je valínový alebo izoleucínový bočný reťazec a R₂* je reťazec mastnej kyseliny. Ako východiskový materiál je znázornený H2G, ale môže ním byť prirodzene H2G chránený v polohe R₃ alebo 2 purínu konvenčnou N-ochrannou skupinou (nie je znázornená). H2G (derivát) reaguje v prvom kroku s aktivovaným derivátom R₁ α-aminokyseliny, ako je ďalej opísané, v rozpúšťadle ako je dimetylformamid alebo pyridín, čo dá monoacylovaný produkt. R₁ α-aminokyselina môže byť vhodne N-chránená pomocou N-BOC alebo N-CBz a podobne. Za riadených podmienok môže byť prvá acylácia vykonaná tak, aby prevažne nastávala v bočnom reťazci 4-hydroxy skupiny na bočnom reťazci H2G. Tieto riadené podmienky môžu byť dosiahnuté napríklad ovládaním koncentrácie reagentov alebo rýchlosťou pridávania, obzvlášť acylačného činidla, znížením teploty alebo voľbou rozpúšťadla. Reakcia môže byť nasledovaná TLC kvôli monitorovaniu riadených podmienok.

Po čistení sú R₁ monoacylované zlúčeniny ďalej acylované na bočnom reťazci 2-CH₂OH skupiny vhodným derivátom aktivovanej mastnej kyseliny, čo dá diacylované produkty použitím podobných procedúr ako v prvom esterifikačnom kroku. Diesterové produkty sú následne podrobené konvenčnému deprotektčnému pôsobeniu napríklad trifluóroctovou kyselinou, HCl (aq)/dioxánom alebo hydrogenáciou v prítomnosti katalyzátora, čo dá požadovanú zlúčeninu všeobecného vzorca (I). Zlúčenina môže byť vo forme soli v závislosti od podmienok deprotektácie.

Aktivovaný R₁/R₂ derivát kyseliny, použitý v rôznych acyláciách, môže zahŕňať napríklad halid kyseliny, anhydrid kyseliny, aktivovaný ester kyseliny alebo kyselinu v prítomnosti väzobného reagentu, napríklad dicyklohexylkarbodiimidu, kde „kyselina“ v každom z prípadov predstavuje zodpovedajúcu R₁/R₂ aminokyselinu alebo R₁/R₂ mastnú kyselinu. Reprezentatívne aktivované deriváty kyselín zahŕňujú chlorid kyseliny, zmiešané anhydridy odvodené od kyseliny mravčej a octovej, anhydridy odvodené od alkoxykarbonyl halidov ako je izobutyloxykarbonylchlorid a podobne, estery odvodené od N-hydroxysukcinamidu, estery odvodené od N-hydroxyftalimidu, estery odvodené od N-hydroxy-5-norbornén-2,3-dikarboxamidu, estery odvodené od 2,4,5-trichlórfenolu a podobne.

B. Reakcia s ochranou 4-hydroxy skupiny bočného reťazca

Schéma B



v ktorom G, PG, R₁* a R₂* sú ako bolo opísané pre schému A.

Schéma B bola exemplifikovaná s odvolaním na prípravu zlúčeniny, v ktorej R₁ je odvodený z aminokyseliny a R₂ je odvodený z esteru mastnej kyseliny, ale opačná schéma je aplikovateľná na zlúčeniny, v ktorých R₂ je odvodený z aminokyseliny a R₁ je odvodený z mastnej kyseliny. Táto schéma spočíva na miestne selektívnej ochrane 4-hydroxy skupiny bočného reťazca H2G objemnou ochrannou skupinou. V schéme B je skupina znázornená ako terc.-butyldifenylsilyl, ale môžu sa použiť iné miestne selektívne ochranné skupiny ako je trityl, 9-(9-fenyl)xantenyl, 1,1-bis(4-metylfenyl)-1'-pyrenylmetyl. Výsledný produkt je acylovaný v 2-hydroxymetyl skupine bočného reťazca použitím podobných reagentov a spôsobov, ako to bolo opísané pre schému A, ale v ktorom aktivovaný derivát kyseliny je R₂ mastná kyselina, napríklad chlorid kyseliny myristovej, stearovej, olejovej, elaidovej a podobne. Teda monoacylované zlúčeniny sú podrobené zodpovedajúcemu odstráneniu ochrannej skupiny, ktorá odstráni 4-hydroxy ochrannú skupinu bočného reťazca, čo sa môže vykonať vysoko selektívne s takými reagentmi ako sú v závislosti od miestne selektívnej ochrannej skupiny HF/pyridín a podobne a manipuláciu s reakčnými podmienkami, ako je koncentrácia reagentov, rýchlosť ich pridávania, teplota a rozpúšťadlo a pod., ako bolo povedané skôr. Voľná 4-hydroxy skupina bočného reťazca je acylovaná aktivovanou α-aminokyselinou podobným spôsobom, ako bolo opísané v schéme A, uvedenej skôr.

Ďalšie techniky na vytvorenie esteru aminokyseliny R₁/R₂, napríklad v schémach A, B, C alebo D, uvedených v tejto prihláške, zahŕňujú spôsob používajúci 2-oxa-4-azacykloalkán-1,3-dión, opísaný v Medzinárodnej patentovej prihláške č. WO 94/29311.

Ďalšie techniky na vytvorenie esteru mastnej kyseliny R₁/R₂, napríklad v schémach A, B, C alebo D, uvedených v tejto prihláške, zahŕňujú enzymatickú cestu opísanú v Preparative Biotransformations 1,11,8 (Ed. S. M. Roberts, J. Wiley a Son, NY. 1995) s lipázou ako je SP 435 imobilizovaná Candida antarctica (Novo Nordisk), prasačia pankreatická lipáza alebo lipáza Candida rugosa. Enzymatická acylácia je obzvlášť vhodná, ak sa požaduje vylúčiť N-ochranu a odstraňovanie ochrannej skupiny na ďalších acylových skupinách alebo purín 2-aminu.

Alternatívny spôsob prípravy zlúčeniny všeobecného vzorca (I), v ktorom R₃ je atóm vodíka, spočíva v 6-aktivácii zodpovedajúcej guanínovej zlúčeniny všeobec-

ného vzorca (I) (v ktorom aminokyselinový ester skupiny R_1/R_2 je prípadne chránený konvenčnou N-ochrannou skupinou, ako je BOC) s aktivačnou skupinou ako je atóm halogénu. Aktivovaný 6-purín je teda následne redukovaný na purín, napríklad pomocou paládiového katalyzátora a zbavený ochrany, aby sa získal požadovaný 6-deoxy H2G diester.

Ďalší predmet vynálezu sa preto týka spôsobu prípravy zlúčenín všeobecného vzorca (I) zahrnujúceho

a) prípadnú ochranu purínových polôh 2 a/alebo 6 zlúčeniny všeobecného vzorca (I), v ktorom R_1 a R_2 sú každý atóm vodíka, N-ochrannou skupinou,

b) miestne selektívne acylácie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) v 4-hydroxy skupine bočného reťazca buď

i) prípadne N-chránenou valínovou alebo izoleucínovou skupinou, alebo

ii) prípadne substituovaným, nasýteným alebo mononenasýteným C_3 - C_{21} COOH derivátom, alebo

iii) miestne selektívnu ochrannou skupinou,

c) acylácia 2-hydroxymetyl skupiny v bočnom reťazci

i) prípadne N-chránenou valínovou alebo izoleucínovou skupinou alebo

ii) prípadne substituovaným, nasýteným alebo mononenasýteným C_3 - C_{21} COOH derivátom,

d) nahradenie miestne selektívnej ochrannnej skupiny v R_1 , pokiaľ je prítomná

i) prípadne N-chránenou valínovou alebo izoleucínovou skupinou alebo

ii) prípadne substituovaným, nasýteným alebo mononenasýteným C_3 - C_{21} COOH derivátom, a

e) zbavenie výslednej zlúčeniny ochranných skupín v prípade potreby.

Schémy A a B uvedené skôr využívajú selektívne acylácie na pridanie esterov aminokyseliny a mastnej kyseliny po krokoch. Alternatívny spôsob prípravy zlúčeniny všeobecného vzorca (I) vychádza z diacylovaného H2G derivátu, v ktorom sú obidve acylové skupiny rovnaké a používajú selektívne odstránenie jednej acylovej skupiny, čím sa získa monoacylový medziprodukt, ktorý je potom acylovaný druhou, odlišnou acylovou skupinou rovnako ako v schémach A a B uvedených skôr.

V súlade s tým ďalší predmet vynálezu sa týka spôsobu prípravy zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ako bola definovaná skôr, pričom spôsob zahrnuje

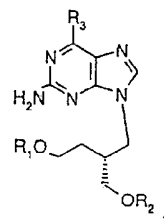
A. monodeacyláciu diacylovanej zlúčeniny všeobecného vzorca (I), v ktorej R_1 a R_2 sú oba valylové alebo izoleucylové ester (ktorý je prípadne N-chránený) alebo sú R_1 a R_2 obidva $-C(=O)C_3-C_{21}$ nasýtený alebo mononenasýtený, prípadne substituovaný alkyl, a

B. acyláciu takto uvoľnenej 4-hydroxy skupiny bočného reťazca alebo 2-hydroxymetyl skupiny bočného reťazca zodpovedajúcim valylom, izoleucylom alebo skupinou $-C(=O)C_3-C_{21}$ nasýtený alebo mononenasýtený, prípadne substituovaný alkyl, a

C. odstránenie ochranných skupín v prípade potreby.

Tento alternatívny spôsob má výhodu, že príprava diacylovaného H2G derivátu je ľahká a vyžaduje malé alebo žiadne kroky čistenia. Selektívne odstránenie iba jednej acylovej skupiny diacylovaného H2G derivátu sa môže dosiahnuť manipuláciou s reakčnými podmienkami, najmä teplotou, rýchlosťou pridávania a voľbou bázy.

Zlúčeniny vhodné na tento alternatívny spôsob syntézy sú teda všeobecného vzorca:



v ktorom R_1 a R_2 sú valyl alebo izoleucyl (ktoré sú prípadne N-chránené) alebo $-C(=O)C_3-C_{21}$ nasýtený alebo mononenasýtený prípadne substituovaný alkyl a R_3 je OH alebo H.

Na uľahčenie syntézy na tejto alternatívnej ceste je výhodné, že R_1 a R_2 sú oba pôvodne identické a sú najvýhodnejšie rovnaký ester aminokyseliny. Takýto diaminokyselinový ester je všeobecne N-chránený v priebehu jeho prípravy a môže sa použiť priamo v tomto stave v selektívnom deacylačnom kroku. Alternatívne takýto N-chránený diaminoacylovaný H2G derivát môže byť zbavený ochranných skupín a prípadne znova vybavený chrániacimi skupinami ako je opísané ďalej. Nechránený diaminoacylový H2G derivát teda zahrnuje jednu z nasledujúcich zlúčenín:

(R)-9-[2-(L-izoleucyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]-guanín,

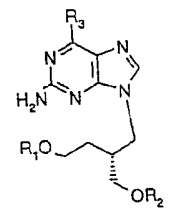
(R)-9-[2-(L-valyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,

(R)-2-amino-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(L-izoleucyloxymetyl)butyl]purín a

(R)-2-amino-9-[4-(L-valyloxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]-purín.

Tieto nechránené H2G diacylované deriváty môžu byť priamo vystavené selektívnej deacylácii jednej z acylových skupín (typicky acyl v polohe 4 bočného reťazca) nasledovanej enzymatickou acyláciou uvoľnenej 4-hydroxy ako bolo opísané skôr. Alternatívne môže byť nechránený H2G diacylovaný derivát znova vybavený chrániacimi skupinami a potom vystavený selektívnej deacylácii, nasledovanej konvenčnou acyláciou esterami mastných kyselín, ako je opísané v schémach A a B. Výhodné je takýto krok opätovnej ochrany vykonaný s odlišnou N-ochrannou skupinou, ktorá má vhodné vlastnosti pre následnú acyláciu. Napríklad je výhodné použiť lipofilnú N-ochrannú skupinu, ako je Fmoc, pokiaľ je pripravovaný diaminokyselinový H2G derivát, lebo lipofilná povaha ochrannej skupiny napomáha separácii acylovaných produktov. Na druhej strane je lipofilná povaha Fmoc málo užitočná, pokiaľ sa vykonáva acylácia mastnou kyselinou, a teda je výhodné opatrit' diacylovaný H2G alternatívnou N-ochrannou skupinou ako je BOC.

Je tiež zrejmé, že príprava zlúčeniny všeobecného vzorca (I) môže začať novým monoacylovaným medziproduktom kroku b i), ii) alebo iii) v definovanom prvom spôsobe podľa predmetu vynálezu. Tieto zlúčeniny sú teda všeobecného vzorca:



v ktorom jeden z R_1 a R_2 je

i) $-C(O)CH(CH(CH_3)_2)NH_2$ alebo $-C(O)CH(CH(CH_3)CH_2CH_3)NH_2$

ii) $-C(=O)C_3-C_{21}$ nasýtený alebo mononenasýtený prípadne substituovaný alkyl alebo

iii) miestne selektívna ochranná skupina,

druhý z R_1 a R_2 je atóm vodíka,

a R_3 je OH alebo H.

Použiteľné zlúčeniny teda zahŕňujú:

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(terc. butyldifenylsilyl)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(trityloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(9-(9-fenyl)xantenyl)oxy]butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(1,1-bis(4-metylphenyl)-1'-pyrenylmetyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(dekanoyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(dodekanoyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(tetradekanoyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(hexadekanoyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(oktadekanoyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(eikosanoyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(dokosanoyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(dekanoyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(dodekanoyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(tetradekanoyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(hexadekanoyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(oktadekanoyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(eikosanoyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(dokosanoyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(L-izoleucyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-9-[4-hydroxy-2-(L-valyloxymetyl)butyl]guanín,

(R)-2-amino-9-[2-hydroxymetyl-4-(L-valyloxy)butyl]purín,

(R)-2-amino-9-[2-hydroxymetyl-4-(L-izoleucyloxy)butyl]purín,

(R)-2-amino-9-[4-hydroxy-2-(L-izoleucyloxymetyl)butyl]purín a

(R)-2-amino-9-[4-hydroxy-2-(L-valyloxymetyl)butyl]purín.

Medziprodukty s miestne selektívne chránenou 4-hydroxy bočného reťazca z kroku c) opísaného prvého spôsobu podľa predmetu vynálezu sú tiež nové zlúčeniny.

Použiteľné zlúčeniny teda zahŕňujú:

(R)-9-[2-dekanoyloxymetyl-4-(terc.-butyldifenylsilyl)butyl]guanín,

(R)-9-[2-dodekanoyloxymetyl-4-(terc.-butyldifenylsilyl)butyl]guanín,

(R)-9-[2-tetradekanoyloxymetyl-4-(terc.-butyldifenylsilyl)butyl]guanín,

(R)-9-[2-hexadekanoyloxymetyl-4-(terc.-butyldifenylchlór-silán)butyl]guanín,

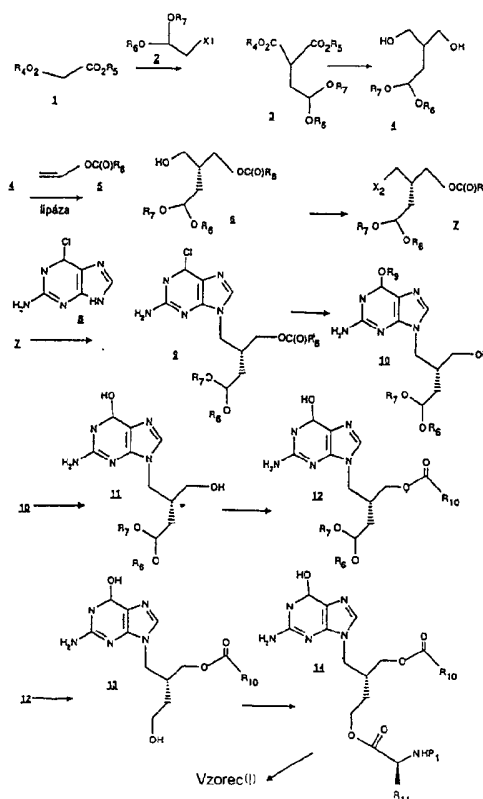
(R)-9-[2-oktadekanoyloxymetyl-4-(terc.-butyldifenylsilyl)butyl]guanín,

(R)-9-[2-eikosanoyloxymetyl-4-(terc.-butyldifenylsilyl)butyl]guanín,

(R)-9-[2-dokosanoyloxymetyl-4-(terc.-butyldifenylsilyl)butyl]guanín.

Alternatívny spôsob prípravy zlúčenín podľa vynálezu všeobecného vzorca (I), v ktorom R_3 je -OH, je znázornený v schéme C.

Schéma C



S odvolaním na schému C, malonan **1** (R_4 a R_5 sú nižší alkyl alebo benzyl a podobne) je alkylovaný reakciou s od zhruba 0,5 do zhruba 2,0 molárných ekvivalentov acetalu **2** (R_6 a R_7 sú nižší alkyl alebo benzyl a podobne alebo R_6 a R_7 spolu vytvárajú $-CH_2CH_2-$ alebo $-CH_2-CH_2-CH_2-$, alebo $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ a X_1 je štipiteľná skupina (napríklad Cl, Br alebo J alebo sulfonát ako je metánsulfonát, trifluórmétánsulfonát, p-toluénsulfonát, benzénsulfonát a podobne)) v prítomnosti od zhruba 0,5 do zhruba 2,0 molárných ekvivalentov bázy (napríklad terc.butoxid draselný alebo etoxid sodný, alebo NaH, alebo KH a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad DMF alebo THF alebo dioxán alebo dioxolan, alebo N-metylpyrolidón a podobne) pri teplote od zhruba $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ do zhruba $190\text{ }^{\circ}\text{C}$, čo dá alkylovaný malonan **3**.

Redukcia **3** od zhruba 0,5 do zhruba 4,0 molárných ekvivalentov esteru alkoholu redukujúcim činidlom (napríklad $LiBH_4$ alebo $Ca(BH_4)_2$, alebo $NaBH_4$, alebo $LiAlH_4$ a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad THF alebo metyl terc.butyléter, alebo terc.BuOH a podobne) pri teplote od zhruba $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do zhruba $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ dáva diol **4**. Enzymatická esterifikácia **4** reakciou s od zhruba 1,0 do zhruba 20,0 molárných ekvivalentov vinyl esteru **5** (R_8 je C_3-C_{21} nasýtený alebo mononenasýtený prípadne substituovaný alkyl) v prítomnosti lipázy (napríklad Lipase PS-30 alebo Lipase PPL alebo Lipase CCL a podobne) alebo fosfolipázy (napríklad fosfolipáza D a podobne) dáva požadovaný stereoisomér esteru **6**. Táto reakcia môže byť vykonávaná bez rozpúšťadla alebo v prítomnosti inertného rozpúšťadla (napríklad metyl terc.butyléter alebo toluén, alebo hexán a podobne). Reakcia sa vykonáva pri teplote od zhruba $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ do zhruba $80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Alkoholový substituent **6** je konvertovaný na štepiteľnú skupinu (napríklad halogén alebo sulfonát) reakciou s halogenačným činidlom (napríklad NBS/P(Ph)₃ alebo NCS(P(Ph)₃, alebo POC₁₃, alebo NCS/P(Ph)₃Nal v acetóne a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad metylénchlorid alebo toluén, alebo etylacetát a podobne) alebo reakciou s od zhruba 0,8 molárnych ekvivalentov do zhruba 2,0 molárnych ekvivalentov sulfonylhalidu (napríklad benzén-sulfonylchlorid, toluénsulfonylchlorid alebo metánsulfonylchlorid a podobne) v prítomnosti od zhruba 1,0 do zhruba 4,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad trietylamin alebo uhličitán draselný, alebo pyridín, alebo dimetylamínopyridín alebo etyldiizopropylamin a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad metylénchlorid alebo toluén, alebo etylacetát, alebo pyridín, alebo metyl terc.butyléter a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 100 °C, čo dá ester **7**. (X₂ je halogén alebo sulfonátová štepiteľná skupina).

Reakcia produktu **7** s od zhruba 0,9 do zhruba 2,0 molárnych ekvivalentov 2-amino-4-chlórpurínu **8** v prítomnosti od zhruba 1,0 do zhruba 6,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad uhličitán draselný alebo NaH, alebo KH, alebo NaOH, alebo KOH, alebo lítiumdiizopropylamid a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad DMF alebo THF, alebo acetonitril, alebo N-metylpyrolidón, alebo etanol a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 140 °C dáva substituovaný purín **9**.

Alternatívne Mitsunobu naviazanie (napríklad P(Ph)₃/dietyl azidokarboxylát) alkoholu **6** na 2-amino-4-chlórpurín **8** dáva **9**.

Reakcia produktu **9** s od zhruba 2,0 do zhruba 20 molárnych ekvivalentov alkoholu R₉OH (R₉ je alkoholová ochranná skupina ako je benzyl a podobne) v prítomnosti od zhruba 1,0 do zhruba 6,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad terc.butoxid draselný alebo uhličitán draselný, alebo NaH, alebo KH, alebo lítium diizopropylamid a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad THF alebo DMF a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 150 °C dáva alkohol **10**.

Odstránenie alkoholovej ochranné skupiny R₉ produktu **10** (napríklad by katalytická hydrogenácia v inertnom rozpúšťadle ako je etanol alebo benzylalkohol, alebo metanol, alebo THF a podobne v prítomnosti katalyzátora hydrogenácie ako je Pd/C alebo Pd(OH)₂ a podobne) dáva substituovaný guanín **11**.

Esterifikácia produktu **11** reakciou s a) od zhruba 0,8 do zhruba 2,0 molárnych ekvivalentov R₁₀COOH a väzobného činidla (napríklad DCC/DMAP) a podobne v inertnom rozpúšťadle (napríklad THF alebo DMF a podobne) alebo b) od zhruba 0,8 do zhruba 2,0 molárnych ekvivalentov aktivovaného derivátu R₁₀COOH (napríklad chlorid kyseliny alebo N-hydroxysukcinimidester, alebo R₁₀C(O)OC(O)R₁₀ a podobne) v prítomnosti od zhruba 0 do zhruba 3,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad pyridín alebo trietylamin, alebo etyldiizopropylamin, alebo DBU, alebo uhličitán draselný a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad metylénchlorid alebo THF, alebo pyridín, alebo acetonitril, alebo DMF a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 100 °C dáva ester **12**.

Acetálový substituent produktu **12** je zbavený ochrany a vzniknutý aldehyd je redukovaný najprv reakciou **12** s od zhruba 0,1 do zhruba 10,0 molárnych ekvivalentov kyseliny (napríklad trifluórmétánsulfónová kyselina alebo HCl, alebo kyselina octová, alebo kyselina sírová a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad THF/H₂O alebo metylénchlorid/H₂O, alebo etylacetát/H₂O, alebo etanol/H₂O, alebo metanol/H₂O a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do

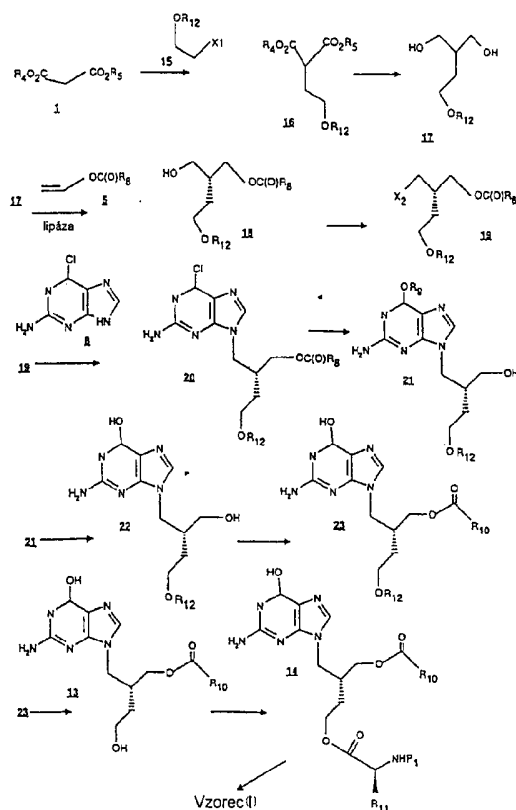
zhruba 100 °C. Do surovej reakčnej zmesi je pridaných od zhruba 0,1 do zhruba 10,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad kyslý uhličitán sodný alebo uhličitán draselný, alebo trietylamin, alebo pyridín, alebo KOH a podobne), dodatočné inertné rozpúšťadlo (napríklad THF a/alebo metylénchlorid, alebo etylacetát, alebo metyl terc.butyléter, alebo izopropanol a podobne) a od zhruba 0,3 do zhruba 5,0 molárnych ekvivalentov aldehydového redukčného činidla (napríklad borohydrid sodný alebo RaNi/H₂ a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 100 °C, čo dá alkohol **13**.

Reakcia produktu **13** s od zhruba 0,8 do zhruba 3,0 molárnych ekvivalentov N-ochránenej aminokyseliny P₁NHCH(R₁₁)COOH alebo jej aktivovaného derivátu (P₁ je N-ochranná skupina a R₁₁ je izopropyl alebo izobutyl) v inertnom rozpúšťadle (napríklad THF alebo dioxán, alebo dioxolan, alebo DMF, alebo metylénchlorid a podobne) pri teplote od zhruba 25 °C do zhruba 100 °C dáva alkohol **14**. Odstránenie N-ochrannej skupiny produktu **14** dáva zlúčeninu podľa vynálezu všeobecného vzorca (I), v ktorom R₃ je -OH.

Alternatívne zlúčenina **13** sa môže nechať reagovať so symetrickým anhydridom, odvodeným z P₁NHCH(R₁₁)COOH (napr. P₁NHCH(R₁₁)C(O)O-C(O)CH(R₁₁)NHP₁), čo dá **1**, v ktorom R₃ je OH.

Další alternatívny spôsob prípravy zlúčeniny, v ktorej R₃ je -OH, je znázornený v schéme D.

Schéma D



sulfonát a podobne) a R_{12} je $-\text{CH}(\text{Ph})_2$, $-\text{C}(\text{Ph})_3$ alebo $\text{Si}(\text{terc.Bu})(\text{Me})_2$ a podobne (Ph = fenyľ) v prítomnosti od zhruba 0,5 do zhruba 2,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad terc.butoxid draselný alebo etoxid sodný, alebo NaH , alebo KH a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad DMF alebo THF, alebo dioxán, alebo dioxolan, alebo N-metylpiperidín a podobne) pri teplote od zhruba -40 °C do zhruba 190 °C, čo dá alkylovaný malonan 16.

Redukcia produktu 16 od zhruba 0,5 do zhruba 4,0 molárnych ekvivalentov esteru s alkohol redukujúcim činidlom (napríklad LiBH_4 alebo $\text{Ca}(\text{BH}_4)_2$, alebo NaBH_4 , alebo LiAlH_4 a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad THF alebo metyl terc.butyléter, alebo etanol, alebo terc.butanol a podobne) pri teplote od zhruba -20 °C do zhruba 100 °C dáva diol 17. Enzymatická esterifikácia 17 reakciou s od zhruba 1,0 do zhruba 20,0 molárnych ekvivalentov vinylsteru 5 (R_8 je $\text{C}_3\text{-C}_{21}$ nasýtený alebo mononenasýtený prípadne substituovaný alkyl) v prítomnosti lipázy (napríklad Lipase PS-30 alebo Lipase PPL, alebo Lipase CCL a podobne) alebo fosfolipázy (napríklad fosfolipáza D a podobne) dáva požadovaný stereoizomér esteru 18. Reakcia sa môže vykonávať bez rozpúšťadla alebo v prítomnosti inertného rozpúšťadla (napríklad metyl terc.butyléter alebo toluén, alebo hexán a podobne). Reakcia sa vykonáva pri teplote od zhruba -20 °C do zhruba 80 °C. Alkoholový substituent produktu 18 je konvertovaný na štepiteľnú skupinu (napríklad halogén alebo sulfonát) reakciou s halogenačným činidlom (napríklad $\text{NBS}/\text{P}(\text{Ph})_3$ alebo $\text{NCS}/\text{P}(\text{Ph})_3$, alebo POC_{13} , alebo $\text{NCS}/\text{P}(\text{Ph})_3\text{Nal}$ v acetóne a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad metylénchlorid alebo toluén, alebo etylacetát a podobne) alebo reakciou s od zhruba 0,8 molárnych ekvivalentov do zhruba 2,0 molárnych ekvivalentov sulfonylhalidu (napríklad benzénsulfonylchlorid, toluénsulfonylchlorid alebo metánsulfonylchlorid a podobne) v prítomnosti od zhruba 1,0 do zhruba 4,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad trietylamin alebo uhličitán draselný, alebo pyridín, alebo metyl terc.butyléter a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 100 °C, čo dá ester 19. (X_2 je halogén alebo sulfonátová štepiteľná skupina).

Reakcia produktu 19 s od zhruba 0,9 do zhruba 2,0 molárnych ekvivalentov 2-amino-4-chlórpurínu 8 v prítomnosti od zhruba 1,0 do zhruba 6,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad uhličitán draselný alebo NaH , alebo KH , alebo NaOH , alebo KOH , alebo lítiumdiizopropylamid a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad DMF alebo THF, alebo acetonitril, alebo N-metylpiperidín, alebo etanol a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 140 °C dáva substituovaný purín 20.

Alternatívne Mitsunobu naviazanie (napríklad $\text{P}(\text{Ph})_3$ /dietyl azidokarboxylát) alkoholu 18 na 2-amino-4-chlórpurín 8 dáva 20.

Reakcia produktu 20 s od zhruba 2,0 do zhruba 20,0 molárnych ekvivalentov alkoholu $R_9\text{OH}$ (R_9 je alkoholová ochranná skupina ako je benzyl a podobne) v prítomnosti od zhruba 1,0 do zhruba 6,0 molárnych ekvivalentov bázy (napríklad terc.butoxid draselný alebo uhličitán draselný, alebo NaH , alebo KH , alebo lítiumdiizopropylamid a podobne) v inertnom rozpúšťadle (napríklad THF alebo DMF a podobne) pri teplote od zhruba -25 °C do zhruba 150 °C dáva alkohol 21.

Odstránenie alkoholovej ochranné skupiny R_9 produktu 21 (napríklad by katalytická hydrogenácia v inertnom rozpúšťadle ako je etanol alebo benzylalkohol, alebo metanol, alebo THF a podobne v prítomnosti katalyzátora hydrogenácie ako je Pd/C alebo $\text{Pd}(\text{OH})_2$ a podobne) dáva substituovaný guanín 22.

Éterový substituent produktu 23 je zbavený ochrany reakciou s a) redukčným činidlom (napríklad HCO_2H a Pd/C a podobne), v ktorom R_{12} je $-\text{CH}(\text{Ph})_2$ alebo $-\text{C}(\text{Ph})_3$, alebo b) desilylačným činidlom (napríklad Bu_4NF a podobne), v ktorom R_{12} je $\text{Si}(\text{terc.Bu})(\text{Me})_2$ a podobne, čo dá 13.

Alkohol 13 môže byť konvertovaný na 1 ako je opísané v schéme C.

Dodatočná alternatíva zahŕňa enzymatickú esterifikáciu alkoholu 4 alebo 17 vinylsterom $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{OC}(\text{O})\text{R}_{10}$ (t. j. $R_8 = R_{10}$ v schémach C a D) na priame zahrnutie požadovaného esteru karboxylovej kyseliny do 6 alebo 18 do finálneho produktu 1. To dovoľuje elimináciu esterovej hydrolýzy a reesterifikácie zahrnutej pri prechode z 9 na 12 alebo z 20 na 23.

Spôsoby podľa schém C a D sú charakterizované faktom, že každá hydroxylová skupina acyklického bočného reťazca je odlišená použitím odlišných hydroxy ochranných skupín alebo prekursorových skupín. To dovoľuje selektívnu acyláciu každej z hydroxy skupín buď aminokyselinou, alebo skupinou mastnej kyseliny.

Schémy C a D boli ilustrované a opísané s odvolaním na vyhotovenie vynálezu, v ktorom R_1 je odvodený od aminokyseliny a R_2 je odvodený od mastnej kyseliny. Je však zrejmé, že zodpovedajúce opačné schémy je možné použiť na zlúčeniny, v ktorých R_1 je odvodený od mastnej kyseliny a R_2 je odvodený od aminokyseliny.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Vynález bude teraz ilustrovaný na príkladoch s odvolaním na neobmedzujúce príklady, porovnávacie príklady a doplnujúce obrázky, v ktorých:

obr. 1 znázorňuje plazmovú úroveň H_2G ako funkciu času pri opiciach cynomolgus, ktorým sa podáva zlúčenina podľa vynálezu alebo alternatívny prekursorový derivát H_2G , ako je ďalej vysvetlené v biologickom príklade 3, a

obr. 2 znázorňuje prežitie ako funkciu času pri myšiach infikovaných Herpes simplex pri podávaní rôznych dávok zlúčeniny podľa vynálezu alebo antivírusových látok podľa stavu techniky, ako je ďalej vysvetlené v biologickom príklade 4.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

(R)-9-[2-(Stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Tento príklad ilustruje aplikáciu prípravy podľa schémy A.

a) (R)-9-[4-(N-terc.Butoxykarbonyl-L-valyloxy)-2-(hydroxymetyl)butyl]guanín

H_2G (5 g, 19,7 mmólu) bol rozpustený v DMF (300 ml) za ohrievania a bol ochladený na teplotu okolia pred pridaním N-terc.Boc-L-valínu (5,58 g, 25,7 mmólov), DMAP (0,314 g, 2,57 mmólov) a DCC (6,52 g, 31,6 mmólov). Zmes bola miešaná pri teplote okolia po 24 hodín a bola potom filtrovaná. Produkt bol chromatografovaný na silikagéli a vymývaný $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, čo poskytlo 2,4 g požadovaného medziproduktu.

$^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 0,95 (d, 6H), 1,47 (s, 9H), 1,5-1,8 (m, 2H), 1,96-2,20 (m, 2H), 3,4 (m, 2H), 3,91 (t, 1H), 4,05 (m, 2H), 4,21 (t, 2H), 4,89 (t, 1H), 6,6 (br s, 2H), 7,27 (d, 1H), 7,75 (s, 1H), 10,7 (br s, 1H).

b) (R)-9-[4-(N-terc.Butoxykarbonyl-L-valyloxy)-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín

Produkt z kroku a) (185 mg, 0,41 mmólu) bol rozpustený v pyridíne (5 ml), roztok bol ochladený v ľadovom kúpeli a bol pridaný stearylchlorid (179 µl, 0,531 mmólu). Roztok sa udržiaval v ľadovom kúpeli v čase 2 hodiny, potom pri teplote okolia v čase 1 hodinu. Potom bol odparený a chromatografovaný na silikagéli. Ďalej bol vymývaný zmesou dichlórmetán/metanol, čo poskytlo 143 mg požadovaného medziproduktu.

c) (R)-9-[2-(Stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Produkt z kroku b) (138 mg, 0,192 mmólu) bol ochladený v ľadovom kúpeli a pridala sa kyselina trifluóroctová (5 ml). Roztok sa udržiaval v ľadovom kúpeli v čase 45 minút a bol potom odparený, čo poskytlo olej. Voda (0,5 až 1 ml) bola dvakrát pridaná a odparená. Rezíduum bolo ešte raz rozpustené vo vode (5 ml), filtrované a sušené vymrazením, čo poskytlo 148 mg požadovaného produktu vo forme bistrifluoacetátovej soli.

¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): 0,97 (t, 3H), 1,05 (dd, 6H), 1,34 (br s, 28H), 1,59 (m, 2H), 1,80 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,36 (t, 2H), 2,50 (m, 1H), 3,98-4,18 (m, 5H), 4,35 (t, 2H), 6,6 (br s, 2H), 8,0 (br s, 1H), 8,4 (br s, 3H), 10,9 (br s, 1H).

Príklad 2

(R)-9-[2-(Myristoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná vo forme bistrifluoacetátovej soli analogicky ako v príklade 1 použitím myristoylchloridu namiesto stearylchloridu v kroku b).

¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): 0,97 (t, 3H), 1,05 (dd, 6H), 1,34 (br s, 20H), 1,57 (m, 2H), 1,78 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 2,35 (t, 2H), 2,51 (m, 1H), 3,97-4,20 (m, 5H), 4,36 (t, 2H), 6,8 (br s, 2H), 8,2 (br s, 1H), 8,5 (br s, 3H), 11,1 (br s, 1H).

Príklad 3

(R)-9-[2-(Oleoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluoacetátová soľ analogickým spôsobom ako v príklade 1 použitím oleoylchloridu namiesto stearylchloridu v kroku b).

¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): 0,96 (t, 3H), 1,05 (dd, 6H), 1,35 (br s, 20H), 1,59 (m, 2H), 1,76 (m, 2H), 2,09 (m, 4H), 2,24 (m, 1H), 2,35 (t, 2H), 2,50 (m, 1H), 3,97-4,17 (m, 5H), 4,35 (t, 2H), 5,43 (t, 2H), 6,7 (br s, 2H), 8,0 (br s, 1H), 8,5 (br s, 3H), 11,1 (br s, 1H).

Príklad 4

(R)-9-[2-(Butyryloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

a) (R)-9-[4-(N-terc-butoxykarbonyl-L-valyloxy)-2-(butyryloxymetyl)butyl]guanín

DCC (110 mg, 0,53 mmólu) bol rozpustený v dichlórmetáne (10 ml) a bola pridaná kyselina maslová (82 mg, 0,93 mmólu). Po uplynutí 4 hodín pri teplote okolia bola zmes filtrovaná a filtrát bol odparený. Rezíduum bolo rozpustené v pyridíne (5 ml) a pridal sa (R)-9-[4-(N-terc-butoxykarbonyl-L-valyloxy)-2-hydroxymetyl]butyl]guanín (200 mg, 0,44 mmólu) (príklad 1, krok a). Zmes bola miešaná počas 120 hodín pri teplote okolia. Podľa TLC reakcia nebola skončená a vytvorilo sa viac anhydridu použitím procedúry uvedenej skôr. Tento anhydrid bol pridaný a zmes bola miešaná počas ďalších 20 hodín. Reakčná zmes bola odparená a chromatografovaná najprv na silikagéli a potom na oxide hlinitom, v oboch prípadoch vymývaná zmesou dichlórmetán/metanol, čo poskytlo 79 mg medziproduktu.

b) (R)-9-[2-(Butyryloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Medziprodukt kroku a) bol zbavený ochrany analogickým spôsobom ako v príklade 1, krok 3, čo poskytlo 84 mg požadovaného produktu vo forme bistrifluoacetátvej soli.

¹H NMR (250 MHz, D₂O): 0,88 (t, 3H), 1,06 (dd, 6H), 1,53 (m, 2H), 1,93 (q, 2H), 2,25 (t, 2H), 2,36 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 4,06 (d, 1H), 4,14-4,30 (m, 2H), 4,43 (m, 4H), 8,99 (br s, 1H).

Príklad 5

(R)-9-[2-(Dekanoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluoacetátová soľ analogickým spôsobom ako v príklade 1 použitím dekanoylchloridu namiesto stearylchloridu v kroku b).

¹H NMR (250 MHz, D₂O): 0,90 (m, 3H), 1,01 (d, 6H), 1,28 (br s, 12H), 1,5 (m, 2H), 1,8 (m, 2H), 2,3 (m, 3H), 2,5 (m, 1H), 4,0-4,4 (m, 7H), 8,1 (br s, 1H).

Príklad 6

(R)-9-[2-(Dokosanoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluoacetátová soľ analogickým spôsobom ako v príklade 1, ale použitím v kroku b) DMAP/DCC podmienok príkladu 1, krok a) spojení s dokosanovou kyselinou namiesto N-terc-Boc-L-valínu a zmesi DMF a dichlórmetánu ako rozpúšťadla.

¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): 0,97 (t, 3H), 1,05 (dd, 6H), 1,34 (br s, 36H), 1,58 (m, 2H), 1,77 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 2,35 (t, 2H), 2,50 (m, 1H), 3,97-4,17 (m, 5H), 4,35 (t, 2H), 6,7 (br s, 2H), 8,1 (br s, 1H), 8,4 (br s, 3H), 11,0 (br s, 1H).

Príklad 7

(R)-9-[4-(L-Izoleucyloxy)-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín

Tento príklad ilustruje aplikáciu preparatívnej schémy B.

a) (R)-9-[2-Hydroxymetyl-4-(terc.butylidifenylsilyloxy)butyl]guanín H₂G (29,8 mmólov) bol spoločne odparený dvakrát s bezvodým DMF a bol potom suspendovaný v bezvodom DMF (120 ml) a pyridíne (1 ml). Do suspenzie bol pridaný po kvapkách terc.-butylidifenylchlórsilán (2,1 ml, 8,2 mmólov) v dichlórmetáne (20 ml) pri teplote 0 °C počas 30 minút. Z reakčnej zmesi sa stal po skončení pridávania po kvapkách číry roztok. Reakcia pokračovala pri teplote 0 °C počas dvoch hodín a potom bola udržiavaná pri teplote 4 °C cez noc. Do reakčnej zmesi bol pridaný metanol (5 ml). Po 20 minútach pri teplote okolia bola reakčná zmes odparená na malý objem, vliata na vodný roztok kyslého uhličitanu sodného a extrahovaná dvakrát dichlórmetánom. Organická fáza bola sušená nad síranom sodným a odparená vo vákuu. Produkt bol izolovaný chromatografiou na kolóne silikagélu použitím systému metanol/dichlórmetán a po krokoch zvyšovanou MeOH koncentráciou. Produkt bol vymývaný 7 % MeOH CH₂Cl₂, čo poskytlo 1,89 g.

b) (R)-9-[2-(Stearoyloxymetyl)-4-(terc.butylidifenylsilyloxy)butyl]guanín

(R)-9-[2-Hydroxymetyl-4-(terc.butylidifenylsilyloxy)butyl]guanín (2,31 g, 5 mmólov) bol dvakrát spoločne odparený s bezvodým pyridínom a rozpustený v pyridíne (20 ml). Do roztoku bol pomaly pridaný po kvapkách stearylchlorid (1,86 ml, 5,5 mmólov, technická kvalita) v dichlórmetáne (2 ml) pri teplote -5 °C. Reakcia bola udržiavaná pri rovnakej teplote 1 hodinu a potom pri teplote 5 °C 2 hodiny. Reakcia bola monitorovaná pomocou TLC.

Bol pridaný dodatočný stearylchlorid (0,29 ml) pri teplote -50 °C vzhľadom na to, že reakcia nebola úplne dokončená. Po 30 minútach pri teplote 5 °C bol pridaný metanol (3 ml) a reakčná zmes bola miešaná počas 20 minút. Zmes bola potom vliata na vodný roztok kyslého uhlíčitanu sodného a extrahovaná dichlórmetánom. Organická fáza bola sušená a produkt čistený chromatografiou na kolóne silikagélu a po krokoch vzrastajúcim MeOH, vymývanie pomocou 3,5 % MeOH v CH₂Cl₂ (výťažok 2,7 g).

c) (R)-9-[4-(4-Hydroxy-2-(stearyloxymetyl)butyl)guanín

(R)-9-[2-(Stearyloxymetyl)-4-(terc.butylidifenylsilyloxy)-butyl]guanín (2,7 g, 3,56 mmólu) bol rozpustený v bezvodom THF (30 ml) a do roztoku bol pridaný fluorovodík - pyridín (1,5 ml). Reakcia bola udržiavaná pri teplote 4 °C cez noc a monitorovaná pomocou TLC. Reakcia dosiahla zhruba 80 % konverzie. Bol pridaný dodatočný HF - pyridín (0,75 ml). Po 4 hodinách TLC ukázala, že východiskový materiál bol spotrebovaný. Reakčná zmes bola koncentrovaná vo vákuu bez zvýšenia teploty a bolo pridaných viac pyridínu (5 ml) a znova odparená. Produkt bol izolovaný chromatografiou na kolóne silikagélu (výťažok 1,26 g).

d) (R)-9-[4-(N-BOC-L-Izoleucyloxy)-2-(stearyloxymetyl)butyl]guanín

(R)-9-[4-Hydroxy-2-(stearyloxymetyl)butyl]guanín (135 mg, 0,26 mmólu) a N-BOC-L-izoleucín (180 mg, 0,78 mmólu) boli dvakrát spoločne odparené s bezvodým DMF a rozpustené v tom istom rozpúšťadle (3,5 ml). Do roztoku bol pridaný 1,3-dicyklohexylkarbodiimid (160 mg, 0,78 mmólu) a 4-dimetylaminopyridín (4,8 mg, 0,039 mmólu). Po udržiavaní reakcie počas 18 hodín bola reakčná zmes filtrovaná cez Celite a spracovaná konvenčným spôsobom. Produkt bol izolovaný chromatografiou na kolóne silikagélu, vymývanie 5 % MeOH v CH₂Cl₂. (Výťažok 160 mg.)

e) (R)-9-[4-(L-Izoleucyloxy)-2-(stearyloxymetyl)butyl]guanín

Na (R)-9-[4-(N-BOC-L-izoleucyloxy)-2-(stearyloxymetyl)butyl]guanín (150 mg, 0,205 mmólu) z kroku d) sa pôsobilo kyselinou trifluóroctovou (3 ml) pri teplote 0 °C počas 20 minút. Roztok bol odparený vo vákuu. Rezíduum bolo dvakrát spoločne odparené s toluénom a udržiavané vo vákuu počas niekoľko hodín. Rezíduum bolo rozpustené v MeOH (2 ml) a odparené, čo poskytlo trifluóroctovú soľ ako sklovitý produkt (výťažok 191 mg).

¹H NMR (DMSO-d₆ + D₂O): δ 8,35 (s, 1H, báza), 4,21 (t, 2H, H-4), 4,10 (d, 2H), 3,96 (d, 2H), 3,90 (d, 1H, izoleucín), 2,48 (m, 1H, H-2), 2,15 (2H, stearyl), 1,85 (m, 1H, izoleucín), 1,68 (m, 2H), 1,48 (m, 4H), 1,68 (m, 28H), 0,81 (m, 9H).

Príklad 8

(R)-9-[2-(Dekanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluóroctová soľ analogickým spôsobom ako v príklade 7 použitím dekanoylchloridu namiesto stearylchloridu v kroku b).

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 11,1 (s, 1H, NH), 8,35 (s, br, 3H), 8,28 (s, 1H, báza), 6,75 (s, 2H, NH₂), 4,23 (t, 2H), 4,07 (d, 2H), 4,05 (m, 3H), 2,4 (m, 1H), 2,21 (t, 2H), 1,83 (m, 1H), 1,66 (m, 2H), 1,45 (m, 2H), 1,39 (m, 2H), 1,22 (s, 12H), 0,84 (m, 9H).

Príklad 9

(R)-9-(4-(L-Izoleucyloxy)-2-(myristoyloxymetyl)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluóroctová soľ analogickým spôsobom podľa príkladu 1 použitím N-BOC-L-izoleucínu namiesto N-BOC-valínu v kroku a) a myristoylchloridu v kroku b).

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 10,99 (s, 1H), 8,34 (br, s, 3H), 8,15 (s, 1H), 6,67 (br, s, 2H), 4,23 (t, 2H), 4,05 (d, 2H), 3,97 (m, 3H), 2,48 (m, 1H), 2,20 (t, 2H), 1,85 (m, 1H), 1,65 (m, 2H), 1,41 (m, 4H), 1,23 (s, 20H), 0,85 (m, 9H).

Príklad 10

(R)-9-[2-(4-Acetylbutyryloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluóroctová soľ analogickým spôsobom podľa príkladu 1, ale použitím DCC/DMAP podmienok príkladu 1, krok a) v kroku b) spolu s 4-acetylmaslovou kyselinou namiesto N-terc.Boc-L-valínu.

¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 1,05 (dd, 6H), 1,77 (m, 4H), 2,19 (s, 3H), 2,24 (m, 1H), 2,36 (t, 2H), 2,44-2,60 (m, 3H), 3,95-4,20 (m, 5H), 4,36 (m, 2H), 6,8 (br s, 2H), 8,3 (br s, 1H), 8,5 (br s, 3H), 11,1 (br s, 1H).

Príklad 11

(R)-9-(2-Dodekanoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluóroctová soľ analogickým spôsobom podľa príkladu 1 použitím dodekanoylchloridu namiesto stearylchloridu v kroku b).

Príklad 12

(R)-9-(2-Palmitoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu bola získaná ako bistrifluóroctová soľ analogickým spôsobom podľa príkladu 1 použitím palmitoylchloridu namiesto stearylchloridu v kroku b).

¹H NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 0,97 (t, 3H), 1,05 (m, 6H), 1,35 (br s, 24H), 1,58 (m, 2H), 1,78 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 2,35 (t, 2H), 2,51 (m, 1H), 3,97-4,18 (m, 5H), 4,35 (t, 2H), 6,7 (br s, 2H), 8,1 (br s, 1H), 8,5 (br s, 3H), 11,0 (br s, 1H).

Príklad 13

(R)-2-Amino-9-(2-stearyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín

Tento príklad ukazuje deoxygenáciu skupiny R₁.

a) (R)-2-Amino-9-(2-stearyloxymetyl)-4-(N-terc.butoxykarbonyl-L-valyloxy)butyl)-6-chlórpurín

Do roztoku (R)-9-(2-stearyloxymetyl)-4-(N-terc.butoxykarbonyl-L-valyloxy)butyl]guanínu z kroku 2 príkladu 1 (646 mg, 0,9 mmólu) v acetonitrile bol pridaný tetrametylamóniumchlorid (427 mg, 2,7 mmólov), N,N-dietylanilín (0,716 ml, 4,5 mmólov) a oxychlorid fosforečný (0,417 ml, 4,5 mmólov). Reakcia bola udržiavaná pri teplote spätného toku a jej postup monitorovania pomocou TLC. Po 3 hodinách bola reakčná zmes odparená vo vákuu a rezíduum bolo rozpustené v dichlórmetáne, potom vliata na studený vodný roztok kyslého uhlíčitanu sodného. Organická fáza bola odparená a čistená chromatografiou na kolóne silikagélu. Výťažok: 251 mg.

¹H NMR (CDCl₃): δ 7,76 (1H, H-8), 5,43 (br, 2H, NH₂), 4,45-4,00 (m, 7H), 2,53 (m, 1H), 2,28 (t, 2H), 2,12 (m, 1H), 1,75 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,43 (9H), 1,25 (m, 28H), 0,96 (d, 3H), 0,87 (m, 6H).

b) (R)-2-Amino-9-(2-stearyloxymetyl)-4-(N-terc.butoxy-karbonyl-L-valyloxy) butyl]purín

Do roztoku (R)-2-amino-9-(2-stearyloxymetyl)-4-(N-terc.butoxykarbonyl-L-valyloxy) butyl)-6-chlórpurínu (240 mg, 0,33 mmólu) v zmesi metanol/etylacetát (6 ml, 3 : 1 V/V) bol pridaný formiát amónny (105 mg, 1,65 mmólu) a 10 % paládium na uhlíku (15 mg). Reakcia bola udržiavaná pri teplote spätného toku 1 hodinu a bol znova pridaný formiát amónny (70 mg). Po jednej hodine ďalšia TLC ukázala ukončenie reakcie a zmes bola filtrovaná cez Celite a intenzívne premývaná etanolom. Filtrát bol odparený a čistený na kolóne silikagélú. Výťažok: 193 mg.

¹H NMR (CDCl₃): δ 8,69 (s, 1H, H-6), 7,74 (s, 1H, H-8), 5,18 (br, s, 2H, NH₂), 4,45-4,01 (m, 7H), 2,55 (m, 1H), 2,28 (t, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,75 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,25 (s, 28H), 0,96 (d, 3H), 0,87 (m, 6H).

c) (R)-2-Amino-9-(2-stearyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]purín

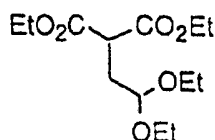
Na (R)-2-amino-9-(2-stearyloxymetyl)-4-(N-terc.butoxykarbonyl-L-valyloxy)butyl] purín (180 mg, 0,26 mmólu) sa pôsobilo kyselinou trifluóroctovou (5 ml) pri teplote 0 °C počas 40 minút. Zmes bola potom odparená vo vákuu a spoločne odparená postupne s toluénom a metanolom. Rezíduum bolo sušené vymrazením cez noc, čo poskytlo 195 mg požadovaného produktu.

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 8,78 (s, 1H, H-6), 8,32 (br, 3H), 8,29 (s, 1H, H-8), 4,27 (t, 2H), 4,13 (d, 2H), 3,98 (t, 2H), 3,89 (m, 1H), 2,47 (m, 1H), 2,18 (m, 3H), 1,43 (m, 2H), 1,23 (28H), 0,93 (m, 6H), 0,85 (t, 3H).

Príklad 14

Alternatívna príprava (R)-9-[4-hydroxy-(2-stearyloxymetyl)butyl]guanínu

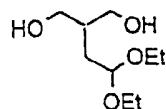
a) Príprava etyl 4,4-dietoxy-2-etoxykarbonyl-mliečnanu



Terc.butoxid draselný (141,8 g, 1,11 ekviv.) bol rozpustený v bezvodom DMF (1 : 1). V priebehu 5 minút bol pridaný dietylmalonan (266 ml, 1,54 ekviv.). V priebehu 5 minút bol pridaný brómacetalddehyd dietylacetal (172 ml, 1,14 mól). Zmes bola zahrievaná na 120 °C (vnútorná teplota) a miešaná pri teplote 120 °C počas 5 hodín. Zmes bola nechaná ochladnúť na teplotu okolia, vliata do vody (5 l) a extrahovaná metyl-terc.butyléterom (MTBE, 3 x 600 ml). Organický roztok bol sušený nad MgSO₄, filtrovaný, koncentrovaný a destilovaný (0,5 mm, 95 - 140 °C), čo poskytlo požadovaný diester (244 g, 78 %) vo forme bezfarebného oleja.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1,19 (t, 6H), 1,28 (t, 6H), 2,22 (dd, 2H), 3,49 (m, 2H), 3,51 (t, 1H), 3,65 (m, 2H), 4,20 (qd, 4H), 4,54 (t, 1H).

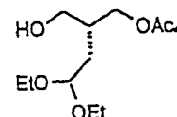
b) Príprava 4,4-dietoxy-2-(hydroxymetyl)-butanolu



LiBH₄ (zakúpený roztok, 2M v THF, 22,5 ml) a produkt príkladu 14, krok a) (5 g v 15 ml THF, 18,1 mmólov) boli skombinované a zahriate na teplotu 60 °C a miešané pri teplote 60 °C v čase 4 hodiny. Reakčná zmes bola nechaná ochladnúť na teplotu okolia a reakčná nádoba bola umiestnená v studenom vodnom kúpeli. Potom bol pridaný trietanolamín (5,97 ml, 1 ekviv.) takou rýchlosťou, že teplota reakčnej zmesi bola udržiavaná v rozmedzí 20 - 25 °C. Soľanka (17,5 ml) bola pridaná takou rýchlosťou, že vývoj plynu bol kontrolovaný a zmes bola miešaná počas 45 minút pri teplote okolia. Vrstvy boli separované, organická vrstva bola premývaná soľankou (2 x 15 ml). Zlúčené soľankové vrstvy boli extrahované MTBE (metyl-terc.butyléter, 3 x 20 ml). Zlúčené organické extrakty boli odparené a rezíduum bolo rozpustené v MTBE (50 ml) a premývané soľankou (25 ml). Soľanková vrstva bola spätne extrahovaná MTBE (3 x 25 ml). Zlúčené organické extrakty boli sušené nad Na₂SO₄, filtrované a koncentrované, čo poskytlo požadovaný diol (3,369, 15,5 mmól, 97 %) vo forme bezfarebného oleja.

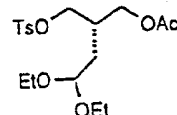
¹H NMR (CDCl₃): δ 1,22 (t, 6H), 1,73 (dd, 2H), 1,92 (m, 1H), 2,67 (bs, 2H), 3,52 (m, 2H), 3,69 (m, 2H), 3,72 (m, 4H), 4,62 (t, 1H).

c) Príprava (2R)-2-acetoxymetyl-4,4-dietoxy-butanolu



Do 10 ml banky s jedným hrdlom bol vložený produkt príkladu 14, krok b) (3,84 g, 20 mmólov) nasledované pridaním vinylacetátu (2,6 g, 30 mmólov) a nakoniec Lipase PS 30 (69 mg, zakúpené od Amano, Lombard, Illinois). Zmes bola nechaná za miešania pri teplote okolia počas 16 hodín. Postup reakcie bol dôsledne monitorovaný pomocou TLC (2/1 hexán - EtOAc, označenie pomocou Ce₂(SO₄)₃ a úprava na vyhrievanej doske, koeficient retencie diolu je 0,1, monoacetátu je 0,3, bisacetátu je 0,75). Reakčná zmes bola zriedená CH₂Cl₂ a filtrovaná cez 5 mikrónový filter. Filter bol premývaný ďalším CH₂Cl₂. Filtrát bol potom koncentrovaný vo vákuu, čo poskytlo požadovaný produkt.

d) Príprava (2S)-2-acetoxymetyl-4,4-dietoxybutyl toluén-sulfonátu

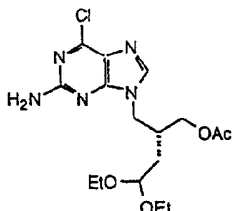


Do 100 ml guľatej banky s jedným hrdlom, vybavenej magnetickým miešadlom a udržiavanej pod N₂ bol vložený surový produkt príkladu 14, krok c) (4,62 g, 19 mmólov), bezvodý CH₂Cl₂ (20 ml) a Et₃N (5,62 ml, 40 mmólov). Do tohto roztoku bol pridaný tozylchlorid (4,76 g, 25 mmólov). Vzniknutá zmes bola miešaná pri teplote okolia v čase 4 hodiny. Bola pridaná H₂O (0,27 g, 15 mmólov) a zmes bola intenzívne miešaná v čase 4 hodiny. Reakčná zmes bola zriedená 80 ml EtOAc a 50 ml H₂O a vodná vrstva bola separovaná. Do organickej vrstvy bolo pridaných 75 ml 5 % vodného roztoku KH₂PO₄. Po miešaní a separácii vrstiev bola vodná vrstva odobratá. Organická vrstva bola premývaná 50 ml nasýteného NaHCO₃ roztoku, suše-

ná nad Na_2SO_4 , filtrovaná a koncentrovaná vo vákuu na konštantnú hmotnosť 7,40 g požadovaného produktu.

^1H NMR (CDCl_3): δ 1,17 (t, 6H); 1,62 (m, 2H); 1,94 (s, 3H); 2,19 (m, 1H); 2,45 (s, 3H); 3,42 (m, 2H); 3,6 (m, 2H); 4,03 (m, 4H); 4,51 (t, 1H); 7,36 (d, 2H); 7,79 (d, 2H).

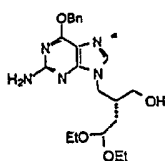
e) Príprava



Do 50 ml banky s jedným hrdlom bol vložený produkt príkladu 14, krok d) (3,88 g, 10 mmólov), bezvodý DMF (20 ml) 2-amino-4-chlór-purín (2,125 g, 12,5 mmólov) a K_2CO_3 (4,83 g). Vzniknutá suspenzia bola miešaná pri teplote 40°C pod atmosférou N_2 počas 20 hodín. Zmes bola koncentrovaná a väčšina DMF bola odstránená rotačnou odparkou. Rezíduum bolo riedené EtOAc (50 ml) a H_2O (50 ml). Reakčná zmes bola premiestnená deliacou nálevkou, trepaná a vodná vrstva bola separovaná. Vodná vrstva bola extrahovaná EtOAc (25 ml). Organické vrstvy boli zlúčené a premývané 5 % KH_2PO_4 (75 ml). Organická vrstva bola separovaná a premývaná H_2O (75 ml), soľankou (75 ml), sušená nad Na_2SO_4 , filtrovaná a koncentrovaná vo vákuu, čo poskytlo 3,95 g surového produktu. Surový produkt bol suspendovaný 40 ml metyl - terc.butyléteru. Táto zmes bola miešaná cez noc pri teplote 4°C a zmes bola filtrovaná. Filtrát bol koncentrovaný, čo poskytlo 3,35 g produktu vo forme oleja (obsahujúceho 2,6 g požadovaného produktu na základe HPLC analýzy).

300 MHz ^1H NMR (CDCl_3): δ 1,19 (m, 6H); 1,69 (2H); 1,79 (s, 1H); 2,03 (s, 3H); 2,52 (m, 1H); 3,48 (m, 2H); 3,62 (m, 2H); 4,04 (m, 2H); 4,16 (m, 2H); 4,61 (t, 1H); 5,12 (bs, 2H); 7,81 (s, 1H).

f) Príprava



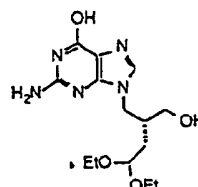
(Bn=benzyl)

Do 500 ml banky s jedným hrdlom bol vložený benzylalkohol (136 ml), ochladený na teplotu 0°C , nasledovaný pridaním po častiach KO - terc.Bu (36 g, 321 mmólov). Teplota bola nechaná zvýšiť sa na 40°C a zmes bola miešaná 20 minút. Do tejto zmesi bol pridaný pri teplote 0°C surový produkt príkladu 14, krok e) (24,7 g, 64,2 mmólov), rozpustený v 25 ml bezvodého THF a benzylalkoholu (30 ml). Teplota bola nechaná pomaly narásť na 8°C v priebehu 2 hodín. Reakčná zmes bola vliata na 500 ml ľadu a bola extrahovaná 500 ml MTBE. Organická vrstva bola premývaná 250 ml soľanky, sušená nad Na_2SO_4 , filtrovaná a koncentrovaná vo vákuu, čo prinieslo 193 g benzylalkoholového roztoku požadovaného produktu. HPLC analýza ukázala, že roztok obsahoval 25,96 g požadovaného produktu.

300 MHz ^1H NMR (CDCl_3): δ 1,22 (m, 6H); 1,55 (2H); 2,18 (m, 1H); 3,15 (m, 1H); 3,40 (m, 1H); 3,51 (m, 2H); 3,70 (m, 2H); 4,25 (m, 2H); 4,63 (t, 1H); 4,90 (bs, 2H); 5,25 (m, 1H); 5,58 (s, 2H); 7,35 (m, 3H); 7,51 (m, 2H); 7,72 (s, 1H).

MS= (M+H) $^+$ =416(Cl).

g) Príprava

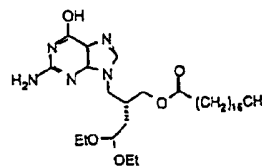


Do 100 ml banky s jedným hrdlom bol vložený surový produkt príkladu 14, krok f) 9,65 g benzylalkoholového roztoku, obsahujúceho 1,30 g, (3,13 mmól) produktu príkladu 14, krok f) rozpusteného v absolútnom EtOH (20 ml). Do tejto zmesi bolo pridaných 0,45 g 10 % Pd/C suspendovaného v 5 ml absolútného EtOH. Z reakčnej banky bol odčerpaný vzduch a vpustený H_2 . Tlak v reakčnej banke bol udržiavaný na 1 atm. H_2 a reakčná zmes bola miešaná cez noc. Reakčná zmes bola filtrovaná cez kremeľinový filter, aby sa odstránilo Pd/C. Prchavé látky boli odstránené vo vákuu. Rezíduum bolo zmiešané s 25 ml izopropylacetátu a potom koncentrované vo vákuu. Rezíduum bolo riedené EtOAc (10 ml), naočkované požadovaným produktom, zahriate na teplotu spätného toku a potom boli pridané CH_3CN (2 ml) a MTBE (35 ml). Zmes bola miešaná počas 30 minút. Precipitát bol filtrovaný a sušený na konštantnú hmotnosť 600 mg požadovaného produktu.

300 MHz ^1H NMR (d_6 -DMSO): δ 1,16 (m, 6H); 1,45 (m, 1H); 1,61 (m, 1H); 2,16 (m, 1H); 3,45 (m, 2H); 3,40 (m, 1H); 3,62 (m, 2H); 4,02 (m, 2H); 4,53 (t, 1H); 4,85 (t, 1H); 6,55 (bs, 1H); 7,75 (s, 1H).

MS= (M+H) $^+$ =416(Cl).

h) Príprava

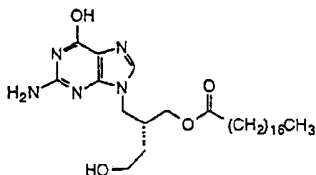


Do 25 ml banky s jedným hrdlom bol vložený produkt príkladu 14, krok g) (0,650 g, 2,0 mmól), pyridín (4 ml) a CH_2Cl_2 (2 ml), DMAP (10 mg). Zmes bola ochladená na teplotu -5°C a v priebehu 5 minút bol pridaný stearylchlorid (790 mg, 2,6 mmól) rozpustený v CH_2Cl_2 (0,5 ml). Vzniknutá zmes bola miešaná 16 hodín pri teplote -5°C . Bol pridaný absolútny EtOH (0,138 g, 3,0 mmólov) a zmes bola miešaná ďalšiu 1 hodinu. Reakčná zmes bola koncentrovaná vo vákuu. Do rezídua bol pridaný toluén (30 ml) a potom zmes bola koncentrovaná vo vákuu. Do rezídua bol pridaný 1 % KH_2PO_4 (25 ml) a táto zmes bola extrahovaná CH_2Cl_2 (60 ml). Organická vrstva bola separovaná a sušená nad Na_2SO_4 , filtrovaná a koncentrovaná vo vákuu na konštantnú hmotnosť 1,65 g. Surový produkt bol chromatografovaný na 40 g

SiO₂, vymývaný zmesou 95/5 CH₂Cl₂ - EtOH, čo poskytlo 367 mg požadovaného produktu.

300 MHz ¹H NMR (CDCl₃): δ 0,89 (t, 3H); 1,26 (m, 30H); 1,65 (m, 3H); 2,32 (m, 1H); 3,45 (m, 1H); 3,60 (m, 2H); 4,08 (m, 2H); 4,60 (m, 1H); 6,0 (bs, 2H); 7,53 (s, 1H).

i) Príprava



Do 25 ml banky s jedným hrdlom bol vložený produkt príkladu 14, krok h) (0,234 g, 0,394 mmólu) rozpustený v THF (1,7 ml). Do tohto roztoku bola pridaná kyselina tri-fluórmetánsulfónová (0,108 g) v H₂O 180 mg. Zmes bola miešaná cez noc pri teplote okolia. Do reakčnej zmesi bol pridaný nasýtený roztok NaHCO₃ (10 m), THF (5 ml), CH₂Cl₂ (2 ml) a NaBH₄ (0,10 g). Táto zmes bola miešaná počas 30 minút. Do reakčnej zmesi bol pridaný 5 % roztok CH₃PO₄ (30 ml). Táto zmes bola extrahovaná 2 x 15 ml CH₂Cl₂. Organické vrstvy boli zlúčené a sušené nad Na₂SO₄, filtrované a koncentrované vo vákuu na konštantnú hmotnosť 207 mg. Tento materiál bol rekryštalizovaný z EtOAc (8 ml) a CH₃CN (0,5 ml), čo poskytlo 173 mg požadovaného produktu.

300 MHz ¹H NMR (d₆-DMSO): δ 0,82 (t, 3H); 1,19 (m, 30H); 1,41 (m, 4H); 2,19 (t, 2H); 2,32 (m, 1H); 3,40 (m, 2H); 3,9 (m, 4H); 4,49 (m, 1H); 6,4 (bs, 2H); 7,61 (m, 1,5H); 9,55 (m, 0,5H).

Príklad 15

Alternatívna príprava (R)-9-[4-(N-terc.butyloxykarbonyl-L-valyloxy)-2-(stearoyl-oxymetyl)butyl]guanín

(R)-9-[2-(Stearoyloxymetyl)-4-(terc.butylidifenylsilyloxy)butyl]guanín (45 g) a THF (950 ml) boli zlúčené v 2 l banke. Potom bol pridaný Boc-L-valín (3,22 g, 0,25 ekviv.), nasledovaný tetrabutylamónium fluoridom (1M v THF, 89,05 ml) v priebehu 10 minút. Číra reakčná zmes bola miešaná pri teplote okolia v čase 2 hodiny a 50 minút a reakcia bola monitorovaná pomocou TLC (90/10 CH₂Cl₂/MeOH).

Do reakčnej zmesi bol pridaný Boc-L-valín (35,43 g, 2,75 ekviv.), DCC (36,67 g, 2,75 ekviv.) a dimetylamino-pyridín (1,1 g, 0,15 ekviv.) v THF (25 ml). Reakčná zmes bola miešaná pri teplote okolia počas 24 hodín. DCU bol odfiltrovaný a premývaný CH₂Cl₂. Filtrát bol koncentrovaný a reziduum bolo vybraté v 2 l CH₂Cl₂ a premývané 2 l 1/2 nasýteného kyslého uhličitanu sodného a sol'ankou. Po sušení a odparení sa získalo približne 100 g surového produktu. Materiál bol čistený chromatografiou na oxide kremičitom (6000 ml oxidu kremičitého) použitím 3 % MeOH/CH₂Cl₂ až 5 % MeOH/CH₂Cl₂, čo poskytlo 38,22 mg požadovaného produktu.

Príklad 16

Alternatívna príprava (11)-9-[2-(stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

a) (R)-9-[2-Hydroxymetyl)-4-(terc.butylidifenylsilyloxy-metyl)butyl]guanín H2G (450,0 g, 1,78 mólu) a N,N-dimetylformamid (6,4 kg) boli vložené do Buchiho od-

parky a zmes bola zahriata, aby sa pevná látka rozpustila. Roztok bol koncentrovaný do sucha vo vákuu pri teplote nie väčšej ako 90 °C. Vzniknutý prášok bol prenesený do 22 litrovej banky s miešadlom, prívodom a teplotnou sondou. Bol pridaný N,N-dimetylformamid (1,7 kg), nasledovaný pyridínom (3,53 kg). Vzniknutá suspenzia bola ochladená na teplotu -10 °C pod dusíkovou atmosférou a miešaná pri teplote -5 ± 5 °C, zatiaľ čo bol pridaný po kvapkách terc.butylchlórdifenylosilán (684 g, 2,49 mólu). Vzniknutá zmes bola miešaná pri teplote -5 ± 5 °C, kým reakcia neskončila (monitorované TLC (10 : 1 metylénchlorid/metanol) a HPLC (4,6 x 250 mm Zorbax RXC8 (5 mikróv), 60 : 40 acetonitril - aq. NH₄OAc (0,05 M) pri 1,5 ml/min; UV detekcia pri 254 nm)). Bola pridaná voda (16 kg) a zmes sa miešala počas 30 minút do precipitácie produktu, potom zmes bola ochladená na teplotu 0 °C v priebehu 30 minút. Pevná látka bola izolovaná filtráciou a produkt bol premývaný studenou vodou a sušený suchým vzduchom, čo dalo surový produkt ako belavú pevnú látku. Surová pevná látka bola vybratá v pyridíne (3 kg) a koncentrovaná vo vákuu pri teplote 60 °C, aby sa odstránila voda. Suché reziduum vo forme pevnej látky bolo suspendované s metanolom (10 kg) pri teplote 60 °C v priebehu 1 - 2 hodín a filtrované, kým bolo horúce. Filtrát bol koncentrovaný vo vákuu a pevná látka bola zahrievaná na teplotu spätného toku s izopropylacetátom (7 kg) počas 30 minút. Zmes bola ochladená na teplotu 20 °C a filtrovaná. Filtračný koláč bol sušený vo vákuu pri teplote 50 °C, čo poskytlo zlúčeninu z názvu ako bielu pevnú látku (555 g).

b) (R)-9-[2-(Stearoyloxymetyl)-4-(terc.butylidifenylosilyloxy)butyl]guanín

Produkt príkladu 16, krok a) (555 g, 1,113 mólu) bol vložený do 50 litrovej Buchiho odparky. Pyridín (2,7 kg) bol pridaný po kvapkách, aby rozpustil pevnú látku a zmes bola destilovaná do sucha vo vákuu pri teplote 60 °C. Reziduum bolo vybrané v čerstvom pyridíne (2,7 kg) a prenesené do 22 litrovej banky s miešadlom, prívodom a teplotnou sondou. Roztok bol ochladený na teplotu -5 °C pod dusíkovou atmosférou. Bol pridaný roztok stearoylchloridu (440 g, 1,45 mólu) v metylénchloride (1,5 kg), pričom teplota sa udržiavala pod 0 °C. Pridal sa 4-(N,N-dimetyl-amino)pyridín (15 g, 0,12 mólu) a zmes bola miešaná pri teplote -5 - 0 °C v čase 2 - 4 hodiny, kým konverzia nebola skončená (ako bolo monitorované TLC (10 : 1 metylénchlorid/metanol) a HPLC (4,6 x 250 mm Zorbax RXC8 (5 mikróv); 60 : 40 acetonitril - aq. NH₄OAc (0,05 M) pri 1,5 ml/min; UV detekcia pri 254 nm)). Po skončení reakcie bol pridaný acetonitril (8,7 kg) a zmes sa miešala v čase nie kratšom ako 15 minút, aby produkt precipitoval. Suspenzia bola ochladená na teplotu 0 °C v priebehu 2 hodín a pevná látka bola izolovaná filtráciou a filtračný koláč bol premývaný acetonitrilom (2 kg). Požadovaný produkt bol získaný ako biela pevná látka (775 g).

c) (R)-9-[4-Hydroxy-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín

Roztok produktu príkladu 16, krok b) (765 g, 0,29 mólu) v tetrahydrofuráne (10 kg) bol pripravený v reaktore. Roztok tetra(n-butyl)amóniumfluoridu v tetrahydrofuráne (1,7 kg 1 M roztok, 1,7 mólu) bol pridaný a vzniknutý číry roztok bol miešaný pri teplote 20 až 50 °C v čase 4 hodiny. Pridala sa voda (32 kg) a vzniknutá suspenzia bola miešaná 1 hodinu a potom ochladená na teplotu 0 °C v priebehu 30 minút. Precipitát bol izolovaný filtráciou a filtračný koláč bol premývaný postupne vodou (10 kg) a acetonitrilom (5 kg). Po sušení vo vákuu pri teplote 25 °C bolo získaných 702 g surového produktu. Surový produkt

bol rozpustený pri teplote spätného toku v THF (4,2 kg) a vode (160 g), potom ochladený na teplotu 40 °C a pôsobilo sa na ňu metylénchloridom (14,5 kg). Zmes bola nechaná ochladnúť na teplotu 25 ± 5 °C v priebehu 1 hodinu, potom bola ochladená na teplotu 5 ± 5 °C v priebehu 1 hodiny, aby sa skončila precipitácia. Mierne belavý prášok bol izolovaný filtráciou a sušený vo vákuu pri teplote 40 °C, čo poskytlo požadovaný produkt (416 g).

d) (R)-9-[4-(N-Cbz-L-Valyloxy)-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín

Roztok N-Cbz-L-valínu (169 g, 0,67 mólu) v bezvodom THF (750 ml) bol pripravený v 2 litrovej banke s mechanickým miešadlom, teplomerom a prívodom. Roztok dicyklohexylkarbodiimidu (69,3 g, 0,34 mólu) v THF (250 ml) bol pridaný v priebehu 5 minút a vzniknutá suspenzia sa miešala pri teplote 20 ± 5 °C v čase 2 hodiny. Suspenzia bola filtrovaná a filtračný koláč bol premývaný THF (300 ml). Filtrát bol vložený do 3 litrovej banky s miešadlom a teplomerom. Produkt príkladu 16, krok c) (116 g, 0,22 mólu) bol pridaný ako pevná látka, s preplachovaním THF (250 ml). Pridal sa 4-(N,N-dimetylaminopyridín) (2,73 g, 0,022 mólu) a biela suspenzia sa miešala pri teplote 20 ± 5 °C. V priebehu 15 minút boli všetky pevné látky rozpustené a reakcia bola skončená za 1 hodinu (ako bolo určené pomocou HPLC: 4,6 x 250 mm Zorbax RXCS kolóna; 85 : 15 acetonitril - 0,2 % aq. HClO₄ pri 1 ml/min.; UV detekcia pri 254 nm; východiskový materiál vymývaný po 4,1 min. a produkt vymývaný po 5,9 min.). Reakčná zmes bola prepláchnutá pridaním vody (5 ml) a roztok bol koncentrovaný vo vákuu, čo dalo slabo žltú polotuhú látku. Látka bola vybratá v metanole (1,5 l) a zahriata na teplotu spätného toku v priebehu 30 minút. Roztok bol ochladený na teplotu 25 °C a precipitát bol odstránený filtráciou. Filtrát bol koncentrovaný vo vákuu, čo poskytlo viskózný bledozltý olej. Pridal sa acetonitril (1 l) a vzniknutá biela suspenzia sa miešala pri teplote 20 ± 5 °C počas 90 minút. Surová pevná látka bola izolovaná filtráciou, premývaná acetonitrilom (2 x 100 ml) a sušená na vzduchu cez noc, čo poskytlo požadovaný produkt ako voskovitú lepiú pevnú látku (122 g). Látka bola ďalej čistená kryštalizáciou z etylacetátu (500 ml) a sušením vo vákuu pri teplote 30 °C, čo poskytlo požadovaný produkt ako bielu voskovitú pevnú látku (104 g).

e) (R)-9-[4-(L-Valyloxy)-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín

Roztok produktu príkladu 16, krok d) (77 g) v horúcom (40 °C) etanole (2,3 l) bol vložený do hydrogenačného reaktora s 5 % Pd/C (15,4 g). Zmes sa miešala pri teplote 40 °C za tlaku 40 psi vodíka v čase 4 hodiny, plyn bol odčerpaný a zmes bola hydrogenovaná počas ďalších 4 - 10 hodín. Katalyzátor bol odstránený filtráciou a filtrát bol koncentrovaný vo vákuu, čo poskytlo bielu pevnú látku. Látka sa miešala s etanolom (385 ml) pri teplote 25 °C 1 hodinu, potom ochladená na teplotu 0 °C a filtrovaná. Filtračný koláč bol sušený vzduchom, potom vo vákuu pri teplote 35 °C, čo poskytlo zlúčeninu z názvu ako biely prášok (46 g).

Príklad 17

(R)-9-[2-(L-Valyloxymetyl)-4-(stearoyloxy)butyl]guanín

a) (R)-9-[2-Hydroxymetyl-4-(stearoyloxy)butyl]guanín H₂G (506 mg, 2,0 mmólu) bol rozpustený v bezvodom N,N-dimetylformamide (40 ml) s pyridínom (400 mg, 5,06 mmólu) a 4-dimetylaminopyridínom (60 mg, 0,49 mmólu). Pridal sa stearylchlorid (1500 mg, 4,95 mmólov)

a zmes sa udržiavala cez noc pri teplote okolia. Väčšina rozpúšťadla bola odparená vo vákuu, reziduum miešané so 70 ml etylacetátu a 70 ml vody a pevná látka odfiltrovaná, premývaná etylacetátom a vodou a sušená, čo poskytlo 680 mg surového produktu. Chromatografia na kolóne silikagélu (chloroform metanol 15 : 1) dala čistú zlúčeninu z názvu ako bielu pevnú látku.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 0,86 (t, 3H); 1,25 (s, 28H); 1,51 (qui, 2H); 1,62 (m, 2H); 2,06 (m, 1H); 2,23 (t, 2H); 3,34 (d, 2H); 3,96 (ABX, 2H); 4,07 (dd, 2H); 6,30 (br s, 2H); 7,62 (s, 1H); 10,45 (s, 1H).

¹³C NMR (DMSO-d₆) δ: 13,8 (C18); 22,0 (C17); 24,4 (C3); 27,7 (C3'); 28,4-28,8 (C4-6, C15); 28,9 (C7-14); 31,2 (C16); 33,5 (C2); 38,0(C2'); 44,0 (C1'); 60,6/61,8 (C4', C2''); 116,5 (guaC5); 137,7 (guaC7); 151,4 (guaC4); 153,5 (guaC2); 156,7 (guaC6); 172,7 (COO).

b) (R)-9-[2-(N-Boc-L-Valyloxymetyl)-4-(stearoyloxy)butyl]guanín

Zmes N-Boc-L-valínu (528 mg, 2,1 mmólu) a N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu (250 mg, 1,21 mmol) v dichlórmetáne (20 ml) sa miešala cez noc pri teplote okolia, dicyklohexyl - močovina bola odfiltrovaná a extrahovaná malým objemom dichlórmetánu a filtrát bol odparený vo vákuu na malý objem. Pridal sa (R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(stearoyloxy)butyl]guanín (340 mg, 0,654 mmólu), 4-dimetylaminopyridín (25 mg, 0,205 mmólu) a bezvodý N,N-dimetylformamid (15 ml) a zmes sa miešala 4 hodiny pri teplote 50 °C pod N₂. Rozpúšťadlo sa odparilo vo vákuu na malý objem. Chromatografia na kolóne silikagélu, potom na oxide hliníto (vymývanie etylacetát : metanol : voda 15 : 2 : 1) poskytla 185 mg (39 %) čistej zlúčeniny z názvu ako bielej pevnej látky.

¹H NMR (CHCl₃) δ: 0,85-1,0 (m, 9H) 18-CH₃, CH(CH₃)₂; 1,25 (s, 28H) 4-17-CH₂; 1,44 (s, 9H) t-Bu; 1,60 (qui, 2H) 3-CH₂; 1,74 (qua, 2H) 3'-CH₂; 2,14 (m, 1H) 2'-CH; 2,29 (t, 2H) 2-CH₂; 2,41 (m, 1H) CH(CH₃)₂; 4,1-4,3 (m, 6H) C1'-CH₂, C2''-CH₂, C4-CH₂; 5,4 (d, 1H) αCH; 6,6 (br s, 2H) guaNH₂; 7,73 (s, 1H) guaH8; 12,4 (br s).

¹³C NMR (CHCl₃) δ: 13,9 (C18); 17,5/18,9 (2 Val CH₃); 22,4 (C17); 24,7 (C3); 28,1 (C3'); 28,9-29,3 (C4-6, C15); 29,4 (C7-14); 30,7 (Val βC); 31,7 (C16); 34,0(C2); 35,9 (C2'); 43,9 (C1'); 58,7 (Val αC); 61,4/63,6 (C4', C2''); 79,9 (CMe₃); 116,4 (guaC5); 137,9 (guaC7); 151,7 (guaC4); 153,7 (guaC2); 155,7 (CONH); 158,8 (guaC6); 172,1 (CHCOO); 173,5 (CH₂COO).

c) (R)-9-[2-(L-Valyloxymetyl)-4-(stearoyloxy)butyl]guanín

Ochladená kyselina trifluóroctová (2,0 g) bola pridaná do (R)-9-[2-(N-Boc-L-valyloxymetyl)-4-(stearoyloxy)butyl]guanínu (180 mg, 0,25 mmólu) a roztok sa udržiaval pri teplote okolia počas 1 hodinu, odparený na malý objem a lyofilizovaný opakovaně s dioxánom, kým sa nezískal biely amorfny prášok. Výťažok zlúčeniny z názvu, získanej ako trifluóracetátová soľ, bol kvantitatívny.

¹H NMR (DMSO-d₆) δ: 0,87 (t, 3H) 18-CH₃, 0,98 (dd, 6H) CH (CH₃)₂; 1,25 (s, 28H) 4-17-CH₂; 1,5 (qui, 2H) 3-CH₂; 1,68 (qua, 2H) 3'-CH₂; 2,19 (m, 1H) 2'-CH; 2,26 (t, 2H) 2-CH₂; 2,40 (m, 1H) CH(CH₃)₂; 3,9-4,25 (m, 7H) C1'-CH₂, C2''-CH₂, C4-CH₂, αCH; 6,5 (br s, 2H) guaNH₂; 7,79 (s, 1H) guaH8; 8,37 (br s, 3H) NH₃⁺; 10,73 (br s, 1H) guaNH.

¹³C NMR (DMSO-d₆) δ: 14,2 (C18); 17,9/18,3 (2 Val CH₃); 22,3 (C17); 24,6 (C3); 27,7 (C3'); 28,7-29,1 (C4-6, C15); 29,2 (C7-14); 29,5 (Val βC); 31,5 (C16); 33,7 (C2); 35,0 (C2'); 44,1 (C1'); 57,6 (Val αC); 61,6/65,2 (C4', C2''); 116,1 (guaC5); 116,3 (qua, J 290Hz, CF₃); 137,9 (guaC7); 151,5 (guaC4); 154,0 (guaC2); 156,7 (guaC6); 158,3 (qua, J 15Hz, CF₃COO) 169,1 (CHCOO); 173,1 (CH₂COO).

Príklad 18

Alternatívna príprava (R)-9-[2-hydroxymetyl-4-(stearoyloxy)butyl]guanín

H₂G (7,60 g, 30 mmólov) bol zahrievaný v roztoku v bezvodom DMF (200 ml). Roztok bol filtrovaný, aby sa odstránili nečistoty pevnej látky, ochladený na teplotu 20 °C (H₂G kryštalizoval) a miešaný pri tejto teplote počas pridávania pyridínu (9,0 g, 114 mmólov), 4-dimetylaminopyridínu (0,46 g, 3,75 mmólov) a potom, pomaly, stearylchloridu (20,0 g, 66 mmólov). Miešanie pokračovalo pri teplote okolia cez noc. Väčšina rozpúšťadla bola potom odparená vo vákuu, reziduum sa miešalo s 200 ml etylacetátu a 200 ml vody a pevná látka bola odfiltrovaná, premývaná etylacetátom a vodou a sušená, čo dalo surový produkt. Ako alternatíva k rekryštalizácii surový produkt bol rýchlo zahriaty takmer na teplotu varu so 100 ml zmesi etylacetát : metanol : voda (15 : 2 : 1) a suspenzia bola pomaly ochladená na teplotu 30 °C a filtrovaná, čo poskytlo väčšinu 2'' izoméru v roztoku (2'' izomér by kryštalizoval pri nižšej teplote). Extrakčná procedúra bola potom opakovaná ešte raz, čo poskytlo po sušení vo vákuu 6,57 g (42 %) produktu takmer zbaveného izoméru.

Príklad 19

Príprava kryštalického (R)-9-[2-stearoyloxymetyl-4-(L-valyloxy)butyl]guanínu

Produkt príkladu 16, krok c) (20,07 g, 32,5 mmólov) bol rozpustený v absolútnom etanole (400 ml) s ohrievaním, filtrovaný a ďalej riedený etanolom (117,5 ml). Do tohto roztoku bola pridaná voda (HPLC kvalita, 103,5 ml) a zmes sa nechala ochladnúť na teplotu 35 - 40 °C. Po ochladení zmesi bola pridaná voda (HPLC kvalita, 931,5 ml) s konštantným prítokom v priebehu 16 hodín s účinným miešaním. Po pridaní všetkej vody miešanie pokračovalo 4 hodiny pri teplote okolia. Vzniknutý precipitát bol filtrovaný cez papier a sušený vo vákuu pri teplote okolia, čo poskytlo zlučeninou z názvu ako biely sypký kryštalický prášok (19,43 g, 97 %), teplota topenia 169 - 170 °C.

Príklad 20

9-R-(4-Hydroxy-2-(L-valyloxymetyl)butyl]guanín

a) Do roztoku 9-R-(4-terc.butylidifenylsilyloxy)-2-(hydroxymetyl)butyl] guanínu (695 mg, 1,5 mmólu) v DMF (30 ml) bol pridaný N-Boc-L-valín (488 mg, 2,25 mmólu), 4-dimetylaminopyridín (30 mg, 0,25 mmólu) a DCC (556 mg, 2,7 mmólu). Po 16 hodinách bol do reakčnej zmesi znova vložený N-Boc-L-valín (244 mg) a DCC (278 mg) a reakcia sa udržiavala počas ďalších 5 hodín. Reakčná zmes bol filtrovaná cez Celite a vliata na vodný roztok kyslého uhlíčitanu sodného a potom bola extrahovaná dichlórmetánom. Organická fáza bola odparená a čistená chromatografiou na kolóne silikagélu, čo poskytlo 950 mg N-chráneného monoamino acylovaného medziproduktu.

b) Uvedený medziprodukt (520 mg, 0,78 mmólu) bol rozpustený v THF (15 ml). Do roztoku bol pridaný hydrogénfluorid v pyridíne (70 %/30 %, 0,34 ml). Po dvoch dňoch bol roztok odparený a spoločne odparený s toluénom. Čis-

tenie chromatografiou na kolóne silikagélu poskytlo 311 mg chránenej monoamino acylovanéj zlučeny.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 10,41 (s, 1H), 7,59 (1H), 6,26 (br s, 2H), 4,32 (t, 1H), 3,95 (m, 5H), 3,46 (m, 2H), 2,41 (m, 1H), 2,06 (m, 1H), 1,45 (m, 2H), 1,39 (s, 9H), 0,90 (d, 6H).

c) Na produkt kroku b) (95 mg, 0,21 mmólu) sa pôsobilo zmesou kyseliny trifluóroctovej (4 ml) a dichlórmetánu (6 ml) v čase 1 hodinu. Roztok bol odparený a sušený vymrazením, čo poskytlo 125 mg nechráneného monoaminoacylového produktu.

¹H-NMR (D₂O): δ 8,88 (s, 1H), 4,32 (m, 4H), 3,96 (d, 1H), 3,68 (m, 2H), 2,63 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 1,73 (m, 2H), 1,00 (m, 6H).

Príklad 21

(R)-9-(2-Hydroxymetyl-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín

a) Do roztoku (R)-9-(2-hydroxymetyl-4-hydroxybutyl)guanínu (2,53 g, 10 mmólov) v DMF (250 ml) sa pridal N-Boc-L-izoleucín (2,77 g, 12 mmólov), 4-dimetylaminopyridín (61 mg, 0,6 mmólu) a DCC (3,7 g, 18 mmólov). Po reakcii počas 16 hodín pri teplote 0 °C sa znova pridal N-Boc-L-izoleucín (1,3 g) a DCC (1,8 g) a reakcia sa udržiavala cez noc pri teplote okolia. Reakčná zmes bola filtrovaná cez Celite a filtrát bol odparený a čistený chromatografiou na kolóne silikagélu, čo poskytlo 1,25 g N-chráneného monoaminoacylovaného medziproduktu.

¹H-NMR (DMSO-d₆): δ 10,56 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 6,43 (s, 2H), 4,75 (t, 1H), 4,15-3,80 (m, 5H), 3,25 (m, 2H), 2,05 (m, 1H), 1,80-1,05 (m, 14H), 0,88 (m, 6H).

b) Na medziprodukt z kroku a) (100 mg, 0,21 mmólu) sa pôsobilo kyselinou trifluóroctovou (3 ml) počas 30 minút pri teplote 0 °C. Roztok bol odparený a sušený vymrazením, čo poskytlo nechránený mono - aminocylovaný produkt z názvu v kvantitatívnom výťažku.

¹H-NMR (DMSO-d₆ + D₂O): δ 8,72 (s, 1H), 4,15 (m, 4H), 3,90 (d, 1H), 3,42 (m, 2H), 2,09 (m, 1H), 1,83 (m, 1H), 1,61 (m, 2H), 1,15 (m, H), 0,77 (d, 3H), 0,71 (t, 3H).

Príklad 22

(R)-9-(2-Hydroxymetyl)-4-(L-valyloxybutyl]guanín

Produkt príkladu 1, krok a) bol zbavený ochrany kyselinou trifluóroctovou rovnakým spôsobom ako v príklade 1, krok c).

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆): δ 1,04 (dd, 6H), 1,55-1,88 (m, 2H), 2,21 (m, 2H), 3,48 (m, 2H), 4,00 (m, 1H), 4,13 (m, 2H), 4,34 (t, 2H), 6,9 (br s, 2H), 8,21 (s, 1H), 8,5 (br s, 3H), 11,1 (br s, 1H).

Príklad 23

(R)-9-[2-(L-Valyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

a) (R)-9-[4-(N-Boc-L-Valyloxy)-2-(N-Boc-L-valyloxymetyl)butyl]guanín

Aplikácia spôsobu opísaného v príklade 1, krok a), ale s použitím 2,7 ekvivalentov N-Boc-L-valínu, 0,28 ekvivalentov DMAP a 3,2 ekvivalentov DCC poskytlo zlučeninou z názvu.

¹H-NMR (250 MHz, CHCl₃) δ. 0,95 (m, 12H), 1,42 (br s, 18H), 1,8 (m, 2H), 2,14 (m, 2H), 2,47 (m, 1H), 4,0-4,4 (m, 8H), 6,5 (br s, 2H), 7,67 (s, 1H).

b) (R)-9-[4-(L-Valyloxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu sa získala ako tris-trifluóroctová soľ z medziproduktu príkladu 20, krok a) zbavením ochranných skupín analogickým spôsobom ako v príklade 1, krok c).

¹H-NMR (250 MHz, D₂O) δ: 1,0 (m, 12H), 1,89 (m, 2H), 2,29 (m, 2H), 2,62 (m, 1H), 4,02 (dd, 2H), 4,38 (m, 6H), 4,89 (br s, ca. 10H), 8,98 (s, 1H).

Príklad 24

(R)-9-[4-Hydroxy-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu sa pripraví podľa krokov a) až c) príkladu 7.

¹H-NMR (250 MHz, DMSO-d₆) δ: 10,52 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 6,39 (s, 2H), 4,50 (t, 1H), 3,93 (m, 4H), 3,42 (m, 2H), 2,45 (m, 1H), 2,23 (t, 2H), 1,48 (m, 4H), 1,22 (s, 28H), 0,89 (t, 3H).

Príklad 25

(R)-9-[2-Hydroxymetyl-4-(stearoyloxy)butyl]guanín

Zlúčenina z názvu sa pripraví spôsobom podľa príkladu 17, krok a).

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 0,86 (t, 3H); 1,25 (s, 28H); 1,51 (qui, 2H); 1,62 (m, 2H); 2,06 (m, 1H); 2,23 (t, 2H); 3,34 (d, 2H); 3,96 (ABX, 2H); 4,07 (dd, 2H); 6,30 (br s, 2H); 7,62 (s, 1H); 10,45 (s, 1H).

Príklad 26

Alternatívna príprava (R)-9-(2-stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanínu

a) (R)-9-[4-N-Benzoyloxykarbonyl-L-valyloxy)-2-(hydroxymetyl)butyl]guanín

Bezvodý H₂G (252 mg, 1 mmól), 4-dimetylaminopyridín (122 mg, 1 mmól) a N-Cbz-L-valín p-nitrofenylový ester (408 mg, 1,1 mmól) boli rozpustené v bezvodom dimetylformamide (16 ml). Po miešaní pri teplote 23 °C počas 30 hodín bolo odobraté organické rozpúšťadlo a rezíduum bolo opatrne chromatografované (oxid kremičitý, 2 - 7 % metanol/metylénchlorid), čo poskytlo požadovaný produkt ako bielu pevnú látku (151 mg, 31 %).

b) (R)-9-[4-(N-Benzoyloxykarbonyl-L-valyloxy)-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín

Roztok stearoylchloridu (394 mg, 1,3 mmól) v bezvodom metylénchloride (2 ml) bol pomaly pridaný po kvapkách pod dusíkovou atmosférou do roztoku produktu kroku a) (243 mg, 1 mmól) a 4-dimetylaminopyridínu (20 mg) v bezvodom pyridíne (5 ml) pri teplote -5 °C. Reakčná zmes sa miešala pri tejto teplote počas 12 hodín. Pridal sa metanol (5 ml) a reakčná zmes sa miešala v čase 1 hodinu. Po odstránení rozpúšťadla bolo rezíduum rozotrené s acetonitrilom a chromatografované (oxid kremičitý, 0 - 5 % metanol/metylénchlorid), čo poskytlo požadovaný produkt (542 mg, 72 %).

c) (R)-9-[2-Stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

Produkt kroku b) (490 mg, 1 mmól) bol rozpustený v metanole (30 ml) a pridalo sa 5 % Pd/C (100 mg). Na hornú časť reakčnej nádoby sa umiestnil balón s vodíkom. Po 6 hodinách pri teplote 23 °C TLC preukázala neprítomnosť východiskového materiálu. Reakčná zmes bola filtrovaná cez 0,45 mikróv silnú nylonovú membránu, aby sa odstránil katalyzátor a rozpúšťadlo bolo odstránené, aby sa získal požadovaný produkt ako biela pevná látka (350 mg, 99 %), ktorá bola identická (spektrálne a analytické dáta) s látkou z príkladu 16.

Príklad 27

Alternatívna príprava (R)-9-(4-hydroxy-2-(L-valyloxymetyl)butyl]guanínu

(R)-9-[4-(L-Valyloxy)-2-(L-valyloxymetyl)butyl]guanín z príkladu 23, krok b) (100 mg, 0,126 mmól) bol rozpustený v 0,1 N NaOH vodnom roztoku (6,3 ml, 0,63 mmól) pri teplote okolia. V intervaloch boli odoberané alikvoty a neutralizované 0,5 N kyselinou trifluóroctovou, odparené a analyzované pomocou HPLC, aby sa monitoroval postup reakcie. Po 4 hodinách bol do roztoku pridaný roztok 0,5 N kyseliny trifluóroctovej (1,26 ml, 0,63 mmól) a rekčná zmes bola odparená. Požadovaný produkt bol čistený pomocou HPLC (YMC, 50 x 4,6 mm, gradient 0,1 % TFA + 0 - 50 % 0,1 % TFA v acetonitrile, po 20 minútach, UV detekcia pri 254 nm. Výťažok: 13,6 %.

¹H-NMR (D₂O): δ 8,81 (s, 1H), 4,36 (m, 4H), 4,01 (d, 1H), 3,74 (m, 2H), 2,64 (m, 1H), 2,25 (m, 1H), 1,73 (m, 2H), 1,03 (dd, 6H).

Príklad 28

Alternatívna príprava (R)-9-(2-hydroxymetyl-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

HPLC separácia reakčného roztoku z príkladu 27 poskytla zlúčeninu z názvu s 29,2 % výťažkom.

¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 8,38 (s, 3H), 8,26 (s, 1H), 6,83 (br s, 2H), 4,23 (m, 2H), 4,06 (m, 2H), 3,91 (m, 1H), 3,40 (m, 2H), 2,19 (m, 2H), 1,8-1,4 (m, 2H), 0,95 (dd, 6H).

Príklad 29

(R)-9-[2-Stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín monohydrochlorid

Produkt príkladu 16, krok d) (360 mg, 0,479 mmól) bol rozpustený v zmesi metanolu (10 ml) a etylacetátu (10 ml). Do roztoku bol pridaný 10 % Pd/C (100 mg) a 1N HCl (520 mikrolitrov). Reakčná zmes bola miešaná pri teplote okolia v čase 2 hodiny pod 1 atm. H₂. Reakčná zmes bola filtrovaná a rozpúšťadlo sa odparilo z filtrátu, čo prinieslo požadovaný produkt ako kryštalickú pevnú látku (300 mg).

Príklad prípravku A

Tabletky

Nasledujúce prísady boli preosievané 0,15 mm sitom a miešané za sucha.

10 g (R)-9-[2-(stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

40 g laktóza

49 g kryštalická celulóza

1 g stearan horečnatý

Bol použitý tabletkovací stroj na lisovanie zmesi na tabletky obsahujúce 250 mg aktívnej zložky.

Príklad prípravku B

Poťahované tabletky

Tabletky podľa príkladu A boli pokryté roztokom, obsahujúcim:

120 g etylcelulózy

30 g propylénglykolu

10 g sorbitan monooleátu

ad 1 000 ml aq. dist.

Príklad prípravku C

Prípravok s oneskoreným uvoľňovaním

50 g (R)-9-[2-(stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

12 g hydroxypropylmetylcelulóza (Methocel K15)

4,5 g laktóza

boli zmiešané za sucha a granulované s vodnou pastou povídnou. Bol pridaný stearan horečnatý (0,5 g) a zmes bol komprimovaná v tabletkovacom stroji na tabletky s priemerom 13 mm, obsahujúce 500 mg aktívneho činidla.

Príklad prípravku D

Mäkké kapsuly

250 g (R)-9-[2-(stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín

100 g lecitínu

100 g podzemnicového oleja

Zlúčenina podľa vynálezu bola dispergovaná v lecitíne a podzemnicovom oleji a plnená do mäkkých želatínových kapsúl.

Biologický príklad 1

Testovanie biologickej dostupnosti pri krysách

Biologická dostupnosť zlúčenín podľa vynálezu bola porovnaná so základnou zlúčeninou H2G a ďalšími H2G derivátmi v krysom modeli. Zlúčeniny podľa vynálezu a porovnávané zlúčeniny boli podávané perorálne (katéter do žalúdka) skupinám troch individuálne vážených zvierat, čo dalo 0,1 mmól/kg rozpustného prekursoru vo vodnom vehikule (príklad 4, 5, porovnávací príklad 1 - 3, 5, 8), vehikule z podzemnicového oleja (porovnávacie príklady 4, 9, 10) alebo propylénglykolu (príklad 1 - 3, 6 - 12, 17, porovnávacie príklady 6, 7) v závislosti od rozpustnosti zložky predstavovanej testovanou zlúčeninou. Zvieratá sa nechali hladovať 5 hodín pred podávaním a približne 17 hodín po podávaní a udržiavali sa v metabolických klietkach. V priebehu 24 hodín po podávaní bol zhromažďovaný moč, ktorý bol zmrazený až do analýzy. H2G bol v moči analyzovaný použitím HPLC/UV testu podľa Stahle a Oberg, Antimikrob Agents Chemother. 36, č. 2, 339 - 342 (1992), modifikovaného nasledujúcim spôsobom: vzorky po rozmrazení boli zriedené 1 : 100 destilovanou H₂O a filtrované cez amikónový filter za centrifugácie pri 3000 ot./min. počas 10 minút. Duplikované vzorky 30 µl boli chromatografované na HPLC kolóne; Zorbax SB-C18; 75 x 4,6 mm; 3,5 mikrónov; obilná fáza 0,05 M NH₄PO₄, 3 - 4 % metanol, pH 3,3 - 3,5; 0,5 m/min.; 254 nm, retenčný čas pre H2G v MeOH 4 % a pH 3,33 ~ 12,5 min. Biologická dostupnosť bola vypočítaná ako meraný odber H2G od každého zvieratá s vytvorením priemeru pre aspoň tri zvieratá a vyjadrením v percentách stredného 24-hodinového odberu H2G z moču pre skupiny 4 individuálne vážených krýs, ktorým bola podaná injekcia i. v. jugularis 0,1 mmól/kg H2G v Kruherovom pufre ako vehikule, analyzovaného ako bolo uvedené skôr.

Porovnávací príklad 1 (H2G) bol z tej istej dávky, ktorá bola použitá na prípravu príkladov 1 až 12. Prípravy pre porovnávací príklad 2 (monoVal-H2G) a 3 (dival-H2G) sú opísané v príkladoch 21 až 23. Porovnávací príklad 4 (distearoyl H2G) bol pripravený diesterifikáciou nechráneného H2G v porovnateľných esterifikačných podmienkach s podmienkami kroku 2 príkladu 1. Porovnávacie príklady 5 a 8 (Val/Ac H2G) boli pripravené analogicky ako v príklade 4 použitím acetánhydridu so zodpovedajúcim monovalinovým H2G. Porovnávací príklad 6 (Ala/stearoyl H2G) bol pripravený analogicky ako v príklade 6 s použitím N-terc. Boc-L-alanínu v kroku 4. Porovnávací príklad 7 (Gly/dekanoyl) bol pripravený analogicky ako v príklade 5, ale použitím medziproduktu kroku 1 vytvoreného s N-terc. Boc-L-glycínom. Príprava porovnávacieho príkladu 9 a 10 je opísaná v príkladoch 24, resp. 25. Výsledky podáva nasledujúca tabuľka.

Tabuľka 2

Zlúčenina	R ₁	R ₂	Biologická dostupnosť
Porovnávací príklad 1	atóm vodíka	atóm vodíka	8 %
Porovnávací príklad 2	valyl	atóm vodíka	29 %
Porovnávací príklad 3	valyl	valyl	36 %
Príklad 1	valyl	stearoyl	56 %
Porovnávací príklad 4	stearoyl	stearoyl	1 %
Príklad 2	valyl	myristoyl	57 %
Príklad 3	valyl	oleoyl	51 %
Príklad 4	valyl	butyryl	45 %
Porovnávací príklad 5	valyl	acetyl	11 %
Príklad 5	valyl	dekanoyl	48 %
Príklad 6	valyl	dokosanoyl	48 %
Príklad 7	izoleucyl	stearoyl	53 %
Príklad 8	izoleucyl	dekanoyl	57 %
Príklad 9	izoleucyl	myristoyl	49 %
Príklad 10	valyl	4-acetylbutyryl	52 %
Príklad 11	valyl	dodekanoyl	46 %
Príklad 12	valyl	palmitoyl	58 %
Príklad 17	stearoyl	valyl	52 %
Porovnávací príklad 6	alanyl	stearoyl	23 %
Porovnávací príklad 7	glycyl	dekanoyl	25 %
Porovnávací príklad 8	acetyl	valyl	7 %
Porovnávací príklad 9	atóm vodíka	stearoyl	12 %
Porovnávací príklad 10	stearoyl	atóm vodíka	7 %

Porovnávanie biologickej dostupnosti zlúčenín podľa vynálezu s porovnávacími príkladmi indikuje, že konkrétne kombinácie mastných kyselín v R₁/R₂ s aminokyselinami v R₁/R₂ prinášajú biologickú dostupnosť výrazne vyššiu ako pri zodpovedajúcom diaminokyselinovom esteri alebo diesteri mastnej kyseliny.

Napríklad v tomto modeli, zlúčenina podľa príkladu 1 má o 55 % lepšiu biologickú dostupnosť ako zodpovedajúci divalínový ester porovnávacieho príkladu 3. Zlúčenina príkladu 4 má o 25 % lepšiu dostupnosť ako zodpovedajúci divalínový ester.

Je tiež zrejmé, napríklad z porovnávacích príkladov 5, 6 a 7, že iba špecifické mastné kyseliny podľa predkladaného vynálezu v kombinácii so špecifickými aminokyselinami prinášajú tieto dramatické a nečakané zmeny farmakokinetických parametrov.

Biologický príklad 2

Plazmové koncentrácie pri krysách

Test plazmovej koncentrácie bol vykonaný so samcami krýs odvodených od Sprague Dawley. Zvieratá sa nechali hladovať cez noc pred dávkovaním, ale bol im daný voľný prístup k vode. Každá z hodnotených zlúčenín bola pripravená ako roztok/suspénzia v propylénglykole v koncentrácii zodpovedajúcej 10 mg H2G/ml a trepaná pri teplote okolia počas 8 hodín. Skupiny krýs (aspoň 4 krýsy v každej skupine) dostali 10 mg/kg (1 ml/kg) orálne dávku každej

zlúčeniny; dávky sa podávali žalúdočnou sondou. V určených okamihoch po dávkovaní (0,25, 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 9, 12, 15 a 24 hodín po dávkovaní) boli z chvostovej žily každého zvieraťa odobraté heparinizované krvné vzorky (0,4 ml/vzorka). Krvné vzorky boli okamžite ochladené v ľadovom kúpeli. Do dvoch hodín po odobratí bola z červených buniek separovaná centrifugáciou plazma, ktorá bola až do analýzy zmrazená. Zložky, ktorých sa analýza týkala, boli separované z plazmových proteínov použitím acetonitrilovej precipitácie. Po lyofilizácii a rekonštitúcii boli určené plazmové koncentrácie reverznou fázovou HPLC s fluorescenčnou detekciou. Orálny príjem H2G a ďalších testovaných zlúčenín bol určený porovnaním H2G oblasti pod krivkou, odvodenou z orálnych dávok v porovnaní s oblasťou získanou z 10 mg/kg intravenózných dávok H2G, podávaných oddelenej skupine krýs. Výsledky sú znázornené v uvedenej tabuľke IB.

Biologický príklad 3

Biologická dostupnosť pri opíciach

Zlúčeniny z príkladu 1 a porovnávacieho príkladu 3 (pozri biologický príklad 1 uvedený skôr) boli podávané p.o. žalúdočnou sondou opiciam cynomolgus. Roztoky obsahovali:

Príklad 1

150 mg, rozpustené v 6,0 ml propylénglykolu, zodpovedajúce 25 mg/kg alebo 0,0295 mmól/kg.

Porovnávacie príklad 3

164 mg, rozpustené v 7,0 ml vody, zodpovedajúce 23,4 mg/kg alebo 0,0295 mmól/kg.

Krvné vzorky boli odobraté po 30 min., 1, 2, 3, 4, 6, 10 a 24 hodinách. Plazma bola separovaná centrifugáciou pri 2500 ot./min. a vzorky boli inaktivované pri teplote 54 °C v priebehu 20 minút pred zmrazením pred analýzou. Plazmové hladiny H2G boli monitorované pomocou HPLC/UV testu podľa uvedeného príkladu 30.

Obr. 1 znázorňuje plazmový H2G odber ako funkciu času. I keď nie je možné vyvodzovať štatisticky významné závery z pokusu s jedným zvieraťom, ukazuje sa, že zviera, ktorému bola podávaná zlúčenina podľa vynálezu, malo trochu rýchlejšiu a trochu vyššiu expozíciu H2G ako zviera, ktoré dostalo alternatívny prekurzor H2G.

Biologický príklad 4

Antivírusová účinnosť

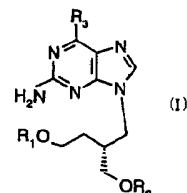
Myši infikované vírusom-1 herpes simplex (HSV-1) slúžili ako zvierací model na určovanie účinnosti antivírusových činidiel in vivo. Myšiam naočkovným intraperitoneálne HSV-1 v množstve 1000-krát vyššom ako LD₅₀, bol podávaný buď prípravok obsahujúci bežne predávané antiherpes činidlo acyklovírus (21 a 83 mg/kg v 2 % propylénglykole v sterilnom vodnom vehikule, trikrát denne, p.o.), alebo zlúčeninu z príkladu 29 (21 a 83 mg/kg v 2 % propylénglykole v sterilnom vodnom vehikule, trikrát denne, p.o.) v priebehu 5 po sebe nasledujúcich dňoch, začínajúc 5 hodín po očkovaní. Denne bola sledovaná úmrtnosť zvierat. Výsledky sú znázornené na obr. 2, ktorý znázorňuje počet prežití v závislosti od času. V legende je zlúčenina podľa vynálezu označená ako Ex₂₉ a acyklovírus je označený ACV. Percento myší, prežívajúcich HSV-1 infekciu, bolo významne vyššie po podaní dávky zlúčeniny podľa vynálezu v porovnaní s ekvivalentnou dávkou acyklovírusu.

Predchádzajúci opis je iba ilustráciou vynálezu a nie je jeho cieľom obmedzovať tu opisovaný vynález. Odborníkovi sú zrejmé zmeny a variácie, ktoré zostávajú v rozsahu

a povahe vynálezu, tak ako je definovaný v priložených nárokoch.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Deriváty 2-amino-9-[2-((substituovaných)-oxymetyl)-4-((substituovaných)-oxy)butyl]purínov všeobecného vzorca (I)



v ktorom substituent

a) R₁ predstavuje skupinu -C(O)CH(CH(CH₃)₂)NH₂ alebo -C(O)CH(CH(CH₃)CH₂CH₃)NH₂ a R₂ predstavuje -C(O)C₃-C₂₁ alebo predstavuje C₃-C₂₁alkyl, alebo mononenasýtený C₃-C₂₁alkenyl, prípadne substituované jednou až piatimi skupinami vybratými zo súboru, zahŕňajúceho hydroxylovú skupinu, C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkoxy, C₁-C₆alkoxy-C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkanoyl, skupinu amino, atóm halogénu, skupinu kyano, azido, oxo, merkaptó a nitro;

b) R₁ predstavuje -C(O)C₃-C₂₁ alebo predstavuje C₃-C₂₁alkyl, alebo mononenasýtený C₃-C₂₁alkenyl, prípadne substituované jednou až piatimi skupinami vybratými zo súboru, zahŕňajúceho hydroxylovú skupinu, C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkoxy, C₁-C₆alkoxy-C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkanoyl, skupinu amino, atóm halogénu, skupinu kyano, azido, oxo, merkaptó a nitro,

R₂ predstavuje skupinu -C(O)CH(CH(CH₃)₂)NH₂ alebo -C(O)CH(CH(CH₃)CH₂CH₃)NH₂; a

R₃ predstavuje skupinu -OH alebo jej tautoméru formu =O a/alebo atóm vodíka;

a jej farmaceuticky prijateľné soli.

2. Deriváty 2-amino-9-[2-((substituovaných)-oxymetyl)-4-((substituovaných)-oxy)butyl]purínov podľa nároku 1, v ktorých substituent

R₁ predstavuje skupinu -C(O)CH(CH(CH₃)₂)NH₂ alebo -C(O)CH(CH(CH₃)CH₂CH₃)NH₂ a

R₂ predstavuje -C(O)C₃-C₂₁ alebo predstavuje C₃-C₂₁alkyl, alebo mononenasýtený C₃-C₂₁alkenyl, prípadne substituované jednou až piatimi skupinami vybratými zo súboru, zahŕňajúceho hydroxylovú skupinu, C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkoxy, C₁-C₆alkoxy-C₁-C₆alkyl, C₁-C₆alkanoyl, skupinu amino, atóm halogénu, skupinu kyano, azido, oxo, merkaptó a nitro.

3. Deriváty 2-amino-9-[2-((substituovaných)-oxymetyl)-4-((substituovaných)-oxy)butyl]purínov podľa nároku 1, v ktorých alkylová skupina -C(=O) zahŕňa C₉ až C₁₇ nasýtený alkyl.

4. Deriváty 2-amino-9-[2-((substituovaných)-oxymetyl)-4-((substituovaných)-oxy)butyl]purínov podľa nároku 1, v ktorých R₃ je hydroxyskupina alebo jej tautoméru forma =O.

5. Zlúčenina podľa nároku 1, zvolená zo súboru zahŕňajúceho

(R)-9-[2-(stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
(R)-9-[2-(myristoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
(R)-9-[2-(oleoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
(R)-9-[2-(butyryloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
(R)-9-[2-(dekanoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,

(R)-9-[2-(dokosanoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(stearoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(dekanoyloxymetyl)-4-(L-izoleucyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[4-(L-izoleucyloxy)-2-(myristoyloxymetyl)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(4-acetylbutyryloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl],
 (R)-9-[2-(dodekanoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-9-[2-(palmitoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]guanín,
 (R)-2-amino-9-(2-stearoyloxymetyl)-4-(L-valyloxy)butyl]-purín,
 (R)-9-[2-(L-valyloxymetyl)-4-(stearoyloxy)butyl]guanín
 alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ.

6. Zlúčenina podľa nároku 1, ktorou je (R)-9-[2-(stearoyloxymetyl)-4-(L-valyl-oxy)butyl]guanín alebo jeho farmaceuticky prijateľná soľ.

7. Farmaceutická kompozícia, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že zahŕňa zlúčeninu podľa nároku 1 spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom.

8. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 7, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že zahŕňa zlúčeninu podľa nároku 5 spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo rozpúšťadlom.

9. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 7, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že zahŕňa zlúčeninu podľa nároku 6 spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo rozpúšťadlom.

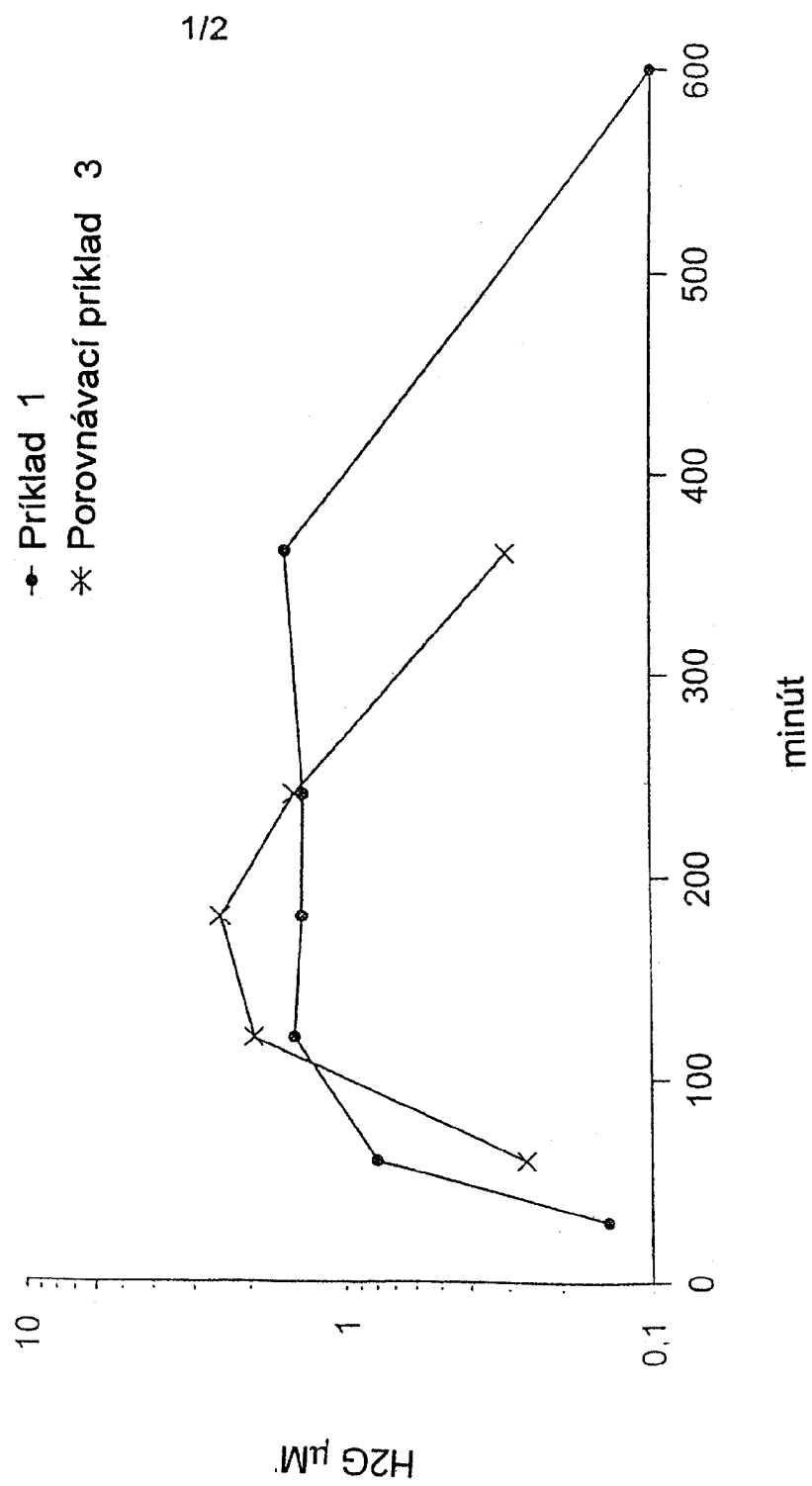
10. Použitie zlúčeniny všeobecného vzorca (I) na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu vírusových infekcií.

11. Použitie podľa nároku 9 zlúčeniny všeobecného vzorca (I) na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu herpes infekcií zahrnujúcich infekciu vírusom Varicella zoster, vírusom Herpes simplex typu 1 a 2, vírusom Epstein - Barr alebo vírusom Herpes typ 6 (HHV-6) a typ 8 (HHV-8).

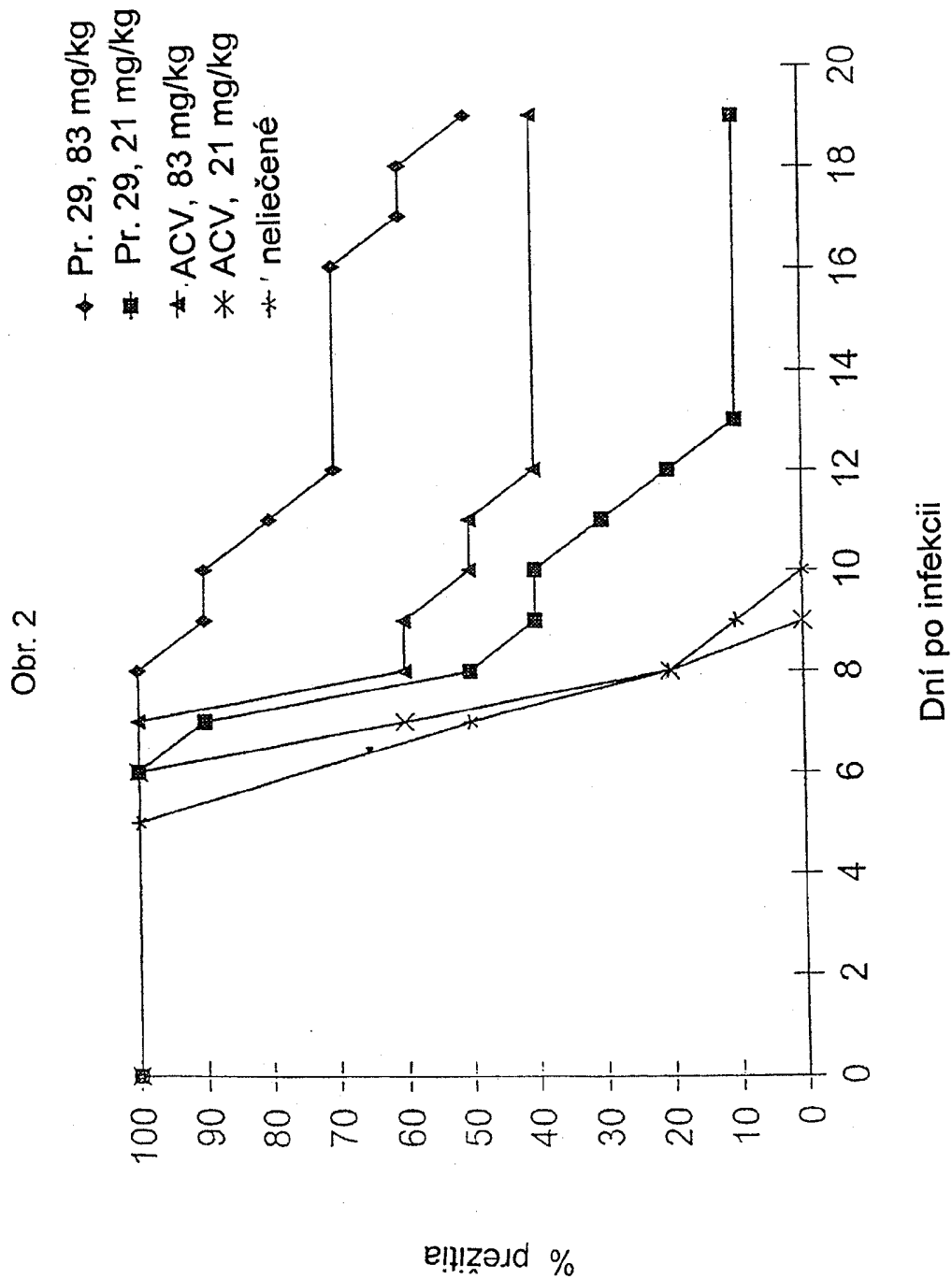
12. Použitie podľa nároku 9 zlúčeniny všeobecného vzorca (I) na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu retrovírusových infekcií zahrnujúcich SIV, HIV-1 a HIV-2.

2 výkresy

Obr. 1



2/2



Koniec dokumentu