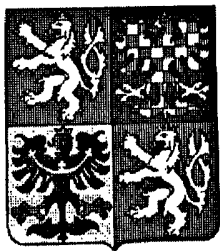


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

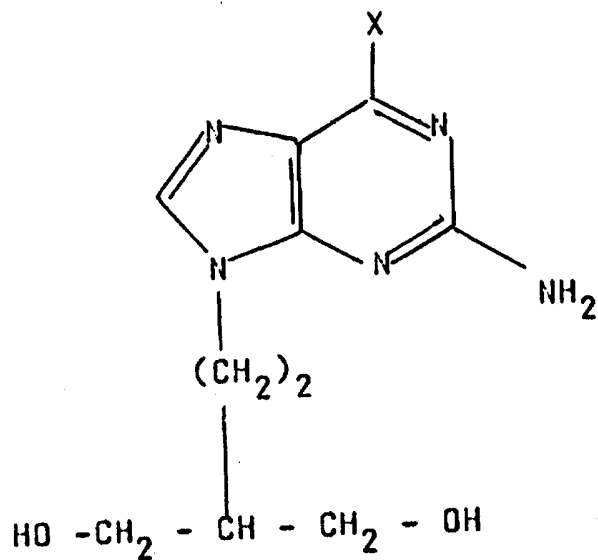
(12)

(22) 19.12.91
(32) 18.08.83, 21.09.88, 30.03.84
(31) 83/22199, 88/25271, 84/8322
(33) GB, GB, GB
(40) 13.1.93

(21) 3914-91.L
(13) A3
(51) C 07 D 473/18
C 07 D 473/22
C 07 D 473/16
C 07 D 473/24
C 07 D 473/40
C 07 D 473/24
A 61 K 31/52

- (71) Beecham Group p.l.c., Brentford, GB;
(72) Jarvest Richard Lewis, Surbiton Surrey, GB;
Harnden Michael Raymond, Horsham Sussex, GB;
(54) Guaninové deriváty, způsob jejich výroby a farmaceutické prostředky s jejich obsahem

(57) Řešení se týká guaninových derivátů s protivirovým účinkem obecného vzorce I, v němž X znamená atom chloru, alkoxykupinu s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 1 až 6 atomech uhlíku, fenylalkoxykupinu o 1 až 6 atomech uhlíku v alkoxylové části, hydroxykupinu, aminoskupinu nebo skupinu -SH za předpokladu, že v případě, že X znamená hydroxykupinu, má sloučenina obecného vzorce I čistotu vyšší než 50 % hmotnostních. Řešení se týká rovněž způsobu výroby těchto látek, jakož i farmaceutických prostředků s jejich obsahem, vhodných pro léčbu virových infekcí, způsobených herpetickými viry.



(I)

PRIL.	URAD PRO VYNALEZY A OBJEVY	31 III 92	5914-97 7630
-------	----------------------------------	-----------	-----------------

Guaninové deriváty, způsob ^{jejich} výroby a farmaceutické prostředky s jejich obsahem

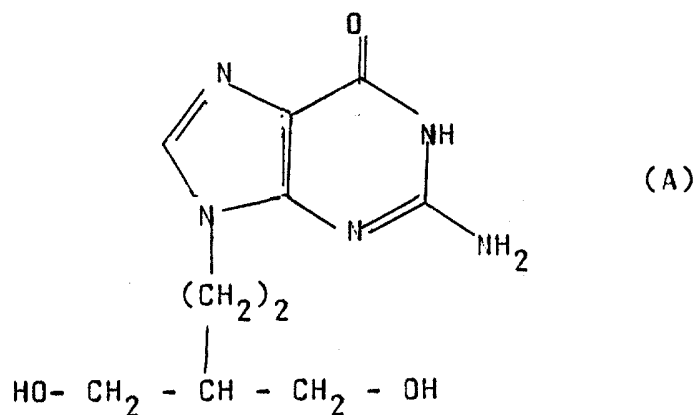
Oblast techniky

Vynález se týká guaninových derivátů s protivirovým účinkem, způsobu výroby těchto sloučenin a farmaceutických prostředků, které tyto látky obsahují.

Dosavadní stav techniky

Evropské patentové spisy č. 74 306, 85 424 a 72 027 popisují guaninové deriváty s protivirovým účinkem. Evropský patentový spis č. 152 316 popisuje další guaninové deriváty, které mají rovněž protivirový účinek.

V publikaci Syntheric Communications, 2(6), 345 - 351, 1972 se popisuje 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin vzorce A



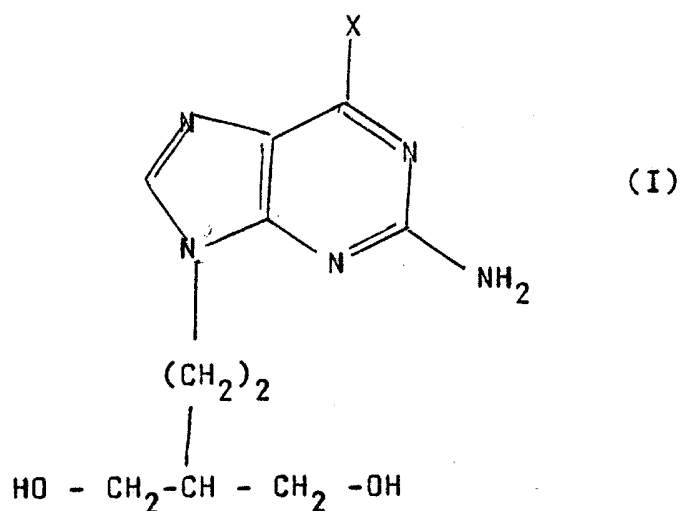
avšak bez uvedení jakéhokoliv farmaceutického účinku této látky, ani pro jiné látky v ostatních publikacích není uveden farmaceutický účinek. Nyní byla opakována syntéza této látky podle svrhu uvedené publikace, přičemž se ukázalo, že produktem je směs sloučeniny svrhu uvedeného vzorce A, jejího monobenzyletheru a jejího dibenzyletheru, přičemž teplota tání této směsi a UV-spektrum je v souladu s údaji, které byly v uvedené publikaci uváděny pro předpokládanou čistou látku

vzorce A. Další analýza produktu svrchu uvedené syntézy ukázala, že produkt obsahoval 45 až 50 % hmotnostních sloučeniny A, 45 až 50 % hmotnostních monobenzyletheru a nejvýše 5 % hmotnostních dibenzyletheru.

Odlišnou cestou pak byla připravena sloučenina vzorce A ve v podstatě čistém stavu a bylo prokázáno, že tato látka má protivirový účinek. Tuto účinnost mají rovněž některé deriváty této látky.

Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří guaninové deriváty obecného vzorce I



kde

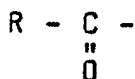
X znamená atom chloru, alkoxykupinu s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 1 až 6 atomech uhlíku, s výhodou methoxykupinu nebo fenoxypkupinu, fenylalkoxykupinu o 1 až 6 atomech uhlíku, aminoskupinu, hydroxyskupinu nebo skupinu -SH,

za předpokladu, že v případě, že X znamená hydroxyskupinu, má sloučenina obecného vzorce I čistotu vyšší než 50 % hmotnostních,

jakož i soli těchto sloučenin, jejich estery s kyselinou fosforečnou nebo jejich acylové deriváty.

Pod pojmem "acylový derivát" se rozumí jakýkoliv derivát sloučeniny obecného vzorce I, v němž jsou obsaženy jedna nebo větší počet acylových zbytků. Tyto deriváty zahrnují jak biologické prekursory sloučenin obecného vzorce I, tak deriváty, které jsou samy o sobě biologicky účinné.

Acylové deriváty sloučenin obecného vzorce I jsou ty látky, v nichž je jeden nebo oba atomy uhlíku v acyklické hydroxyskupině a/nebo v nichž je 1 atom vodíku v aminoskupině nahrazen skupinou obecného vzorce



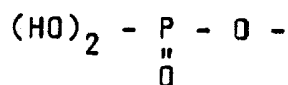
kde R znamená atom vodíku, alkyl, aryl, aralkyl nebo imidazolyl.

Alkylovými zbytky ve významu R jsou zbytky s přímým nebo rozvětveným řetězcem o až 18 atomech uhlíku, s výhodou o až 6 atomech uhlíku. Příkladem může být methyl, ethyl, terc.butyl a pentyl.

Arylovou skupinou ve významu R je fenyl.

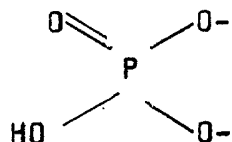
Aralkylovou skupinou ve významu R je fenylalkyl o 1 až 6 atomech uhlíku v alkylové části, například benzyl.

Příklady esterů sloučenin obecného vzorce I s kyselinou fosforečnou zahrnují látky, v nichž je jedna nebo v nichž jsou obě acyklické hydroxyskupiny nahrazeny skupinou



dále skupiny nebo jejich soli, v nichž jsou dvě hydroxyskupiny

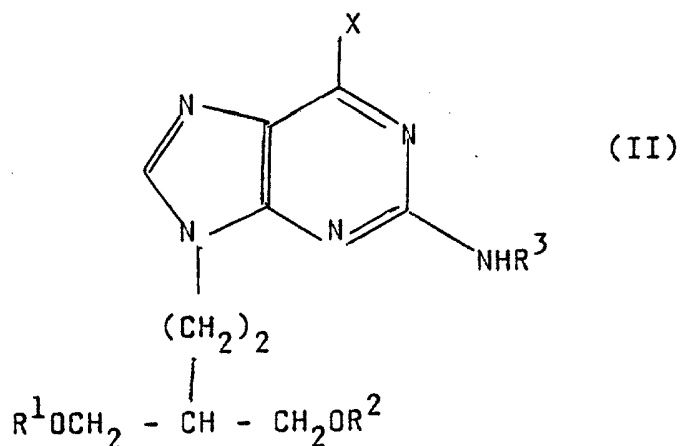
nahrazeny přemostěním



Soli, estery s kyselinou fosforečnou a acylové deriváty sloučenin obecného vzorce I jsou s výhodou farmaceuticky přijatelné, avšak vynález zahrnuje také sloučeniny, které z farmaceutického hlediska přijatelné nejsou vzhledem k tomu, že tyto látky jsou cennými meziprodukty při výrobě farmaceuticky přijatelných sloučenin.

Sloučeniny obecného vzorce I zahrnují rovněž tautomerní látky obecného vzorce I, v nichž jsou skupiny -OH a -SH nahrazeny atomem kyslíku nebo atomem síry.

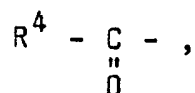
Zvláštní skupinu guaninových derivátů podle vynálezu tvoří sloučeniny obecného vzorce II



kde

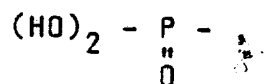
X má význam, uvedený v obecném vzorci I a

R^1 , R^2 a R^3 znamenají atomy vodíku nebo acylové skupiny obecného vzorce

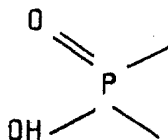


kde R^4 znamená alkylový zbytek o 1 až 18 atomech uhlíku nebo imidazolyl, nebo

R^1 nebo R^2 znamenají zbytek esteru s kyselinou fosforečnou vzorce

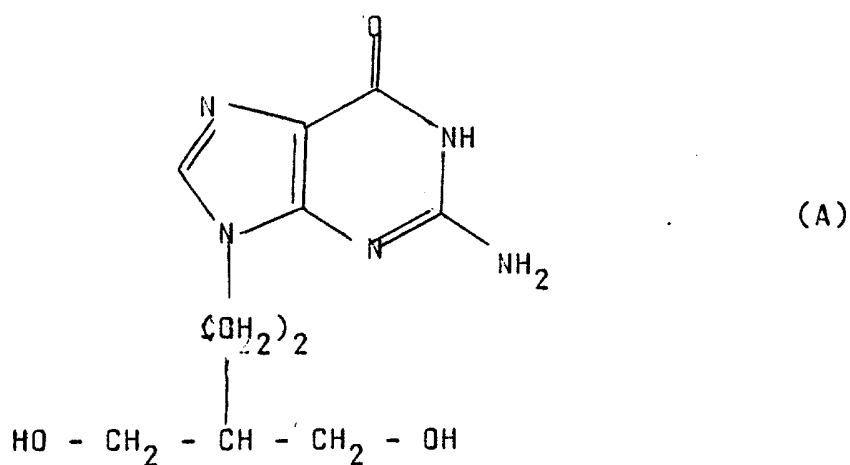


nebo R^1 a R^2 společně tvoří skupinu



jakož i soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

Při zachování svrchu uvedeného předpokladu čistoty pro sloučeniny podle vynálezu je výhodnou sloučeninou podle vynálezu sloučenina vzorce A.



nebo její sůl nebo acylový derivát.

Podstatu vynálezu tvoří také sloučenina vzorce A s čistotou vyšší než 60, s výhodou vyšší než 80 a zvláště vyšší než 90 % hmotnostních, nejvýhodnější je tato látka s čistotou vyšší než 95 % hmotnostních.

Podstatu vynálezu tvoří rovněž izolovaná, v podstatě úplně čistá sloučenina vzorce A nebo její sůl, přijatelná z farmaceutického hlediska.

Vhodná je zejména sloučenina vzorce A v krystalické formě s teplotou tání 275 až 277 °C.

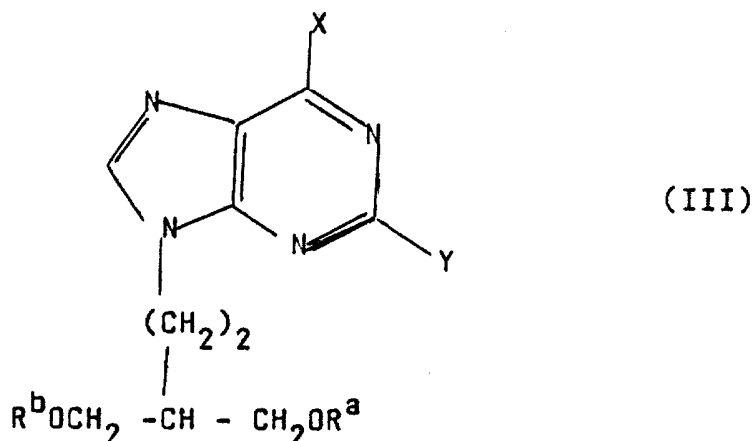
Nové guaninové deriváty podle vynálezu mají protivirový účinek a je možno je použít při léčbě infekcí, způsobených herpetickými viry, například herpes simplex typ 1, herpes simplex typ 2 a viry varicella zoster.

Vynález se tedy rovněž týká použití sloučenin obecného vzorce I, jejich solí, přijatelných z farmaceutického hlediska, jejich esterů s kyselinou fosforečnou nebo jejich acylových derivátů pro výrobu farmaceutických prostředků proti vi-

rovým infekcím. Pro toto použití guaninových derivátů podle vynálezu nepadá v úvahu svrchu uvedený předpoklad čistoty sloučenin obecného vzorce I.

Příkladem solí sloučenin obecného vzorce I, přijatelných z farmaceutického hlediska mohou být soli s organickými bázemi, s výhodou s aminy, například s ethanolaminy nebo diaminy, s alkalickými kovy, například sodíkem a draslíkem a také adiční soli s kyselinami, přijatelnými z farmaceutického hlediska, jako jsou soli s kyselinou chlorovodíkovou, orthofosforečnou a sírovou.

Sloučenina vzorce A nebo její sůl může být připravena přeměnou skupiny X ve sloučenině obecného vzorce III



kde X má s výjimkou hydroxyskupiny význam, uvedený v obecném vzorci I,

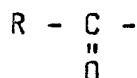
R^a a R^b , znamenají atom vodíku nebo ochrannou skupinu na atomu kyslíku, s výhodou acyl a mohou být stejné nebo různé a

Y znamená atom chloru nebo skupinu $-NHR^c$, kde R^c znamená atom vodíku nebo acyl,

na skupinu $-OH$ hydrolýzou, s výhodou v kyselém prostředí v případě, že X má význam, odlišný od aminoskupiny nebo v případě, že X znamená am inoskupinu, pomocí deaminační reakce

nebo v případě, že Y znamená atom chloru a X znamená hydroxy-skupinu, převedením skupiny ve významu Y na aminoskupinu reakcí s amoniakem za zvýšeného tlaku známým způsobem, s následným případným převedením získané sloučeniny A na sůl působením kyseliny nebo baze.

Acylové skupiny ve významu R^a , R^b a R^c mohou být skupiny vzorce



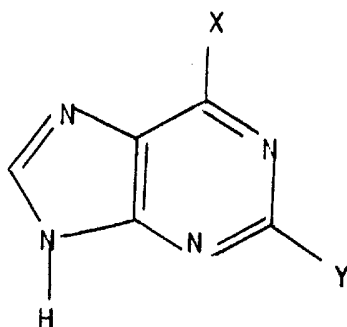
ve svrchu uvedeném významu.

Příkladem skupin R^a a R^b v obecném vzorci III mohou být acetylová skupina a cyklické acetalové skupiny, například isopropylidenová skupina. Výhodným významem pro R^c je acetyl nebo atom vodíku.

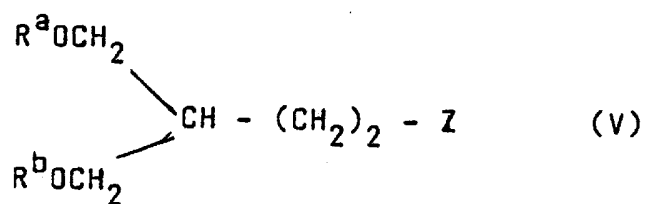
Výhodný postup pro výrobu sloučeniny vzorce A spočívá v tom, že se na sloučeniny obecného vzorce III, v němž X znamená atom chloru, Y znamená aminoskupinu a R^a a R^b znamenají acetylové zbytky, vodným roztokem anorganické kyseliny, s výhodou kyseliny chlorovodíkové.

Sloučeniny obecného vzorce III, v němž R^a , R^b a R^c znamenají atomy vodíku nebo acylové skupiny, jsou rovněž sloučeninami podle vynálezu a mimoto jsou cennými meziprodukty pro výrobu sloučeniny vzorce A.

Způsobem podle vynálezu je možno získat sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich acylové deriváty včetně sloučenin obecného vzorce III tak, že se působí na sloučeninu obecného vzorce IV



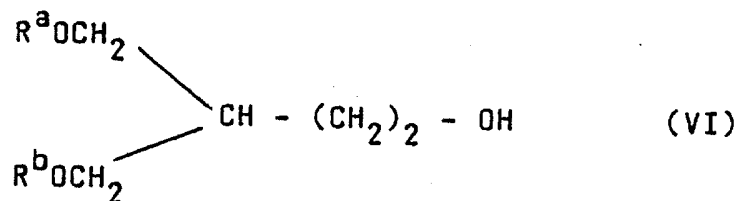
kde X má význam, uvedený ve vzorci I a
Y má význam, uvedený ve vzorci III,
sloučeninou obecného vzorce V



kde R^a a R^b mají význam, uvedený ve vzorci III a
Z znamená snadno odštěpitelnou skupinu, například
atom chloru, bromu nebo jodu, s výhodou bromu.

Sloučeniny obecného vzorce IV jsou známé látky nebo
je možno je získat ze známých sloučenin známými postupy.

Sloučeniny obecného vzorce V, v němž Z znamená atom bro-
mu, je možno připravit bromací sloučeniny obecného vzorce VI

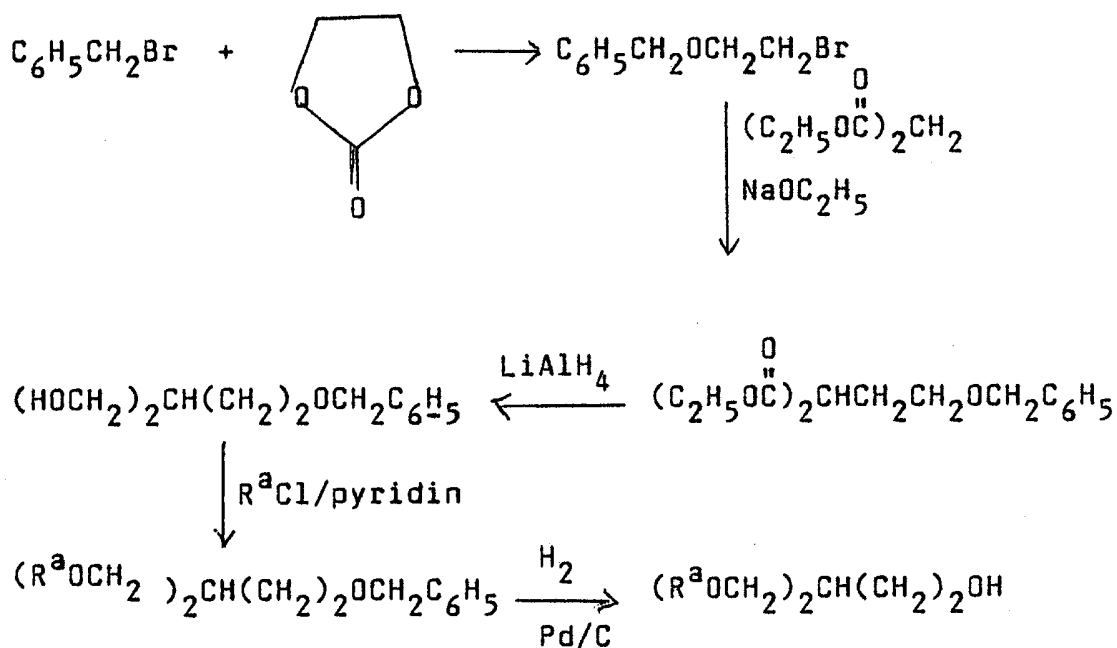


kde R^a a R^b mají svrchu uvedený význam,

s výhodou působením tetrabrommethanu a trifenylfosfinu v organickém aprotickém rozpouštědle, například dimethylformamidu.

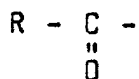
Sloučeniny obecného vzorce V, v němž Z znamená atom chloru nebo jodu je možno připravit analogicky.

Sloučeniny obecného vzorce VI, v němž R^a a R^b jsou totožné je možno připravit podle následujícího reakčního schématu:



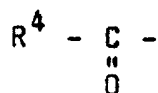
Acylové deriváty sloučenin obecného vzorce I je možno připravit také tak, že se acyluje sloučenina obecného vzorce I, případně chráněná, známými acylačními postupy a v případě potřeby se z výsledného produktu opět odstraní zavedené ochranné skupiny.

Acylační reakci je možno uskutečnit při použití acylačního činidla, které obsahuje skupinu vzorce



kde R má svrchu uvedený význam.

Ve výhodném provedení tohoto postupu se užije acylační činidlo, které obsahuje skupinu obecného vzorce



kde R⁴ znamená alkyl o 1 až 18 atomech uhlíku nebo N,N'-karbonyldiimidazolový zbytek.

Příkladem vhodných acylačních činidel pro toto použití jsou karboxylové kyseliny, halogenidy nebo anhydridy kyselin, s výhodou anhydridy kyselin nebo kyseliny.

V případě, že acylačním činidlem je karboxylová kyselina, je vhodné užít činidlo, které napomáhá uskutečnění vazby, jako dicyklohexylkarbodiimid, to však není nutné v případě, že se užije anhydrid kyseliny.

Výsledkem acylační reakce může mít vznik jediného acylovaného derivátu sloučeniny obecného vzorce I nebo směsi takových derivátů v závislosti na různých faktorech, jako je relativní množství a chemická povaha reakčních složek, reakční podmínky a užití rozpouštědlo. Jakoukoliv směs, získanou tímto způsobem je možno rozdělit na jednotlivé čisté složky při použití běžných chromatografických postupů.

Při svrchu uvedené acylaci mohou vzniknout monoacylované, diacylované nebo triacylované deriváty sloučenin obecného vzor-

ce I podle typu použitých ochranných skupin a také v závislosti na způsobu jejich odstranění. Dále budou uvedeny příklady produktů, získaných různými postupy:

- a) Diacylované deriváty na dvou acyklických skupinách -OH je možno získat přímou acylací nechráněných sloučenin obecného vzorce I nebo acylací chráněných meziproductů těchto látek, v nichž je aminoskupina chráněna například monomethoxytritylovou skupinou s následným odstraněním této skupiny působením kyseliny.
- b) Monoacylované deriváty na jedné z acyklických hydroxyskupin je možno získat acylací chráněných meziproductů sloučenin obecného vzorce I, v němž je aminoskupina a druhá acyklická hydroxyskupina chráněna například monomethoxytritylovou skupinou s následným odstraněním této skupiny působením kyseliny.
- c) Monoacylované deriváty na aminoskupině je možno získat acylací chráněných meziproductů sloučenin obecného vzorce I, v němž jsou obě acyklické hydroxyskupiny chráněny například trimethylsilylovými skupinami, s následným odstraněním ochranných skupin.

Různé chráněné meziproducty sloučenin obecného vzorce I je možno připravit běžnými postupy, například tak, že se na tyto látky působí monomethoxytritylchloridem k získání derivátů podle postupu a) nebo b) nebo působením chlortrimethylsilanu podle postupu c).

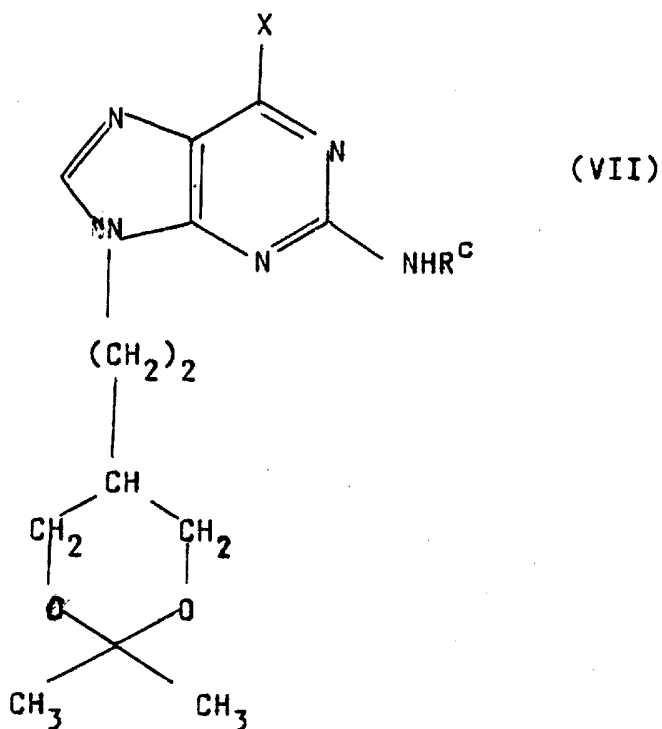
Chráněné meziproducty sloučenin obecného vzorce I je možno také užít pro přípravu esterů těchto látek s kyselinou fosforečnou.

Podstatu vynálezu tvoří také způsob výroby monofosfátových esterů sloučenin obecného vzorce I, který spočívá v tom, že se působí na chráněný meziproduct sloučeniny obecného vzorce I, v němž je jedna z acyklických hydroxyskupin nebo aminoskupina chráněna, s výhodou monomethoxytritylovou ochrannou

skupinou, kyselinou kyanoethylfosforečnou a pak se odstraní z výsledného produktu ochranné skupiny působením kyseliny, s výhodou kyseliny octové.

V případě potřeby je možno na reakční produkt po působení kyseliny kyanoethylfosforečné působit ještě vodným roztokem amoniaku, čímž se získá jako výsledný produkt amonná sůl uvedeného esteru.

Sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich soli je možno připravit také hydrolýzou 1,3-dioxanového kruhu ve sloučenině obecného vzorce VII



kde X má význam, uvedený ve vzorci I a

R^C má význam, uvedený ve vzorci III,

za předpokladu, že R^C má význam, odlišný od acylové skupiny v případě, že X má odlišný význam od hydroxyskupiny,

načež se takto získaná sloučenina obecného vzorce I popřípadě převede na sůl působením kyseliny nebo base.

V případě, že R^C znamená acylovou skupinu, je nutno provést ještě základní N-deprotektivní stupeň k získání sloučeniny vzorce A. Tento stupeň je možno provést před hydrolyzou nebo po ní například působením roztoku NaOMe v methanolu nebo roztokem amoniaku v methanolu.

Hydrolyza sloučenin obecného vzorce VII se s výhodou provádí v kyselém prostředí. Sloučeniny obecného vzorce VII, v němž X znamená alkoxykupinu, fenoxyskupinu, fenylalkoxykupinu nebo skupinu -SH, je možno snadno připravit in situ reakcí sloučeniny obecného vzorce VII, v němž X znamená atom chloru s dalším reakčním činidlem, které obsahuje substituent X^1 ve významu alkoxykupina, fenoxyskupina, fenylalkoxykupina nebo atom síry. Tyto meziprodukty je pak možno hydrolyzovat na sloučeniny obecného vzorce I, aniž by bylo nutno je izolovat z reakční směsi.

Dalším reakčním činidlem s obsahem skupiny X^1 může být alkoxid, fenoxid nebo fenylalkoxid sodíku nebo také hydrogensulfid sodíku v případě, že X^1 znamená atom síry.

Při hydrolyze sloučeniny obecného vzorce VII, v němž X znamená atom chloru v kyselém prostředí se získá sloučenina obecného vzorce I, v němž X znamená atom chloru nebo sloučenina vzorce A v závislosti na síle použité kyseliny a na reakčních podmínkách.

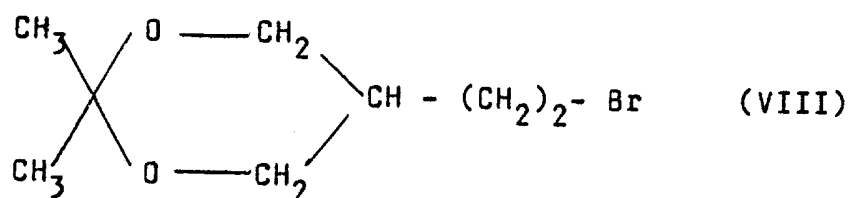
Například v případě, že se na sloučeninu obecného vzorce VII, v němž X znamená atom chloru, působí zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, například s koncentrací 1,0 M při teplotě 60 °C po dobu 24 hodin nebo 2 M kyselinou chlorovodíkovou 1,5 hodin za varu pod zpětným chladičem, získá se sloučenina vzorce A. V případě, že se na tutéž sloučeninu obecného

vzorci VII působí 2 M kyselinou chlorovodíkovou v tetrahydrofuranu při teplotě místnosti, získá se sloučenina obecného vzorce I, v němž X znamená atom chloru.

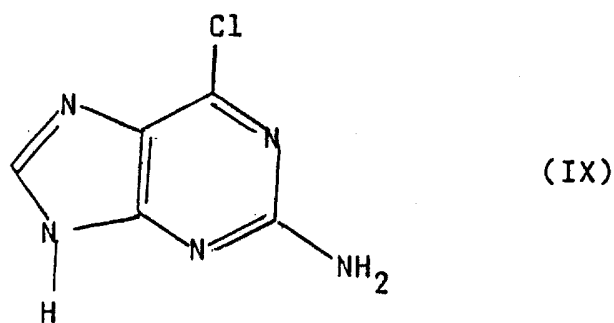
V případě potřeby je možno převést sloučeninu obecného vzorce VII, v němž X znamená atom chloru na sloučeninu obecného vzorce VII, v němž X znamená aminoskupinu, před hydrolyzou v kyselém prostředí.

Přeměnu je možno uskutečnit působením azidu sodíku v dimethylformamidu, čímž vznikne jako meziproduct azidosloučenina, v níž je X nahrazeno azidovou skupinou, pak se tento meziproduct redukuje působením mravenčanu amonného za přítomnosti paladia na aktivním uhlí v methanolu.

Meziproduct obecného vzorce VII, v němž X znamená atom chloru a R^G znamená atom vodíku, je možno získat tak, že se na sloučeninu vzorce VIII

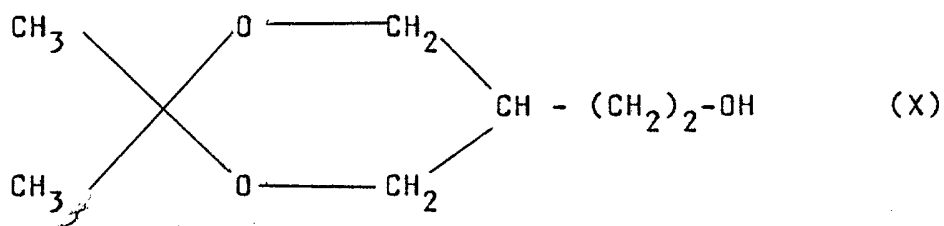


působí sloučeninou vzorce IX



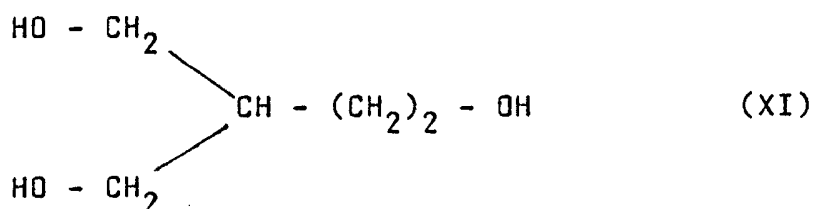
Reakci je možno provádět v inertním organickém rozpouštědle, s výhodou dimethylformamidu za přítomnosti anorganické báze, s výhodou uhličitanu draselného.

Sloučeninu vzorce VIII je možno připravit bromací sloučeniny vzorce X



Reakce se s výhodou provádí tak, že se na sloučeninu vzorce X působí tetrabrommethanem a trifenyfosfinem v aprotickém organickém rozpouštědle, například dimethylformamidu.

Sloučeninu vzorce X je možno připravit tak, že se působí na sloučeninu vzorce XI



2,2-dimethoxypropanem a kyselinou p-toluensulfonovou za přítomnosti acetonu nebo tetrahydrofuranu.

Sloučeniny vzorců IX a XI jsou známé látky, které je možno připravit ze známých sloučenin známým způsobem.

Sloučeniny vzorců VII, VIII a X jsou nové meziproducty a tvoří rovněž podstatu vynálezu.

Sloučeninu obecného vzorce I nebo její sůl, přijatelnou z farmaceutického hlediska, ester s kyselinou fosforečnou nebo acylový derivát je možno zpracovat na farmaceutický prostředek. Podstatu vynálezu tvoří rovněž farmaceutický prostředek, který jako svou účinnou složku obsahuje sloučeninu obecného vzorce I nebo její sůl, přijatelnou z farmaceutického hlediska, ester s kyselinou fosforečnou nebo acylový derivát spolu s nosičem nebo jinými pomocnými látkami, přijatelnými z farmaceutického hlediska.

Prostředky, určené pro perorální podání mohou mít formu sirupu, tablety nebo kapsle. V případě, že prostředek má formu tablety, je možno užít jakýkoliv farmaceutický nosič, vhodný pro přípravu těchto pevných prostředků, například stearan hořečnatý, škrob, laktosu, glukosu, rýžový škrob, mouku nebo křídou. Prostředky mohou také mít formu kapsle, například želatinové kapsle nebo formu sirupu, roztoku nebo suspenze. Vhodné kapalně farmaceutické nosiče jsou například ethylalkohol, glycerol, roztok chloridu sodného a voda, je možno přidat také chuťové látky nebo barviva. Pro injekční podání může být nosičem sterilní kapalina.

Farmaceutický prostředek může být určen také pro místní podání na kůži nebo do očí.

Pro místní podání na kůži může mít prostředek formu krému, suspenze nebo mazání. Jde o typy prostředků, které jsou v oboru dobře známy a byly popsány v běžných učebnicích farmacie a kosmetiky, například v publikaci Harry's Cosmeticsology, Leonard Hill Books a v britském lékopisu.

Prostředky, určené pro aplikaci do oka mohou mít formu běžných očních kapek nebo mazání.

Farmaceutické prostředky podle vynálezu se s výhodou zpracovávají do lékových forem, určených pro jednotlivé podání, tak, aby nemocný mohl snadno odebrat jednotlivou dávku.

Vhodná léková forma může obsahovat 50 mg až 1 g, například 100 až 500 mg účinné složky. Tuto dávku je možno podat jeden až čtyřikrát denně nebo ještě častěji, obvykle dvakrát nebo třikrát denně. Účinná dávka sloučenin podle vynálezu se pohybuje v rozmezí 1,0 až 20 mg/kg tělesné hmotnosti denně, s výhodou 2,0 až 10 mg/kg denně.

Podstatu vynálezu tedy tvoří rovněž použití sloučenin obecného vzorce I, jejich solí, přijatelných z farmaceutického hlediska, jejich esterů s kyselinou fosforečnou nebo jejich acylových derivátů pro výrobu farmaceutických prostředků, vhodných zejména pro léčbu virových onemocnění u člověka i u jiných živočichů.

V následujících příkladech bude osvětleno praktické provedení vynálezu. Příklady 4, 10 až 18, 21 až 27 a 30 až 39 se týkají způsobu výroby sloučenin obecného vzorce I, jejich solí, esterů s kyselinou fosforečnou nebo acylový derivát. Zbývající příklady se týkají způsobu výroby příslušných meziproduktů.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

5-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan

K suspenzi 2,87 g, 76 mmol lithialuminiuhydridu ve 125 ml tetrahydrofuranu se po kapkách za míchání v průběhu 2 hodin přidá roztok 9,2 ml, 9,85 g, 90 mmol triethyl-1,1,2-ethantrikarboxylátu ve 20 ml tetrahydrofuranu. Přebytek reakčního činidla se pak odstraní přidáním směsi vody a tetrahydrofuranu v poměru 1 : 2. Anorganické soli se odfiltrují a promyjí 100 ml ethanolu. Filtrát a ethanol, užitý k promytí se spojí a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku, čímž se získá 4,85 g bezbarvého oleje. K suspenzi tohoto oleje ve 100 ml acetonu se přidá 25 ml 2,2-dimethoxypropanu a 2,3 g, 12 mmol monohydrátu kyseliny p-toluensulfonové a směs se 1 hodinu míchá. Výsledný roztok se neutralizuje přes pryskyřici Amberlit IR 45 v OH-formě, k promytí se užije methanol, pak se roztok zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, k eluci se užije směs chloroformu a methanolu nejprve v poměru 40 : 1 a pak 25 : 1, čímž se ve výtěžku 47 % získá 3,01 g 5-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu jako bezbarvá kapalina.

IR-spektrum má maxima při (film) 3420, 2940, 1375, 1200 a 1080 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3): 1,34 - 1,70 (8H, m, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ a $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 1,7 - 2,1 (1H, m, CH), 2,15 (1H, br, O_2O výměnný, OH), 3,5 - 4,0 (6H, m, 3 x CH_2O),

Analýza pro $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_3 \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$
vypočteno C 58,34, H 10,10 %
nalezeno C 58,33, H 10,11 %.

Hmotové spektrum $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$ pro $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{O}_3$
vypočteno 145,0865, nalezeno 145,0864.

Další možný způsob výroby 5-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu (příklad 1)

A. 1,4-dihydroxy-2-hydroxymethylbutan

K roztoku 46 ml, 200 mmol triethyl-1,1,2-ethantrikarbonylátu a 20 g, 530 mmol borohydridu sodíku ve 400 ml terc.-butanolu se za varu pod zpětným chladičem přidá v průběhu 30 minut ve 3 podílech celkem 25 ml methanolu. Pak se roztok vaří ještě 30 minut pod zpětným chladičem a nechá se zchladnout. K neutralizaci roztoku se opatrně přidá 5M kyselina chlorovodíková. Roztok se zfiltruje a anorganický zbytek se extrahuje 2 x 100 ml ethanolu a roztok se zfiltruje. Organické roztoky se spojí a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se extrahuje 120 ml ethanolu a roztok se zfiltruje. Rozpouštědlo se odpaří, čímž se ve výtěžku 100 % získá 24 g 1,4-dihydroxy-2-hydroxymethylbutanu.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O), 1,53 (2H, q, J 6Hz, 3-H), 1,75 (1H, m, 2-H), 3,57 (4H, d, J = 6Hz, 1-H a 1'-H) a 3,64 (2H, t, J = 6 Hz, 4-H).

B. 5-(2-hydroxyethyl).2,2-dimethyl-1,3-dioxan

K roztoku 12 g, 100 mmol 1,4-dihydroxy-2-hydroxymethylbutanu ve 25 ml tetrahydrofuranu se přidá 13,5 g, 110 mmol 2,2-dimethoxypropanu a 0,57 g, 3 mmol monohydrátu kyseliny p-toluensulfonové. Roztok se míchá 1/2 hodiny při teplotě místnosti a pak se neutralizuje přidáním triethylaminu. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, sloupec se vymývá směsí chloroformu a methanolu, čímž se získá 5-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan v množství 6,5 g při výtěžku 41 % jako bezbarvá kapalina.

Příklad 2

5-(2-bromethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan

K roztoku 1,92 g, 12 mmol 5-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu a 7,96 g, 24 mmol tetrabrommethanu ve 100 ml dimethylformamidu se za chlazení ledem přidá 6,30 g, 24 mmol trifenylfosfinu a roztok se nechá stát přes noc při teplotě 4 °C. Pak se k roztoku přidá 20 ml methanolu a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, sloupec se vymývá směsí hexanu a acetonu v poměru 12 : 1, čímž se ve výtěžku 40 % získá 0,89 g, 5-(2-bromethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu ve formě čiré bezbarvé kapaliny.

IR-spektrum (film) má maxima při: 2940, 1370, 1270, 1260, 1200 a 1070 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3): 1,42 (6H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,94 (3H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$), 3,43 (2H, t, $J = 7\text{Hz}$, CH_2Br) a 3,5 - 4,1 (4H, m, 2 x CH_2O).

Analýza pro $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{BrO}_2$
vypočteno C 43,07, H 6,78 %
nalezeno C 42,84, H 6,93 %.

Hmotové spektrum pro $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{BrO}_2$ /M- CH_3 /⁺
vypočteno 207,0021, nalezeno 207,0024.

Další možný způsob výroby 5-(2-bromethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu (příklad 2)

K roztoku 6,08 g, 38 mmol 5-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu a 18,90 g, 57 mmol tetrabrommethanu ve 110 ml N,N-dimethylformamidu se za chlazení ledem přidá 14,95 g, 57 mmol trifenylfosfinu. Pak se roztok míchá ještě 1/5 hodiny při teplotě 0 °C. Roztok se zředí 55 ml nasyceného vodného

roztoku hydrogenuhličitanu sodného, pak se přidá ještě 55 ml vody a směs se extrahuje 2 x 150 ml hexanu. Organické vrstvy se spojí, vysuší síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se uloží na 2 hodiny do vysokého vakua k odstranění bromoformu. Odparek se rozpustí v malém množství hexanu, roztok se zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří, čímž se ve výtěžku 87 % získá 7,40 g 5-(2-bromethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu ve formě bezbarvého oleje, který po zchlazení krystalizuje, teplota tání je přibližně 18 °C.

Příklad 3

2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/-
purin

K roztoku 0,75 g, 3,7 mmol 5-(2-bromethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxanu ve 12 ml bezvodého dimethylformamidu se přidá 0,68 g, 4,0 mmol 2-amino-6-chlorpurinu a pak 0,83 g, 6,0 mmol bezvodého uhličitanu draselného. Roztok se míchá 5 hodin při teplotě místnosti a pak se nechá stát přes noc při teplotě 4 °C. Roztok se zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, sloupec se promývá směsí chloroformu a methanolu v poměru 80 : 1 a 60 : 1, čímž se získá ve výtěžku 64 % celkem 0,74 g 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu jako bílá krystalická látka s teplotou tání 125 až 126 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3450, 3340, 1635, 1615, 1565, 1470, 1410 a 1375 cm^{-1} .

UV-spektrum (voda) má maxima při: 223 ($\epsilon = 28,900$), 247 ($\epsilon = 5700$), a 310 ($\epsilon = 7,700$) nm.

^1H NMR ($\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,26 (3H, s, CH_3), 1,32 (3H, s, CH_3), 1,45 - 1,85 (3H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 3,51 (2H, dd, $J = 11$ Hz a $J = 7$ Hz, $2 \times \text{H}_{\text{ax}}$), 3,78 (2, dd, $J = 11$ Hz a $J = 4$ Hz, $2 \times \text{H}_{\text{eq}}$), 4,05 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2N), 6,89 (2H, s, D_2O výměnný, 2- NH_2) a 8,38 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $C_{13}H_{18}ClN_5O_2$

vypočteno C 50,08, H 5,82, N 22,46 %

nalezeno C 50,37, H 5,68, N 22,22 %.

Hmotové spektrum M^+ : vypočteno 311,1149,

nalezeno 311,1136.

Příklad 4

9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

0,59 g, 1,9 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu v 1,0 M kyselině chlorovodíkové (4 ml) se míchá 24 hodin při teplotě 60 °C. Pak se roztok zředí vodou a neutralizuje přidáním pryskyřice Amberlit IR 45 v OH-formě. Směs se zfiltruje, pryskyřice se promyje vodou a rozpouštědlo se odpaří za sníženého tlaku. Odparek se nechá překrystalovat z vody, čímž se ve výtěžku 49 % získá 238 mg 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 275 až 277 °C.

UV-spektrum (voda) má maxima při: 253 ($\epsilon = 11,500$) a 270 (hrb, $\epsilon = 8,630$).nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při 3420, 3140, 1690, 1645 a 1605 cm^{-1} .

1H NMR (CD_3)₂SO: 1,3 - 1,5 (3H, m, CHCH₂CH₂), 3,42 (4H, d, J = 5 Hz, 2 x CH₂O), 3,99 (2H, t, J = 7 Hz, CH₂N), 4,41 (2H, br, D₂O výměnný, 2 x OH), 6,44 (2H, s, D₂O výměnný, 2-NH₂), 7,71 (1H, s, 8-H), a 10,55 (1H, br, D₂O výměnný, 1-H).

Hmotové spektrum pro $C_{10}H_{15}N_5O_3 M^+$

vypočteno 253,1175

nalezeno 253,1176.

Další možný způsob výroby 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethyl-but-1-yl)guaninu (příklad 4)

Roztok 3,74 g, 12 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu ve 12 ml 2,0 M kyseliny chlorovodíkové se zahřívá 1,5 hodiny na teplotu varu pod zpětným chladičem. Pak se roztok neutralizuje 10% vodným roztokem hydroxidu sodného a nechá se zchladnout. Roztok se zfiltruje a pevný podíl se promyje vodou, čímž se ve výtěžku 72 % získá 2,18 g 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethyl-but-1-yl)guaninu ve formě bílé krystalické látky s teplotou tání 276 až 277 °C.

Analýza pro $C_{10}H_{15}N_5O_3$

vypočteno	C 47,43, H 5,97, N 27,65 %
nalezeno	C 47,31, H 6,02, N 27,81 %.

Příklad 5

Ethyl 4-benzyloxy-2-ethoxykarbonylbutoxid

72 g, 3,13 mmol kovového sodíku se rozpustí v 1,2 litru bezvodého ethanolu za míchání, pak se přidá 477 ml, 3,13 mmol diethylmalonátu a 249,5 g, 1,5 mmol jodidu draselného. Pak se za míchání ke směsi přidá olej, obsahující 278,5 g, 1,3 mmol benzyl-2-bromethyletheru, kontaminovaného 198 g ethylenkarbonátu. Po skončeném přidávání se reakční směs zahřívá 18 hodin na teplotu varu pod zpětným chladičem, pak se vlije do 7,5 litrů směsi vody a ledu a extrahuje se 3 x 1,6 litry etheru. Etherové frakce se spojí, vysuší soranem hořečnatým, zfiltrují a odpaří na 550 g oleje. Tento olej se destiluje ve vakuu, čímž se ve výtěžku 82 % získá 313 g ethyl-4-benzyloxy-2-ethoxykarbonylbutoxidu ve formě čirého oleje s teplotou varu 165 až 180 °C při tlaku 0,27 kPa.

^1H NMR (CDCl_3): 1,22 (6H, t, 2 x CH_3), 2,18 (2H, q, CHCH_2), 3,48 (2H, t, CHCH_2O), 3,55 (1H, t, CH), 4,12 (4H, q, 2 x CO_2CH_2), 4,38 (2H, s, OCH_2Ph), 7,21 (5H, s, Ar).

Příklad 6

4-benzyloxy-2-hydroxymethylbutan-1-ol

K suspenzi 103 g, 2,7 molu lithiualuminiumhydridu ve 2,5 litrů bezvodého etheru se za chlazení a míchání pod dusíkem v průběhu 3 hodin přidá 362 g, 1,23 molu ethyl-4-benzyloxy-2-ethoxykarbonylbutoxidů. Po skončeném přidávání se reakční směs nechá zteplat na teplotu místnosti, pak se 1 hodinu vaří pod zpětným chladičem, znovu se zchladí a přebytek lithiualuminiumhydridu se rozruší tak, že se po kapkách přidá 100 ml vody, 100 ml 2M hydroxidu sodného a pak ještě 300 ml vody. Reakční směs se zfiltruje a filtrační koláč se důkladně promyje chloroformem. Filtrát se vysuší síranem hořečnatým, znovu zfiltruje a odpaří, čímž se ve výtěžku 87 % získá 226 g, 4-benzyloxy-2-hydroxymethylbutan-1-olu ve formě čirého oleje.

^1H NMR (CDCl_3) 1,35 - 2,05 (3H, m, CHCH_2CH_2), 3,30 - 3,80 (8H, m, 3 x CH_2O , 2 x OH), 4,42 (2H, s, OCH_2Ph), 7,26 (5H, s, Ar).

Příklad 7

2-acetoxymethyl-4-benzyloxybut-1-yl acetát

K chlazenému roztoku 4-benzyloxy-2-hydroxymethylbutan-1-olu v 1,1 litru bezvodého pyridinu se přidá 230 ml, 3,24 molu acetylchloridu v průběhu 2 hodin, přičemž teplota se udržuje na hodnotě nižší než 8 °C. Po skončeném přidávání se reakční směs ještě 1 hodinu míchá při teplotě 5 °C, pak se vlije do 4 litrů vody a směs se extrahuje nejprve 3 litry a

pak 2 litry ethylacetátu. Organické extrakty se spojí a promyjí se 2 x 1 litrem 2M kyseliny chlorovodíkové, 1 litrem vody a 1 litrem nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltrují a odpaří, čímž se získá 300 g žlutého oleje.

Tento olej se destiluje ve vakuu, čímž se ve výtěžku 70 % získá 220 g 2-acetoxymethyl-4-benzyloxybut-1-yl-acetátu jako bezbarvý olej s teplotou varu 160 až 165 °C při tlaku 0,67 kPa.

42 g frakce s teplotou varu 122 až 160 °C při tlaku 0,67 kPa se čistí chromatografií na silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs etheru a hexanu v poměru 2 : 3, čímž se ve výtěžku 8 % získá ještě 27 g 2-acetoxymethyl-4-benzyloxybut-1-yl acetátu.

^1H NMR (CDCl_3): 1,68 (2H, q, CHCH_2CH_2), 2,01 (6H, s, 2 x OCOCH_3), 2,19 (1H, m, CH), 3,50 (2H, t, $\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4,03 (4H, d, $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$), 4,43 (2H, s, OCH_2Ph), 7,24 (5H, s, Ar).

Příklad 8

2-acetoxymethyl-4-hydroxybut-1-yl acetát

K roztoku 55 g, 0,1087 molu 2-acetoxymethyl-4-benzyloxybut-1-ylacetátu ve 250 ml ethanolu se přidá 2,5 g 10% paladia na aktivním uhlí a směs se hydrogenuje za atmosférického tlaku při teplotě místnosti. Po 18 hodinách se dosáhne teoretického příjmu vodíku, reakce se zastaví a směs se zfiltruje přes vrstvu Celitu. Odpařením filtrátu se získá 35 g bezbarvého oleje, který se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije 2% methanol chloroformu, čímž se ve výtěžku 86 % získá 32,9 g 2-acetoxymethyl-4-hydroxybut-1-yl-acetát ve formě čirého oleje.

^1H NMR (CDCl_3): 1,61 (2H, q, CHCH_2CH_2), 2,04 (6H, s, 2 x OCOCH_3), 2,20 (1H, m, CH), 2,61 (1H, br s, D_2O výměnný, OH), 3,68 (2H, t,

CH₂OH), 4,04 (4H, d, 2 x CH₂OCOCH₃).

Příklad 9

2-acetoxymethyl-4-brombut-1-yl acetát

Směs 10 g, 49 mmol 2-acetoxymethyl-4-hydroxybut-1-yl acetátu, 19,25 g, 73 mmol trifenylfosfinu a 24,4 g, 73 mmol tetrabrommethanu se míchá 18 hodin při teplotě 4 °C ve 150 ml dimethylformamidu. Pak se rozpouštědlo odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs etheru a lehkého petroletheru v poměru 2 : 3, čímž se ve výtěžku 99 % získá 130 g 2-acetoxymethyl-4-brombut-1-yl acetátu ve formě světle zbarveného oleje.

¹H NMR (CDCl₃): 1,73 - 2,56 (3H, m, CHCH₂CH₂), 2,04 (6H, s, 2 x OCOCH₃), 3,44 (2H, t, CH₂Br), 4,04 (4H, d, 2 x CH₂OCOCH₃).

Příklady 11 a 10

9-(4-acetoxy-3-acetoxymethylbut-1-yl)-2-amino-6-chlorpurin a 7-(4-acetoxy-3-acetoxymethylbut-1-yl)-2-amino-6-chlorpurin

Směs 13,0 g, 48,7 mmol 2-acetoxymethyl-4-brombut-1-yl acetátu, 8,25 g, 48,7 mmol 2-amino-6-chlorpurinu a 10 g, 72,5 mmol bezvodého uhličitanu draselného se míchá ve 100 ml bezvodého dimethylformamidu 18 hodin při teplotě místnosti. Pak se reakční směs zfiltruje, filtrát se odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci 500 g silikagelu. K eluci se užije 3% methanol v chloroformu, čímž se ve výtěžku 80 % získá 13,8 g 9-(4-acetoxy-3-acetoxymethylbut-1-yl)-2-amino-6-chlorpurinu jako bílá pevná látka s teplotou tání 135 až 137 °C.

UV-spektrum (voda) má maxima při: 222 (ε = 28.500), 245 (ε = 4.800), 307 (ε = 7.700) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3485, 3310, 3200, 1750, 1730, 1625, 1560, 1525, 1475, 1245 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 270 MHz: 1,85 - 2,05 (3H, m, CHCH_2CH_2), 2,01 (6H, s, 2 x OCOCH_3), 4,03 (4H, d, 2 x $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$), 4,16 (2H, t, CH_2N), 6,88 (2H, br s, D_2O výměnný, NH_2), 8,17 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_4\text{Cl}$

vypočteno C 47,26, H 5,10, N 19,68 %

nalezeno C 47,27, H 4,94, N 19,56 %.

Při následné eluci 5% methanolem v chloroformu se ve výtěžku 17 % získá 2,9 g, 7-(4-acetoxy-3-acetoxymethylbut-1-yl)-2-amino-6-chlorpurinu ve formě bílé pevné látky s teplotou tání 174 až 175 $^\circ\text{C}$. za rozkladu.

UV-spektrum má maxima při (voda): 222 ($\epsilon = 25.000$), 255 ($\epsilon = 3.900$), 318 ($\epsilon = 5.600$) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3390, 3310, 3205, 1745, 1735, 1635, 1550, 1505, 1380, 1365, 1310, 1250, 1240 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, 270 MHz): 1,86 (2H, q, CHCH_2CH_2), 1,99 (6H, s, 2 x OCOCH_3), 1,95 - 2,05 (1H, m, CH), 4,03 (4H, d, 2 x $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$), 4,38 (2H, t, CH_2N), 6,60 (2H, br s, D_2O výměnný, NH_2), 8,39 (1H, s, 8-H),

Analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_5\text{O}_4\text{Cl}$

vypočteno C 47,26, H 5,10, N 19,68 %

nalezeno C 47,48, H 5,11, N 19,52 %.

Další způsob výroby 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-guaninu (příklad 4)

Roztok 15,5 g, 43,6 mmol 9-(4-acetoxy-3-acetoxymethylbut-1-yl)-2-amino-6-chlorpurinu ve 150 ml 2 M kyselině chlorovodíkové se zahřívá 2 hodiny na teplotu varu pod zpětným chladičem. Pak se roztok zchladí na teplotu místnosti, neutralizuje se 10% roztokem hydroxidu sodného, nechá se stát při teplotě 4 $^\circ\text{C}$ a vzniklá sraženina se odfiltruje, promyje

se chladnou vodou a nechá se překrystalovat z vody, čímž se ve výtěžku 85 % získá 9,4 g, 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu jako bílá krystalická pevná látka s teplotou tání 275 až 277 °C.

Příklad 12

Sodná sůl 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu

K suspenzi 0,30 g, 1,2 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu v 8 ml vody se přidá 1,2 ml 1 M roztoku hydroxidu sodného. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se rozetře se směsí methanolu a ethanolu, čímž se ve výtěžku 97 % získá 0,32 g sodné soli 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu jako bílá pevná látka.

UV-spektrum (voda) pH 7,8 má maximum při 252 (e = 11.300)nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3400, 1590 a 1570 cm^{-1} .

^1H NMR (CD_3)₂SO, 1,47 (1H, m, 3'-H), 1,70 (2H, q, J = 7 Hz, 2'-H), 3,3 - 3,5 94H, AB část ABX, 2 x 4'-H), 3,96 (2H, t, J = 7 Hz, 1'-H), 4,7 (2H, br, D₂O výměnný, 2 x OH), 5,58 (2H, br s, D₂O výměnný, 2-NH₂) a 7,43 (1H, s, 8-H).

Příklad 13

Draselná sůl 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-guaninu

K suspenzi 0,30 g, 1,2 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu v 8 ml vody se přidá 1,2 ml 1 M vodného roztoku hydroxidu draselného. Rozpouštědlo se ze vzniklého čirého roztoku odpaří a odparek se rozetře se směsí methanolu a ethanolu, čímž se ve výtěžku 97 % získá 0,34 g draselné soli 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu ve formě práškovité bílé pevné látky.

UV spektrum (voda) pH 7,4 má maximum při 252 ($\epsilon = 12.400$) nm.

IR spektrum (KBr) má maxima při: 3360, 3180, 1690, 1650, 1585, 1570 a 1480 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,47 (1H, m, 3'-H), 1,69 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, 2'-H), 3,3 - 3,5 (4H, AB část ABX, 2 x 4'-H), 3,94 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, 1'-H), 4,7 (2H, br; D_2O výměnný, 2 x OH), 5,69 (2H, br s, D_2O výměnný, 2-NH₂) a 7,38 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{O}_3\text{K}$

vypočteno C 41,22, H 4,84, N 24,04 %

nalezeno C 41,11, H 4,91, N 23,82 %.

Příklad 14

2-amino-6-chlor-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)purin hydrochlorid

K roztoku 0,46 g, 1,5 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu ve 4,5 ml tetrahydrofuranu se přidá 0,5 ml, 2,0 M kyseliny chlorovodíkové. Vytvoří se bílá sraženina, po 1/2 hodině se roztok zředí dalším podílem tetrahydrofuranu a zfiltruje se, čímž se ve výtěžku 63 % získá 290 mg 2-amino-6-chlor-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)purin hydrochloridu s teplotou tání vyšší než 165 °C za rozkladu.

UV spektrum (voda) pH 5,5 má maxima při: 223 ($\epsilon = 28.400$), 245 ($\epsilon = 4.620$), 307 ($\epsilon = 7.620$) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při 3370, 3330, 3200, 2500, 1650, 1630, 1595 a 1505 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,53 (1H, m, CHCH_2CH_2), 1,83 (2H, q, $J = 7$ Hz, CHCH_2CH_2), 3,35 (4H, d, $J = 6$ Hz, 2 x CH_2O), 4,19 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2N), 5,85 (9H, s, D_2O výměnný, 2 x OH, NH₂, HCl a H₂O), 8,57 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $C_{10}H_{14}ClN_5O_4 \cdot HCl$

vypočteno C 38,98, H 4,91, N 22,73 %

nalezeno C 39,04, H 4,85, N 22,36 %.

Příklad 15

2-amino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-6-methoxypurin

K roztoku 0,28 g, 0,9 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu ve 2,5 ml methanolu se přidá 1,0 ml 1 M roztoku methoxidu sodíku v methanolu a roztok se míchá 1,5 hodiny při teplotě 50 °C. Pak se roztok nechá zchladnout a přidá se 0,2 ml 5 M kyseliny chlorovodíkové a 0,4 ml vody. Po 15 minutách se roztok neutralizuje přidáním 10% vodného roztoku hydroxidu sodného. Přidá se silikagel a rozpouštědlo se odpaří. Chromatografie na sloupci silikagelu při použití směsi chloroformu a methanolu jako elučního činidla poskytuje ve výtěžku 77 % celkem 185 mg 2-amino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-6-methoxypurinu s teplotou tání 117 až 119 °C.

UV-spektrum (voda) má maxima při: 213 ($\epsilon = 22.100$), 249 ($\epsilon = 6.860$) a 280 ($\epsilon = 8.410$) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při 3400, 3240, 3210, 1640, 1610, 1590, 1410 a 1395 cm^{-1} .

1H NMR $(CD_3)_2SO$: 1,47 (1H, m, $CHCH_2CH_2$), 1,74 (2H, q, $J = 7$ Hz, $CHCH_2CH_2$), 3,40 (4H, d, $J = 6$ Hz, 2 x CH_2O), 3,95 (3H, s, OCH_3), 4,06 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2N), 4,4 (2H, br, D_2O výměnný, 2 x OH), 6,33 (2H, s, D_2O výměnný, 2- NH_2) a 7,46 (1H, s, 8-H).

Hmotové spektrum pro $C_{11}H_{17}N_5O_3 M^+$

vypočteno 267.1331

nalezeno 267.1340.

Příklad 16

2-amino-6-ethoxy-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)purin

K suspenzi 0,31 g, 1,0 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu v 1,5 ml ethanolu se přidá 1,5 ml 1 M roztoku ethoxidu sodíku v ethanolu a směs se 1 hodinu míchá při teplotě 60°C. Výsledný roztok se nechá zchladnout, přidá se 0,3 ml 5 M kyseliny chlorovodíkové a 0,7 ml vody a roztok se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti. Pak se roztok neutralizuje přidáním vodného roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného a rozpouštědlo se odpaří. Pak se rozpouštědlo extrahuje směsí chloroformu a ethanolu v poměru 2 : 1, roztok se zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu při použití směsi chloroformu a methanolu v poměru 6 : 1 jako elučního činidla, čímž se ve výtěžku 85 % získá 0,24 g 2-amino-6-ethoxy-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)purinu s teplotou tání 150 až 152 °C.

UV-spektrum (voda) má maxima při: 213 ($\epsilon = 24.300$), 249 ($\epsilon = 7.360$) a 280 ($\epsilon = 9.270$) nm.

IR-spektrum (KBr): 3330, 3210, 2900, 1650, 1610, 1580 cm^{-1} .

^1H NMR (CD_3) $_2\text{SO}$: 1,3 - 1,6 (4H, m, 3'-H a CH_3), 1,73 (2H, q, $J = 7$ Hz, 2'-H), 3,2 - 3,6 (4H, AB část ABX, 2 x 4'-H), 4,04 (2H, t, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4,3 - 4,55 (4H, m, 2H D_2O výměnný, 2 x OH, D_2O výměnný, po výměně zbývají 2H, q, $J = 7$ Hz, 6- OCH_2), 6,30 (2H, s, D_2O výměnný, 2- NH_2), 7,84 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_3$

vypočteno C 51,23, H 6,81, N 24,90 %

nalezeno C 50,91, H 7,00, N 24,89 %.

Příklad 17

2-amino-6-benzyloxy-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-
purin

Suspenze 0,31 g, 1,0 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu ve 2 ml 1 M roztoku benzoxidu sodíku v benzolalkoholu se 1 hodinu míchá při teplotě 70 °C. Výsledný roztok se nechá zchladnout, přidá se 0,4 ml, 5 M kyseliny chlorovodíkové a 0,6 ml vody a roztok se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti. Pak se roztok dělí mezi chloroform a vodu. Vodná vrstva se neutralizuje vodným hydrogenuhličitanem sodným a extrahuje se chloroformem. Organické vrstvy se spojí, promyjí se vodným hydrogenuhličitanem sodným, vysuší síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 10 : 1 a pak 5 : 1, čímž se ve výtěžku 50 % získá 0,17 g 2-amino-6-benzyloxy-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-purinu ve formě bílé krystalické pevné látky s teplotou tání 146 až 147,5 °C.

UV-spektrum (ethanol) má maxima při: 212 (32.300), 250 (8.380), 283 (10.100) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3340, 3220, 1655, 1605 a 1580 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,3 - 1,6 (1H, m, 3'-H), 1,72 (2H, q, $J = 7$ Hz, 2'-H), 3,38 (4H, AB část ABX, 2 x 4'-H), 4,03 (2H, t, $J = 7$ Hz, 1'-H), 4,36 (2H, t, $J = 5,5$ Hz, D_2O výměnný, 2 x OH), 5,47 (2H, s, PhCH_2), 6,37 (2H, s, D_2O výměnný, 2-NH₂), 7,3 - 7,6 (5H, m, C_6H_5), 7,84 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_3$

vypočteno C 59,46, H 6,16, N 20,40 %

nalezeno C 58,89, H 6,12, N 18,97 %.

Příklad 18

2-amino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-6-thiopurin

Roztok 0,31 g, 1,0 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu ve 3,0 ml 2 M vodného roztoku hydrogensulfidu sodného a 1,5 ml ethanolu se 1 hodinu míchá při teplotě 70°C. Pak se k tomuto roztoku přidá 2,5 ml ledové kyseliny octové a směs se ještě 1 hodinu míchá při teplotě 70°C. Pak se roztok nechá zchladnout, zfiltruje se a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se nechá překrystalovat z vody, čímž se ve výtěžku 48 % získá 0,13 g, 2-amino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)6-thiopurinu s teplotou tání 260 °C za rozkladu.

^1H NMR (CD_3) $_2\text{SO}$: 1,45 (1H, m, CHCH_2CH_2), 1,72 (2H, m, $J = 7$ Hz, CHCH_2CH_2), 3,3 - 3,5 (4H, ABX J_{AB} 10,7 Hz, J_{AX} 5,5 Hz, a J_{BX} 5,8 Hz, 2 x CH_2O), 4,02 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_2N), 4,45 (2H, br, D_2O výměnný, 2 x OH), 6,77 (2H, s, D_2O výměnný, 2'- NH_2), 7,87 (1H, s, 8-H) a 11,9 (1H, br, D_2O výměnný, 1-H).

UV-spektrum (voda) má maxima při: 230 (16.900), 263 (7.210), 341 (25.200) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3310, 3130, 1650, 1610 a 1580 cm^{-1} .

Analýza pro $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$

vypočteno C 44,60, H 5,61, N 26,00 %

nalezeno C 44,86, H 5,60, N 25,44 %.

Příklad 19

2-amino-6-azido-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purin

K roztoku 0,47 g, 1,5 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu v 5 ml bezvodého N,N-dimethylformamidu se přidá 0,20 g, 3,0 mmol azidu sodíku a

směs se míchá 4 hodiny při teplotě 100 až 110 °C. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se promyje vodou, čímž se ve výtěžku 75 % získá 0,36 g 2-amino-6-azido-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu ve formě krystalické pevné látky s teplotou tání 200 °C za rozkladu.

UV-spektrum (methanol) má maxima při: 272 (8.210), 301 (10.100) (10.100) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 1670, 1625 a 1560 cm^{-1} .

^1H NMR ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$): 1,44 (6H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,6 - 2,2 (3H, m, CHCH_2CH_2), 3,5 - 3,8 (2H, dd (ABX), $J = 7$ Hz a $J = 11$ Hz, $2 \times \text{H}_{\text{ax}}$), 3,85 - 4,15 (2H, dd (ABX), $J = 4$ Hz a $J = 11$ Hz, $2 \times \text{H}_{\text{eq}}$), 4,29 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2N), 7,93 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_8\text{O}_2$

vypočteno C 49,05, H 5,70, N 35,20 %

nalezeno C 48,96, H 5,66, N 35,15 %.

Hmotové spektrum M^+

vypočteno 318,1546, nalezeno 318,1553.

Příklad 20

2,6-diamino-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purin

Směs 318 mg, 1,0 mmol 2-amino-6-azido-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu, 0,15 ml, 4,0 mmol kyseliny mravenčí, 0,22 ml, 4,0 mmol koncentrovaného amoniaku, 30 mg, 10% paladia na aktivním uhlí a 10 ml methanolu se 1 hodinu zahřívá na teplotu varu pod zpětným chladičem. Pak se roztok nechá zchladnout, zfiltruje se a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 20 : 1 a pak 15 : 1, čímž se ve výtěžku 65 % získá 190 mg 2,6-diamino-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu s teplotou tání 202 až 204 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 1670, 1640, 1595 a 1410 cm^{-1} .

^1H NMR ($\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{OD}$): 1,42 (6H, s, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 1,6 - 2,0 (3H, m, CHCH_2CH_2), 3,5 - 4,2 (6H, m, 2 x CH_2O a CH_2N) a 7,68 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_2$

vypočteno C 53,41, H 6,90, N 28,75 %

nalezeno C 52,88, H 6,78, N 28,36 %.

Hmotové spektrum M^+ vypočteno 292,1648,
nalezeno 292,1652.

Příklad 21

2,6-diamino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)purin

Roztok 180 mg, 0,6 mmol 2,6-diamino-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu v 10 ml 70% kyseliny octové se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří, odparek se uvede do suspenze v methanolu a k neutralizaci se přidá methoxid sodíku. Směs se chromatografuje na sloupci silikagelu při použití směsi chloroformu a methanolu v poměru 6 : 1, 4 : 1 a 3 : 1 jako elučního činidla, čímž se ve výtěžku 63 % získá 95 mg 2,6-diamino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)purinu s teplotou tání 187 až 190 $^{\circ}\text{C}$.

UV-spektrum (voda) pH 6,5 má maxima při: 215 (25.500), 255 (7,290) a 280 (9.170) nm.

IR-spektrum má maxima při: 3150, 1680, 1650, 1605, 1590, a 1410 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,46 (1H, m, CHCH_2CH_2), 1,73 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, CHCH_2CH_2), 3,3 - 3,5 (4H, ddd (ABX), $J_{\text{AB}} 10,6$ Hz, $J_{\text{AX}} = 5,5$ Hz a $J_{\text{BX}} = 5,9$ Hz, 2 x CH_2O), 4,01 (2H, t, $J = 3,7$ Hz, CH_2N), 4,41 (2H, br, D_2O výměnný, 2 x OH), 5,70 (2H, s, D_2O výměnný, NH_2), 6,56 (2H, s, D_2O výměnný, NH_2), a 7,69 (1H, s, 8-H).

Analýza pro $C_{10}H_{16}N_6O_2 \cdot 0,1 CHCl_3$
vypočteno C 45,91, H 6,14, N 31,81 %
nalezeno C 46,09, H 6,32, N 31,69 %.

Příklad 22

9-(4-acetoxy-3-acetomethylbut-1-yl)guanin

Směs 253 mg, 1,0 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu, 25 mg, 4-dimethylaminopyridinu a 8,5 ml anhydridu kyseliny octové se míchá 4 dny při teplotě místnosti. Anhydrid kyseliny octové se odpaří za sníženého tlaku. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 20 : 1 a 10 : 1, čímž se ve výtěžku 47 % získá 160 mg 9-(4-acetoxy-3-acetoxymethylbut-1-yl)guaninu, který má po překrytlování z methanolu teplotu tání 202 až 205 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 1737, 1690, 1628, 1600 a 1240 cm^{-1} .

1H NMR $(CD_3)_2SO$: 1,72 (2H, q, J = 6,7 Hz, $CHCH_2CH_2$), 1,91 (1H, m, $CHCH_2CH_2$), 3,00 (6H, s, 2 x CH_3), 4,00 (6H, m, 2 x CH_2O a CH_2N), 6,42 (2H, s, D_2O výměnný, 2- NH_3), 7,71 (1H, s, 8-H) a 10,54 (1H, s, D_2O výměnný, 1-H).

^{14}C NMR $(CD_3)_2SO$: 20,71 (2 x CH_3), 28,29 (C-2'), 34,54 (C-3'), 40,59 (C-1'), 63,58 (2 x C-4'), 116,64 (C-5), 137,58 (C-8), 151,24 (C-4), 153,38 (C-2), 156,87 (C-6) a 170,57 (2 x COO).

Analýza pro $C_{14}H_{19}N_5O_5$
vypočteno C 49,85, H 5,68, N 20,76 %
nalezeno C 49,62, H 5,70, N 20,51 %.

Hmotové spektrum M^+ vypočteno 337.1386
nalezeno 337.1392.

Příklady 23 a 24

9-(4-propionyloxy-3-propionyloxymethylbut-1-yl)guanin
(příklad 23) a
N²-propionyl-9-(4-propionyloxy-3-propionyloxymethylbut-1-yl)
guanin (příklad 24)

Směs 253 mg, 1,0 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu, 30 mg 4-dimethylaminopyridinu, 8 ml anhydridu kyseliny propionové a 15 ml N,N-dimethylformamidu se míchá 66 hodin při teplotě místnosti. Pak se rozpouštědlo odpaří a odparek se chromatografuje na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 30 : 1, 20 : 1, a 10 : 1. Nejprve se ve výtěžku 47 % získá 200 mg N²-propionyl-9-(4-propionyloxy-3-propionyloxymethylbut-1-yl)guaninu, který se nechá překrystalovat ze směsi etheru a methanolu a má pak teplotu tání 152 až 154 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 1740, 1675, 1610, 1560 a 1185 cm⁻¹.

¹H NMR (CDCl₃): 1,14 (6H, t, J = 7,5 Hz, 2 x OCOCH₂CH₃), 1,27 (3H, t, J = 7,5 Hz, NCOCH₂CH₃), 1,88 (2H, q, J = 6,9 Hz, CHCH₂CH₂), 2,01 (1H, m, CHCH₂CH₂), 2,35 (2H, q, J = 7,5 Hz, 2 x OCOCH₂CH₃), 2,56 (2H, q, J = 7,5 Hz, NCOCH₂CH₃), 4,1 - 4,3 (6H, m, 2 x CH₂O a CH₂N), 7,65 (1H, s, 8-H), 9,14 (1H, s, N-H) a 11,95 (1H, s, N-H).

Analýza pro C₁₉H₂₇N₅O₆

vypočteno C 54,15, H 6,46, N 16,62 %

nalezeno C 54,13, H 6,44, N 16,19 %.

Hmotové spektrum M⁺ vypočteno 421.1961

nalezeno 421.1958.

Jako druhá složka se ve výtěžku 41 % získá 150 mg 9-(4-propionyloxy-3-propionyloxymethylbut-1-yl)guaninu, který má po překrystalování z methanolu teplotu tání 204 až 206 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3310, 3150, 1740, 1690 a 1190 cm^{-1} .

^1H NMR (CD_3) $_2\text{SO}$: 1,01 (6H, t, $J = 7,4$ Hz, $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,80 (2H, q, $J = 8,0$ Hz, CHCH_2CH_2), 1,91 (1H, m, CHCH_2CH_2), 2,29 (4H, q, $J = 7,5$ Hz, $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,01 (6H, m, $2 \times \text{CH}_2\text{O}$ a CH_2N), 6,37 (2H, s, D_2O výměnný, 2- NH_2), 7,69 (1H, s, 8-H) a 10,50 (1H, s, D_2O výměnný, 1-H).

Analýza pro $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_5$

vypočteno C 52,59, H 6,35, N 19,17 %

nalezeno C 52,28, H 6,20, N 18,95 %.

Příklad 25

9-(4-hexanoyloxy-3-hexanoyloxymethylbut-1-yl)guanin

Směs 253 mg, 1,0 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu, 0,83 g, 4,0 mmol dicyklohexylkarbodiimidu, 0,38 ml, 0,35 g, 3,0 mmol hexanové kyseliny, 20 mg 4-dimethylaminopyridinu a 5 ml N,N-dimethylformamidu se míchá 64 hodin při teplotě místnosti. Směs se zředí vodou a dvakrát se extrahuje chloroformem. Organické vrstvy se spojí, promyjí se vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vysuší se síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Odpařek se čistí chromatografií na sloupci při použití směsi chloroformu a methanolu, čímž se ve výtěžku 45 % získá 200 mg 9-(4-hexanoyloxy-3-hexanoyloxymethylbut-1-yl)guaninu, který má po překrytlování z methanolu teplotu tání 198,5 až 201 $^{\circ}\text{C}$.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3340, 3160, 2960, 2930, 1740, 1690, 1650, 1605 a 1170 cm^{-1} .

^1H NMR (CDCl_3): 0,87 (6H, t, $J = 6,9$ Hz, $2 \times \text{CH}_3$), 1,28 (8H, m, $2 \times \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,60 (4H, q, $J = 7,4$ Hz, $2 \times \text{COCH}_2\text{CH}_2$), 1,90 (2H, q, $J = 6,9$ Hz, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2,02 (1H, m, $\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{N}$), 2,30 (3H, t, $J = 7,6$ Hz, $2 \times \text{COCH}_2\text{CH}_2$), 4,13 (6H, m, $2 \times \text{CH}_2\text{O}$ a CH_2N), 6,42 (2H, s, D_2O výměnný, 2- NH_2), 7,70 (1H, s, 8-H),

a 12,16 (1H, s, D₂O výměnný, 1-H).

Analýza pro C₂₂H₃₅N₅O₅

vypočteno C 58,78, H 7,85, N 15,58 %

nalezeno C 58,97, H 7,92, N 15,45 %.

Příklad 26

9-(4-formyloxy-3-formyloxymethylbut-1-yl)guanin

Směs 0,23 g, 0,9 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu, 0,92 g, 4,5 mmol dicyklohexylkarbodiimidu, 0,17 ml, 4,5 mmol kyseliny mravenčí, 20 mg 4-dimethylamino-pyridinu a 5 ml N,N-dimethylformamidu se míchá 40 minut při teplotě místnosti a pak se reakce zastaví přidáním 1 ml methanolu. Roztok se zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 7 : 1 a 4 : 1, čímž se získá ve výtěžku 43 % celkem 0,12 g 9-(4-formyloxy-3-formyloxymethylbut-1-yl)guaninu, který má po krystalizaci z methanolu teplotu tání 195 až 198 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 1720, 1680, 1630, 1600 a 1570 cm⁻¹.

¹H NMR (CD₃)₂SO: 1,83 (2H, q, J = 7,1 Hz, 2'-H), 2,01 (1H, m, 3'-H), 4,04 (2H, t, J = 7,1 Hz, 1'-H), 4,13 (4H, d, J = 5,5 Hz, 2 x 4'-H), 6,39 (2H, s, D₂O výměnný, 2-NH₂), 7,70 (1H, s, 8-H), 8,23 (2H, s, 2 x HCOO) a 10,52 (1H, s, D₂O výměnný, 1-H).

Analýza pro C₁₂H₁₅N₅O₅

vypočteno C 46,60, H 4,89, N 22,64 %

nalezeno C 45,40, H 4,68, N 21,70 %.

Příklad 27

9-/4-(N-imidazolyln-karboxyloxy)-3-(N-imidazolyln-karboxyloxy-methyl)but-1-yl/guanin

Směs 253 mg, 1,0 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu, 187 mg, 1,15 mmol N,N'-karboxyldimidazolu, 20 mg 4-dimethylaminopyridinu a 5 ml N,N-dimethylformamidu se míchá při teplotě místnosti. Po 2 hodinách se přidá ještě 10 mg N,N'-karboxyldimidazolu a směs se ještě 2 hodiny míchá. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se promyje vodou, ethylacetátem a horkým methanolem, čímž se ve výtěžku 82 % získá 360 mg 9-/4-(N-imidazolyln-karboxyloxy)-3-(N-imidazolyln-karboxyloxymethyl)but-1-yl/guaninu s teplotou tání vyšší než 300 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3320, 3140, 1760, 1695, 1630 a 1600 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 2,0 (2H, q, $J = 7$ Hz, CHCH_2CH_2), 2,15 - 2,40 (1H, m, CHCH_2CH_2), 4,10 (2H, t, $J = 7$ Hz, CH_2N), 4,48 (4H, d, $J = 5$ Hz, 2 x CH_2O), 6,32 (1H, s, D_2O výměnný, 2- NH_2), 7,05 (2H, s, imid-H), 7,57 (2H, s, imid-H), 7,75 (1H, s, 8-H), 8,28 (2H, s, imid-H), a 10,53 (1H, s, D_2O výměnný 1-H).

M/Z 68 (100, imidazol⁺), 44 (70, CO_2^+), 41 (72, NCHN^+).

Příklady 28 a 29

N²-monomethoxytrityl-9-(4-monomethoxytrityloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin a

N²-monomethoxytrityl-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

Roztok 4,05 g, 16 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu, 10,9 g, 35 mmol monomethoxytritylchloridu, 6,7 ml triethylaminu a 40 mg 4-dimethylaminopyridinu v 50 ml

N,N-dimethylformamidu se 2 hodiny míchá. Pak se reakce zastaví přidáním methanolu a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se rozpustí v ethylacetátu a roztok se promyje vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a vodou. Pak se roztok vysuší síranem hořečnatým a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užijí směsi chloroformu a methanolu. První hlavní složka se získá ve výtěžku 34 %, jde o 4,4 g N²-monomethoxytritlyl-9-(4-monomethoxytritlyoxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 142 až 145 °C.

UV-spektrum (Ethanol) má maxima při: 230 (hrb, 29.900), 262 (16.000) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3400, 1680, 1605, 1570, a 1510 cm⁻¹.

¹H NMR (CD₃)₂SO: 1,24 (2H, m, 2'-H), 1,43 (1H, m, 3'-H), 2,7 - 2,9 (2H, AB část ABX, CH₂OC), 3,1 - 3,4 (2H, AB část ABX, CH₂OH), 3,42 (2H, t, J = 6,7 Hz, 1'-H), 3,66 (3H, s, CH₃O), 3,74 (3H, s, CH₃O), 4,35 (1H, t, J = 4,8 Hz, D₂O výměnný, OH), 6,7 - 7,4 (28H, m, Ar-H), 7,44 (1H, s, 8-H), 7,55 (1H, s, D₂O výměnný, 2-NH) a 10,50 (1H, s, D₂O výměnný, 1-H).

Analýza pro C₅₀H₄₇N₅O₅

vypočteno C 75,26, H 5,94, N 8,78 %

nalezeno C 74,28, H 5,86, N 8,64 %.

Jako druhý hlavní produkt se ve výtěžku 17 % získá 1,4 g N²-monomethoxytritlyl-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 205 až 207 °C.

UV-spektrum (ethanol) má maximum při 261 (14.500)nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3380, 1705, 1680, 1610, 1570 a 1515 cm⁻¹.

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,25 (3H, m, 2'-H a 3'-H), 3,1 - 3,3 (4H, m, 2 x 4'-H), 3,52 (2H, t, J = 6,6 Hz, 1'-H), 3,72 (3H, s, CH_3O), 4,28 (2H, t, J = 5,2 Hz, D_2O výměnný, 2 x OH), 6,85 - 7,35 (14H, m, Ar-H), 7,54 (1H, s, 8-H), 7,56 (1H, s, D_2O výměnný, 2-NH), a 10,49 (1H, s, D_2O výměnný, 1-H).

Analýza $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_4$

vypočteno C 68,55, H 5,95, N 13,32 %

nalezeno C 67,93, H 6,05, N 12,90 %.

Příklad 30

9-(4-pivalyloxy-3-pivalyloxymethylbut-1-yl)guanin

K roztoku 0,47 g, 0,9 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu ve 4,5 ml pyridinu se přidá 0,55 ml, 4,5 mmol pivalylchloridu a roztok se míchá 45 minut. Pak se směs vysráží 45 ml vody a výsledná sraženina se rozpustí v 10 ml 80% kyseliny octové, v níž se zahřívá 20 minut na 80 °C. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 10 : 1, čímž se ve výtěžku 58 % získá 0,22 g 9-(4-pivalyloxy-3-pivalyloxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 225 až 237 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3430, 2980, 1730, 1690 a 1620 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,11 (18H, s, 2 x $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,81 (2H, q, J = 6,8 Hz, 2'-H), 1,93 (1H, m, 3'-H), 4,0 - 4,1 (6H, m, 1'-H a 2 x 4'-H), 6,38 (2H, s, 2-NH₂), 7,69 (1H, s, 8-H), 10,58 (1H, br, s, 1-H).

Analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_5$

vypočteno C 56,99, H 7,41, N 16,62 %

nalezeno C 56,58, H 7,26, N 16,14 %.

Příklad 31

9-(4-acetoxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

K roztoku 0,72 g, 0,9 mmol N²-monomethoxytrityl-9-(4-monomethoxytrityloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu ve 3 ml pyridinu se přidá 0,21 ml, 3,0 mmol acetylchloridu a pak se roztok 30 minut míchá. Směs se vysráží přidáním 30 ml vody a sraženina se smísí s 10 ml 80% kyseliny octové a směs se zahřívá 30 minut na teplotu 80 °C. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 7 : 1 až 3 : 1, čímž se ve výtěžku 64 % získá 0,17 g, 9-(4-acetoxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 194 až 200 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při 3330, 3170, 2930, 1730, 1690, 1660, 1610 a 1565 cm⁻¹.

¹H NMR (CD₃)₂SO: 1,6 - 1,8 (3H, m, 2'-H a 3'-H), 1,98 (3H, s, CH₃), 3,39 (2H, br, D₂O, po výměně vznikne d, J = 5 Hz, CH₂OH), 3,9 - 4,1 (4H, m, 1'-H a CH₂OCO), 4,61 (1H, br t, D₂O výměnný, OH), 6,44 (2H, s, D₂O výměnný, 2-NH₂), 7,68 (1H, s, 8-H), a 10,59 (1H, s, D₂O výměnný, 1-H).

Analýza pro C₁₂H₁₇N₅O₄

vypočteno C 48,81, H 5,80, N 23,72 %
nalezeno C 47,91, H 5,63, N 21,71 %.

Příklad 32

9-(4-benzoyloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

K roztoku 0,72 g, 0,9 mmol N²-monomethoxytrityl-9-(4-monomethoxytrityloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu ve 4 ml pyridinu se přidá 0,31 ml, 2,7 mmol benzoylchloridu a roztok se 30 minut míchá. Pak se přidá 40 ml vody a vzniklá sraženina se míchá 45 minut při teplotě 80 °C v 10 ml 80%

kyseliny octové. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 6 : 1 a 3 : 1, čímž se ve výtěžku 25 % získá 80 mg 9-(4-benzoyloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 156 až 168 °C.

Uv-spektrum (methanol) má maxima při: 231 (15.100) a 254 (13.100) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 1715, 1690, 1625 a 1600 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,75 - 1,90 (3H, m, 2'-H a 3'-H), 3,50 (2H, t, J = 5 Hz, D_2O , po výměně vznikne d, CH_2OH), 4,07 (2H, t, J = 6,9 Hz, 1'-H), 4,2 - 4,35 (2H, AB část ABX, CH_2OCO), 4,68 (1H, t, J = 5,1 Hz, D_2O výměnný, OH), 6,39 (2H, s, D_2O výměnný, 2-NH₂), 7,5 - 8,0 (6H, m, C_6H_5 a 8-H) a 10,53 (1H, s, D_2O výměnný, 1-H).

Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_4 \cdot 0,25 \text{CHCl}_3$

vypočteno C 53,51, H 5,01, N 18,09 %

nalezeno C 53,57, H 5,28, N 17,95 %.

Příklad 33

9-(4-hexanoyloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

K roztoku 0,72 g, 0,9 mmol N^2 -monomethoxytrityl-9-(4-monomethoxytrityloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu ve 4 ml pyridinu se přidá 0,38 ml, 2,7 mmol hexanoylchloridu a roztok se 20 minut míchá. Pak se přidá 40 ml vody, čímž vznikne sraženina, která se v 10 ml 80% kyseliny octové míchá 45 minut při teplotě 80 °C. Pak se rozpouštědlo odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 7 : 1 a 5 : 1, čímž se ve výtěžku 38 % získá 0,12 g 9-(4-hexanoyloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 179 až 181 °C.

IR-spektrum má maxima při: 2060, 2930, 1730, 1690, 1630 a 1600 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 0,84 (3H, t, $J = 6,9$ Hz, CH_3), 1,24 (4H, m, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2$), 1,50 (2H, q, $J = 7,3$ Hz, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1,6 - 1,8 (3H, m, 2'-H a 3'-H), 2,26 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, CH_2CO), 3,40 (2H, t, $J = 5$ Hz, D_2O , po výměně vznikne d, CH_2OH), 3,9 - 4,1 (4H, m, 1'-H a CH_2OCO), 4,60 (1H, t, $J = 5,1$ Hz, D_2O výměnný, 2-NH₂), 7,67 (1H, s, 8-H) a 10,49 (1H, s, D_2O výměnný, 1-H).

Analýza pro $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_4$

vypočteno C 54,69, H 7,17, N 19,93 %

nalezeno C 52,63, H 6,91, N 18,75 %.

Příklad 34

9-(4-hexadekanoyloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

K roztoku 0,72 g, 0,9 mmol N^2 -monomethoxytrityl-9-(4-monomethoxytrityloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu ve 4 ml pyridinu se přidá 0,82 ml, 2,7 mmol hexadekanoylchloridu a roztok se 30 minut míchá. Pak se přidá 40 ml vody a výsledná sraženina se míchá v 8 ml 80% kyseliny octové 2 hodiny při teplotě 80 $^{\circ}\text{C}$. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 10 : 1 a 8 : 1, čímž se ve výtěžku 52 % získá 0,23 g 9-(4-hexadekanoyloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin s teplotou tání 183 až 191 $^{\circ}\text{C}$.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3340, 3160, 2920, 2850, 1740, 1690 a 1605 cm^{-1} .

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 0,85 (3H, t, $J = 6,6$ Hz, CH_3), 1,23 (24H, m, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}$), 1,49 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$), 1,6 - 1,8 (3H, m, 2'-H a 3'-H), 2,26 (2H, t, $J = 7,3$ Hz, CH_2CO), 3,39 (2H, t, $J = 5$ Hz, D_2O , po výměně vznikne d, CH_2OH), 3,9 - 4,1 (4H, m, 1'-H a CH_2OCO), 4,60 (1H, t, $J = 5,2$ Hz, D_2O výměnný,

OH), 6,38 (2H, s, D₂O výměnný, 2-NH₂), 7,67 (1H, s, 8-H) a 10,50 (1H, s, D₂O výměnný, 1-H).

Analýza pro C₂₆H₄₅N₅O₄

vypočteno C 63,51, H 9,23, N 14,24 %

nalezeno C 63,83, H 9,44, N 14,05 %.

Příklad 35

Diamonná sůl 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin-4'-fosfátu

K roztoku 4,8 mmol kyseliny kyanoethylfosforečné v 6 ml pyridinu se přidá 1,28 g, 1,6 mmol N²-monomethoxytrityl-9-(4-monomethoxytrityloxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu a 1,98 g, 9,6 mmol dicyklohexylkarbodiimidu a roztok se 2 hodiny míchá. Pak se reakce zastaví přidáním 1 ml vody a rozpouštědlo se odpaří. K odparku se přidá koncentrovaný vodný amoniak a směs se míchá 3 hodiny při teplotě 60 °C. Rozpouštědlo se odpaří a k odparku se přidá 15 ml 80% kyseliny octové. Směs se míchá 45 minut při teplotě 80 °C a pak se rozpouštědlo odpaří. Odparek se rozpustí ve 25 ml vody a roztok se extrahuje 4 x 300 ml chloroformu. Vodná vrstva se zfiltruje, odpaří a nechá projít sloupcem pryskyřice XAD-4, pryskyřice se vymývá vodným methanolem. Frakce s obsahem produktu se spojí a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se rozpustí v malém množství vody a roztok se nechá projít sloupcem C₁₈-Sep-pak. Frakce s obsahem produktu se spojí a rozpouštědlo se odpaří, čímž se ve výtěžku 53 % získá 0,31 g 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin-4'-fosfátu ve formě diamonné soli jako bílá pevná látka.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3150 (široký pás), 1690 a 1610 cm⁻¹.

¹H NMR (CD₃)₂SO/D₂O: 1,57 (1H, m, 3'-H), 1,70 (2H, m, 2'-H), 3,37 (2H, d, J = 4,7 Hz, CH₂OH), 3,72 (2H, m, CH₂OP), 3,99 (2H, t, J = 6,9 Hz, 1'-H), 7,68 (1H, s, 8-H).

Příklad 36

N^2 -acetyl-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

K suspenzi 0,23 g, 0,9 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu ve 3 ml pyridinu se přidá 0,25 ml, 2,0 mmol chlortrimethylsilanu a směs se 15 minut míchá. Ke směsi se pak přidá 0,085 ml, 1,2 mmol acetylchloridu a směs se míchá ještě 30 minut. Pak se přidají 2 ml methanolu a směs se míchá ještě 30 minut. Rozpouštědlo se odpaří a odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 4 : 1 a pak 5 : 2, čímž se získá výsledný produkt ve formě hydrochloridu. Tato látka se rozpustí v methanolu a míchá se s uhličitanem drasným. Roztok se zfiltruje a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se rozpustí ve vodě a nechá se projít sloupcem C_{18} -Sep-pak. Frakce s obsahem produktu se spojí a rozpouštědlo se odpaří, čímž se ve výtěžku 41 % získá 0,11 g N^2 -acetyl-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 143 až 146 °C.

UV-spektrum (voda) má maximum při: 260 (15.100) nm.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3420, 3200, 2940, 1685, 1615 a 1560 cm^{-1} .

1H NMR $(CD_3)_2SO$: 1,46 (1H, m, 3'-H), 1,77 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, 2'-H), 2,18 (3H, s, CH_3), 3,3 - 3,5 (4H, m, 2 x 4'-H), 4,13 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, 1'-H), 4,42 (2H, br. t, $J = 5$ Hz, D_2O výměnný, 2 x OH), 7,98 (1H, s, 8-H) a 11,83 (2H, br, D_2O výměnný, 1-H a 2-NH).

Příklad 37

N^2 -hexanoyl-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin

K suspenzi 0,25 g, 1,0 mmol 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu v 5 ml pyridinu se přidá 0,32 ml, 2,5 mmol

chlortrimethylsilanu a směs se 15 minut míchá. Ke směsi se přidá 0,18 ml, 1,3 mmol hexanoylchloridu a směs se 20 minut míchá. Přidají se 2 ml methanolu a směs se míchá ještě 20 minut. Pak se přidá ještě 0,57 ml, 3,8 mmol 1,8-diazabicyklo-
/5,4,0/undec-7-enu a 0,5 ml vody a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 4 : 1. Frakce s obsahem produktu se spojí a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se rozpustí ve vodě a nechá se projít sloupcem C₁₈-Sep-pak, čímž se ve výtěžku 14 % získá 50 mg N²-hexanoyl-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu s teplotou tání 86 až 88 °C.

IR-spektrum (KBr) má maxima při: 3400, 2960, 2940, 1675, 1610, a 1560 cm⁻¹.

¹H (CD₃)₂SO: 0,88 (3H, t, J = 6,7 Hz, CH₃), 1,29 (4H, m, CH₃(CH₂)₂), 1,46 (1H, m, 3'-H), 1,60 (2H, m, CH₂CH₂CO), 1,77 (2H, q, J = 7,1 Hz, 2'-H), 2,46 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH₂CO), 3,3 - 3,5 (4H, m, 2 x 4'-H), 4,13 (2H, t, J = 7,4 Hz, 1'-H), 4,41 (2H, t, J = 4,7 Hz, D₂O výměnný, 2 x OH), 7,98 (1H, s, 8-H), 11,65 (1H, br, D₂O výměnný, NH) a 12,01 (1H, br, D₂O výměnný NH).

Analýza pro C₁₆H₂₅N₅O₄·0,5H₂O

vypočteno C 53,32, H 7,27, N 19,43 %

nalezeno C 53,64, H 7,56, N 18,95 %.

Příklad 38

2-amino-9-(4-hydroxy-4-hydroxymethylbut-1-yl)-6-isopropoxy-purin

Roztok 0,25 g, 0,8 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu ve 2,5 ml isopropanolu s obsahem 0,5 M isopropoxidu sodíku se míchá 25 minut při teplotě 60 °C. Po zchlazení se přidá 0,3 ml, 5 M roztoku kyseliny chlorovodíkové a 0,7 ml vody a roztok se míchá ještě

15 minut při teplotě místnosti. Pak se roztok neutralizuje přidáním vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a rozpouštědlo odpaří. Odparek se extrahuje směsí chloroformu a ethanolu v poměru 2 : 1 a roztok se nanese na sloupec silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 7 : 1, čímž se ve výtěžku 76 % získá 0,18 g 2-amino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-6-isopropoxypurinu, který má po krystalizaci ze směsi chloroformu a tetrachlormethanu teplotu tání 111,5 až 113,5 °C.

¹H NMR (CD₃)₂SO: 1,34 (6H, d, J = 6,3 Hz, C(CH₃)₂), 1,45 (1H, m, 3'-H), 1,74 (2H, q, J = 7,2 Hz, 2'-H), 3,3 - 3,5 (4H, AB část ABX, 2 x 4'-H), 4,06 (2H, t, J = 7,3 Hz, 1'-H), 4,40 (2H, br, 2 x OH), 5,49 (1H, septet, J = 6,3 Hz, CH(CH₃)₂), 6,27 (2H, s, 2-NH₂) a 7,83 (1H, s, 8-H).

Příklad 39

2-amino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-6-fenoxy-purin

K roztoku 113 mg, 1,2 mmol fenolu ve 2,5 ml bezvodého dioxanu se přidá 48 mg, 1,2 mmol hydridu sodíku ve vořmě 60% disperze v oleji. Jakmile se přestane vyvíjet vodík, přidá se 0,25 g, 0,8 mmol 2-amino-6-chlor-9-/2-(2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-yl)ethyl/purinu a směs se míchá 3,5 hodin při teplotě 75 °C. Po zchlazení se přidá 0,8 ml vody a 0,2 ml 5 M kyseliny chlorovodíkové a roztok se ještě 30 minut míchá při teplotě místnosti. Pak se roztok neutralizuje přidáním vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného a rozpouštědlo se odpaří. Odparek se extrahuje směsí chloroformu a ethanolu v poměru 2 : 1 a roztok se čistí chromatografií na sloupci silikagelu, jako eluční činidlo se užije směs chloroformu a methanolu v poměru 9 : 1, čímž se ve výtěžku 55 % získá 145 mg 2-amino-9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-6-fenoxypurinu s teplotou tání 173 až 175 °C.

^1H NMR $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$: 1,48 (1H, m, 3'-H), 1,78 (2H, q, $J = 7,1$ Hz, 2'-H), 3,3 - 3,5 (4H, m, 2 x 4'-H), 4,12 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, 1'-H), 4,42 (2H, t, $J = 5,1$ Hz, D_2O výměnný, 2 x OH), 6,35 (2H, s, D_2O výměnný, 2-NH₂), 7,2 - 7,5 (5H, m, C₆H₅) a 7,98 (1H, s, 8-H).

Zkoušky na farmaceutickou účinnost

Postup 1

Buňky Vero (ledvinné buňky afrických opic) se pěstují až do vzniku spojitě vrstvy buněk na plotnách, obsahujících 24 vyhloubení, každé vyhloubení má průměr 1,6 cm. Pak se buňky infikují virem Herpes simplex typ 1, kmen HFEM a převrství se 0,5 ml agarosy s obsahem 0,9 g agarosy/100 ml udržovacího prostředí. Zkoumaná látka, připravená v tomtéž prostředí v koncentracích 100 až 0,3 mikrogramů/ml v semilogaritmicím ředění se přidá v objemech 0,5 ml. Kultury, infikované virem se pak inkubují 4 dny při teplotě 37 °C a pak se fixují 4% roztokem formaldehydu a barví se karbolfuchsinem. Pak se plotny odečítají a zjistí se, jaká koncentrace zkoumané látky způsobí 50% snížení počtu vytvořených plaků viru, tj. hodnota PDD_{50} , dále se uvádí minimální koncentrace zkoumané látky, která je cytotoxická (MTD).

Postup 2

Buňky MRC-5 se v suspenzi infikují virem Herpes simplex typ 1, kmen SC16. Infikovaná suspenze buněk se po množství 0,1 ml rozdělí do mikrotitračních ploten, obsahujících 96 vyhloubení s obsahem zkoumaných látek v udržovacím prostředí v koncentracích 100 až 0,3 mikrogramů/ml v semilogaritmicím ředění, užije se 0,1 ml roztoku na vyhloubení. Plotny se pak inkubují 3 dny při teplotě 37 °C, po této době dosáhne cytopathický účinek viru CPE v kontrolních vyhloubeních hodnoty

100 %. Plotny se fixují 4% roztokem formaldehydu a pak se barví karbolfuchsinem. Pak se plotny hodnotí, aby bylo možno zjistit koncentraci účinné látky, která na 50 % sníží CPE, způsobený virem, tj. IC_{50} . Současně se sledují neinfikované plotny, tak, aby bylo možno zjistit minimální koncentraci zkoumané látky, která způsobí cytotoxicitu MTD.

Sloučeniny byly zkoušeny také proti viru Herpes simplex typ 2, kmen MS na buňkách Vero při použití postupu 1 a na buňkách MRC-5 při použití postupu 2. Při této druhé zkoušce byla doba inkubace zkrácena na 24 hodin.

Výsledky zkoušek jsou uvedeny v následující tabulce. Žádná ze sloučenin, které byly k těmto zkouškám užity, nevykazovala žádné známky cytotoxického účinku až do koncentrace 100 mikrogramů/ml.

T a b u l k a

slouče- nina z příkl.	PDD ₅₀ /ug/ml			
	Herpes simplex typ 1		Herpes simplex typ 2	
	kmen HFEM buňky Vero	kmen SC16 buňky MRC-5	kmen MS buňky Vero	kmen MS buňky MRC-5
4	1,3	0,9	2,3	0,6
12	2,2	0,7		
13	1,7	0,7		
15	>100	>100	63	49
22	>100	>100	>100	83
23	>100	25	>100	85
24	>100	>100	>100	65
25	1,9	1,0	1,6	0,9
27	13	1,5	2,8	5,7
31	24	10		
32	95	37		
34	16	2		

Postup 3

Sloučeniny byly podány žaludeční sondou v množství 0,2 mmol/kg v 0,1 ml 1% karboxymethylcelulósy myším samicím kme-
ne Balb/C s hmotností 20 g, myši byly chovány na lačno 18 ho-
din před pokusem. Po 15 minutách byla odebrána krev třem my-
ším srdeční punkcí při použití heparinovaných injekčních
stříkaček. Stejně podíly byly spojeny a byl přidán stejný
objem 16% kyseliny trichloroctové. Po odstředění při 8500 g
k odstranění vysrážených bílkovin byla výsledná směs analyzo-
vána vysokotlakou kapalinovou chromatografií při použití

sloupce C₁₈ Nova-Pak a při použití pufru A: 50 mM dihydrogenfosforečnanu sodného o pH 4,6 a pufru B: 10 % pufru A, 10 % vody a 80 % methanolu s gradientem 1 až 95 % pufru B. Při použití detektoru ultrafialového záření (Pye-Unicam PU4021), nastaveného na 254 nm bylo možno prokázat 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guanin.

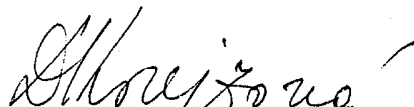
Výsledky

Koncentrace 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)guaninu, tj. sloučeniny z příkladu 4 v krvi myší po perorálním podání derivátů

podaná látka z příkladu	koncentrace sloučeniny z př. 4 v krvi v $\mu\text{g/ml}$
----------------------------	---

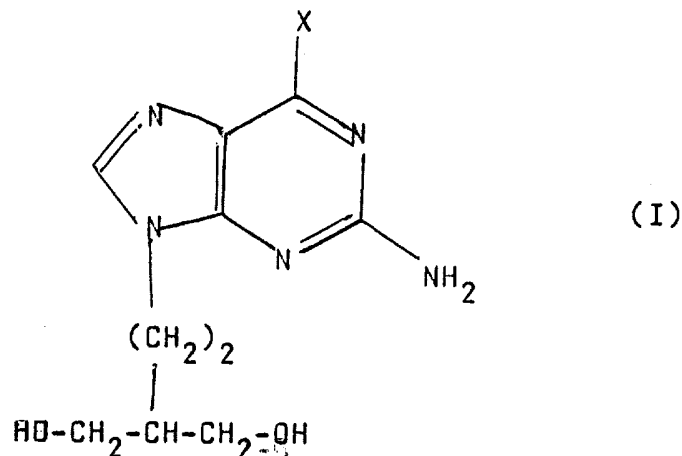
15	0,2
16	2,3
17	4,8
22	2,0
23	2,5
30	0,3
35	1,1

Zastupuje:


JUDr. Zdeňka KŘEŽOVÁ
advokátka

P A T E N T O V É N Á R O K Y

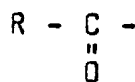
1. Guaninové deriváty obecného vzorce I



kde

X znamená atom chloru, alkokyskupinu s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 1 až 6 atomech uhlíku, fenoxyskupinu, fenylalkoxyskupinu o 1 až 6 atomech uhlíku v alkoxylové části, skupinu-NH₂, -OH nebo -SH,

jakož i soli těchto sloučenin, estery s kyselinou fosforečnou nebo acylové deriváty, přičemž acylovým derivátem se rozumí sloučenina, v níž je jeden nebo jsou oba atomy vodíku v acyklické hydroxyskupině a/nebo atom vodíku v aminoskupině nahrazeny skupinou obecného vzorce



kde

R znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 18 atomech uhlíku, fenyl, fenylaklyl o 1 až 6 atomech uhlíku v alkylové části nebo imidazolyl,

za předpokladu, že

- i) v případě, že X znamená hydroxyskupinu, má sloučenina obecného vzorce I čistotu vyšší než 50 % hmotnostních vztaženo na její mono- a dibenzylestery a
- ii) sloučenina obecného vzorce I je odlišná od následujících sloučenin:

cyklický fosfát 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)butyl/-
guaninu,

cyklický pyrofosfát 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)-
butyl/guaninu,

9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)butyl/-2,6-diamino-
purin,

cyklický fosfát 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)butyl/-
-2,6-diaminopurinu,

cyklický pyrofosfát 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)-
butyl/-2,6-diaminopurinu,

9-/4'-hydroxy-3'-(Hydroxymethyl)-butyl/-2-amino-6-chlor-
purin,

cyklický fosfát 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)butyl/-
-2-amino-6-chlorpurinu,

cyklický pyrofosfát-9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)-
butyl/-2-amino-6-chlorpurinu,

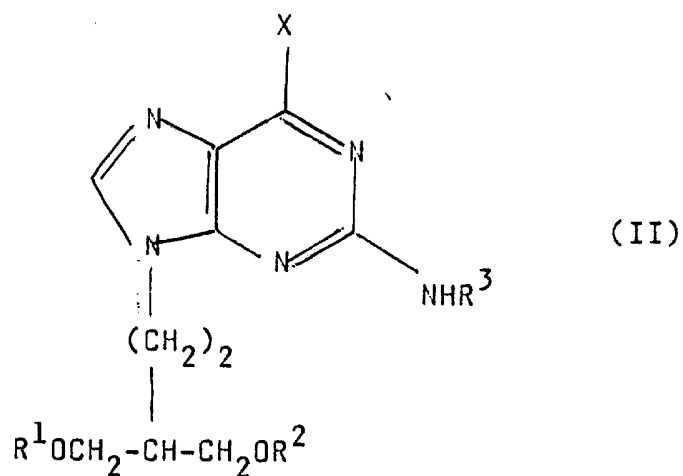
monosodná sůl 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)butyl/-
guaninmonofosfátu,

monosodná sůl 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)butyl/-
-2,6-diaminopurinmonofosfátu a

monosodná sůl 9-/4'-hydroxy-3'-(hydroxymethyl)butyl/-
-2-amino-6-chlorpurin monofosfátu.

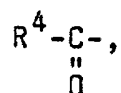
2. Acylový derivát podle nároku 1, v němž R znamená alkyl o 1 až 6 atomech uhlíku, fenyl nebo benzyl.

3. Guaninový derivát podle nároku 1, obecného vzorce II



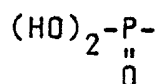
kde X má význam, uvedený v obecném vzorci I a

R¹, R², R³ znamenají atom vodíku nebo acyl obecného vzorce

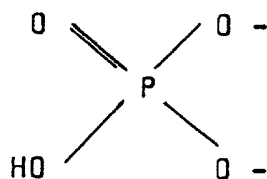


kde R⁴ znamená alkyl o 1 až 18 atomech uhlíku nebo imidazolyl,

nebo fosfátový ester vzorce



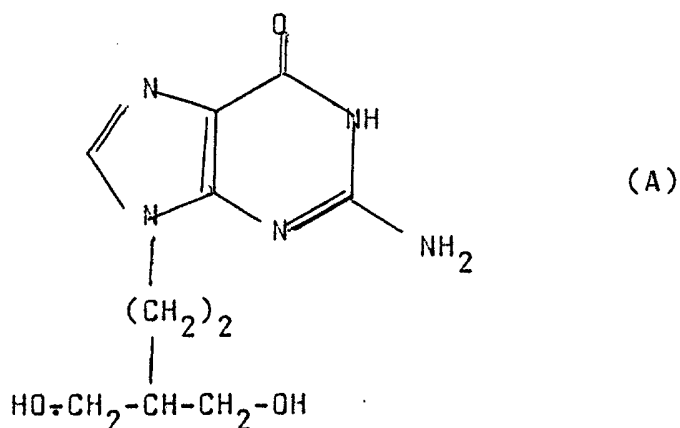
nebo R¹ a R² spolu tvoří skupinu



jakož i soli těchto sloučenin, přijatelné z farmaceutického hlediska.

4. Guaninový derivát podle nároků 1 až 3, v němž X znamená hydroxyskupinu, nebo jeho tautomer.

5. Guaninový derivát obecného vzorce I podle nároku 1, vzorce A



s čistotou vyšší než 60 % hmotnostních čisté látky, nebo sůl této sloučeniny, přijatelné z farmaceutického hlediska.

6. Sloučenina podle nároku 5, vzorce A s čistotou vyšší než 95 % hmotnostních, nebo její sůl, přijatelná z farmaceutického hlediska.

7. Sloučenina podle nároku 5 vzorce A, ve formě v podstatě čisté izolované látky nebo její soli, přijatelné z farmaceutického hlediska.

8. Sloučenina podle nároku 5 vzorce A, v krystalické formě s teplotou tání 275 až 277 °C.

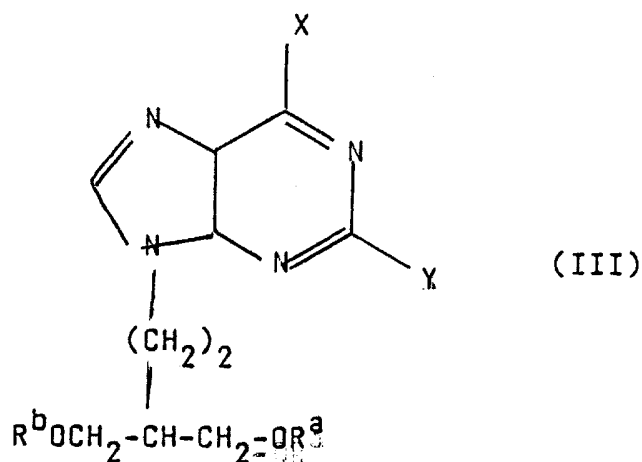
9. Sodná sůl 9-(4-hydroxy-3-hydroxymethylbut-1-yl)-guaninu.

10. Guaninový derivát podle nároků 1 až 9 bez předpokladu i) z nároku 1 pro použití jako účinná látka k výrobě farmaceutických prostředků.

11. Sloučenina podle nároku 10 pro použití jako účinná složka farmaceutického prostředku k léčbě virových infekcí.

12. Farmaceutický prostředek pro léčbu virových infekcí, v y z n a ě u j í c í s e t í m , že jako svou účinnou složku obsahuje guaninový derivát podle nároků 1 až 9 bez předpokladu i) z nároku 1, spolu s nosičem nebo s pomocnou látkou, přijatelnou z farmaceutického hlediska.

13. Způsob výroby guaninového derivátu vzorce A podle nároku 6 nebo jeho soli, v y z n a ě u j í c í s e t í m , že se ve sloučenině obecného vzorce III



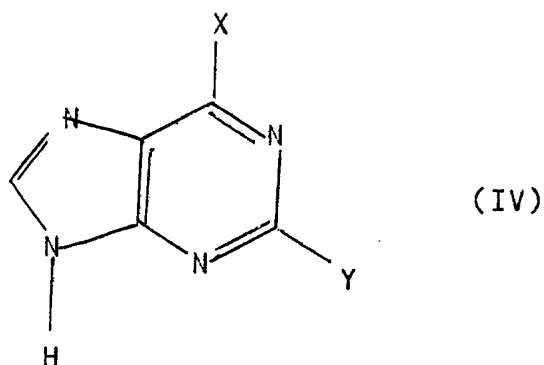
kde X má význam, uvedený v nároku 1 s výjimkou hydroxyskupiny,
 R^a a R^b , stejné nebo různé znamenají atomy vodíku nebo ochranné skupiny a

Y znamená atom chloru nebo skupinu $-NHR^c$,
v níž R^c znamená atom vodíku nebo acyl,

převeďte skupina X na hydroxyskupinu hydrolýzou v případě,
že X má význam, odlišný od aminoskupiny nebo deaminázovou
reakcí v případě, že X znamená aminoskupinu nebo v případě,
že Y je atom chloru a X znamená hydroxyskupinu, převede se

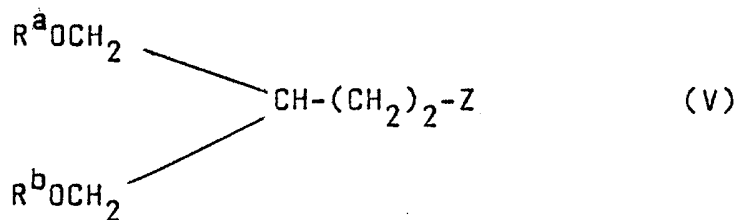
Y na aminoskupinu reakcí s amoniakem pod tlakem, načež se popřípadě převede sloučenina vzorce A na sůl působením kyseliny nebo baze.

14. Způsob výroby guaninových derivátů podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se působí na sloučeninu obecného vzorce IV



kde X má význam, uvedený v obecném vzorci I a

Y má význam, uvedený ve vzorci III v nároku 13, sloučeninou obecného vzorce V

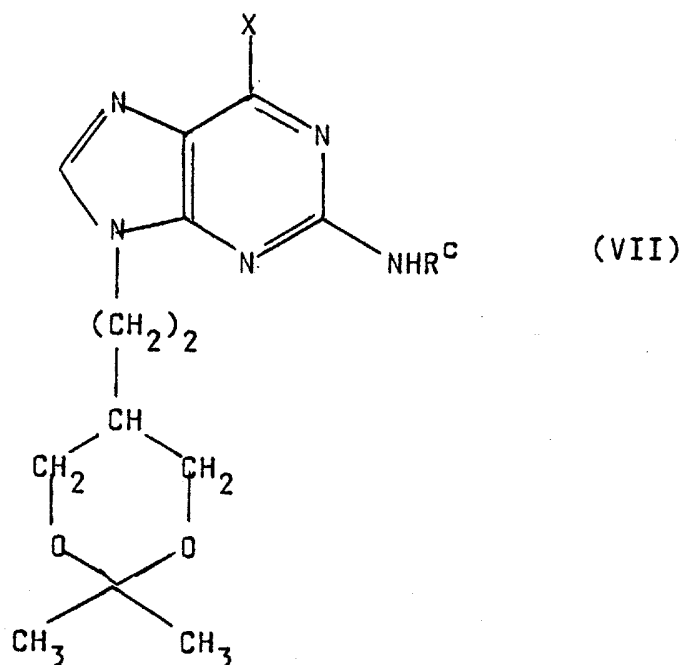


kde R^a a R^b mají význam, uvedený ve vzorci III v nároku 13
Z znamená snadno odštěpitelnou skupinu.

15. Způsob výroby acylovaného derivátu sloučenin obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se acyluje sloučenina obecného vzorce I, popřípadě chráněná a popřípadě se z výsledného produktu odštěpí ochranné skupiny.

16. Způsob výroby fosfátových esterů sloučenin obecného vzorce I podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se na chráněný meziprodukt obecného vzorce I, v němž jedna z acyklických hydroxyskupin a aminoskupina jsou chráněny působí kyselinou kyanoethylfosforečnou a z výsledného produktu se odštěpí ochranné skupiny působením kyseliny.

17. Způsob výroby guaninových derivátů obecného vzorce I podle nároku 1 nebo jejich solí, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se hydrolyzuje 1,3_dioxanový kruh ve sloučenině obecného vzorce VII



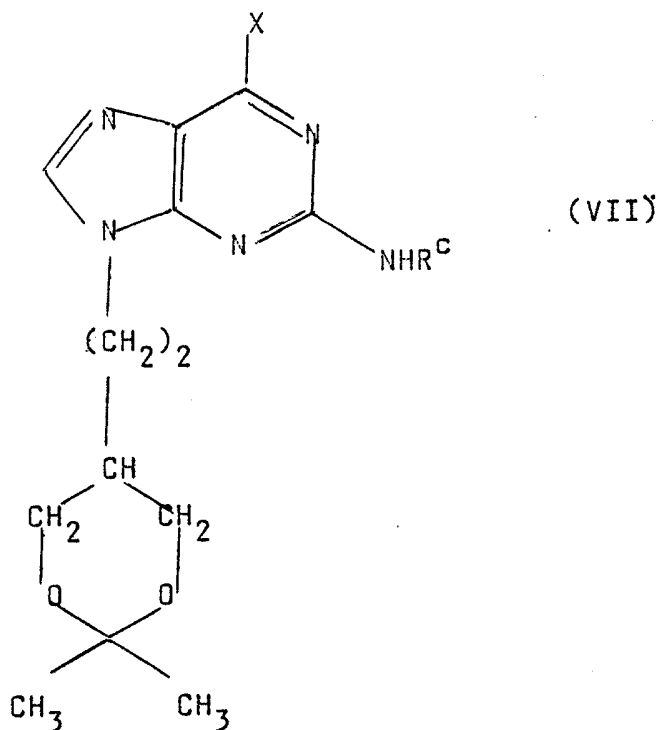
kde X má význam, uvedený ve vzorci I a

R^C má význam, uvedený ve vzorci III,

za předpokladu, že R^C má význam, odlišný od acylové skupiny v případě, že X má význam, odlišný od hydroxyskupiny,

načež se popřípadě takto získaná sloučenina obecného vzorce I převede na svou sůl působením kyseliny nebo baze.

18. Sloučenina obecného vzorce VII

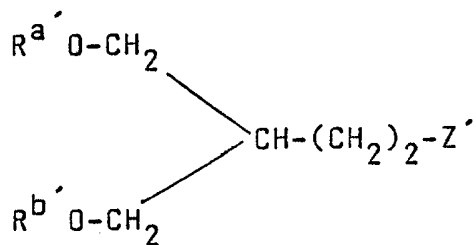


kde X má význam, uvedený v nároku 1 a

R^C znamená atom vodíku nebo acyl,

jako meziproduct pro výrobu sloučenin obecného vzorce I.

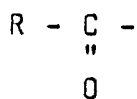
19. Sloučenina obecného vzorce



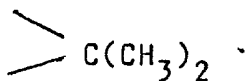
kde

Z' znamená hydroxyskupinu nebo atom chloru, bromu nebo jodu,

R^a a R^b znamenají skupinu



ve významu, uvedeném v nároku 1 nebo
R^a a R^b společně tvoří skupinu




20. 5-(2-hydroxyethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan,
5-(2-bromethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxan,
2-acetoxymethyl-4-hydroxybut-1-ylacetát a
2-acetoxymethyl-4-brombut-1-ylacetát.

21. Použití sloučeniny podle nároků 1 až 9, bez předpokladu i) z nároku 1 pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčbu virových infekcí.

22. Použití sloučeniny podle nároků 1 až 9, bez předpokladů i) a ii) z nároku 1 pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčbu virových infekcí, způsobených viry Herpes simplex typ 1 nebo typ 2.

23. Použití sloučeniny podle nároků 1 až 9, bez předpokladů i) a ii) pro výrobu farmaceutického prostředku pro léčbu virových infekcí, způsobených viry varicella-zoster.

Zastupuje:


JUDr. Zdeňka KŘÍŽOVÁ
advokátka