

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

285 420

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2047-90**

(22) Přihlášeno: **24. 04. 90**

(40) Zveřejněno: **12. 11. 91**
(Věstník č. 11/91)

(47) Uděleno: **08. 06. 99**

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: **11. 08. 99**
(Věstník č. 8/99)

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 F 9/28

A 61 K 31/675

(73) Majitel patentu:

Ústav organické chemie a biochemie AVČR,
Praha, CZ;

(72) Původce vynálezu:

Holý Antonín RNDr. DrSc., Praha, CZ;
Jindřich Jindřich RNDr., Praha, CZ;
De Clercq Erik prof. dr., Leuven, BE;
Balzarini Jan dr., Engenhoven, BE;

(74) Zástupce:

Ústav organické chemie a biochemie AVČR,
Flemingovo nám. 2, Praha 6, 16610;

(54) Název vynálezu:

**N-(3-Fluor-2-fosfonylmethoxypropyl)-
deriváty purinových a pyrimidinových
heterocyklických bází, způsoby jejich
přípravy a použití**

(57) Anotace:

Nové látky N-(3-fluor-2-fosfonylmethoxypropyl)deri-
váty purinových a pyrimidinových heterocyklických
bází, jejich příprava reakcí N-(3-fluor-2-hydroxypro-
pyl)derivátů purinových a pyrimidinových hetero-
cyklických bází s diestery kyseliny p-toluensulfonylo-
xymethylfosfonové v přítomnosti hydridu sodného a
použití pro výrobu léčiva pro potlačení multiplikace
virů, zejména retrovirů.

CZ 285 420 B6

N-(3-Fluor-2-fosfonylmethoxypropyl)deriváty purinových a pyrimidinových heterocyklických bází, způsoby jejich přípravy a použití

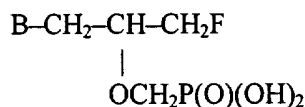
5 Předložený vynález se týká N-(3-fluor-2-fosfonylmethoxypropyl)derivátů purinových a pyrimidinových heterocyklických bází, jejich způsobů výroby a použití jako účinných složek léčiv.

10 Mezi virovými onemocněními se vyznačují zvláštní nebezpečností nemoci vyvolané retroviry, jako jsou viry lidské imunitní nedostatečnosti (HIV), které působí onemocnění aids. Léčení těchto infekcí je obtížné a ačkoli látky nejrůznější struktury, jako jsou sulfatované polysacharidy, aurintrikarboxylová kyselina, Evansova modř, glycyrrhizin, heparin, tetrahydroimidazo[4,5,1-jk][1,4]-benzodiazepin-2(1H)-thiony, a d., mají význačné účinky v tkáňových kulturách, pouze modifikovaná analoga nukleosidů a nukleosidů (2',3'-dideoxycytidin, 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidin) se uplatnila v terapii těchto onemocnění u pokusných zvířat. Pro terapii onemocnění aids jsou pak z této skupiny použity zatím pouze 3'-azido-2',3'-dideoxythymidin (AZT, zidovudin) a 2',3'-dideoxyinosin (ddI).

20 Jinou důležitou skupinou látek, účinných mezi jinými také proti retrovirům, jsou acyklická nukleotidová analoga, 9-(2-fosfonylmethoxyethyl)puriny (Čs. aut. osv. 263951), z nichž nejpodrobněji byl studován adeninový derivát PMEAs (Čs. aut. osv. 263951). Na zvířatech byl prokázán jeho účinek na virus Moloneyho sarkomu, virus leukemie koček, virus, imunitní nedostatečnosti opic (SIV), a na tkáňových kulturách i na virus HIV (E. DeClercq, Antiviral Res. 12, (1989)).

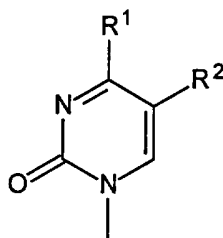
25 U těchto látek je pozoruhodná vysoká specifická protivirového účinku v závislosti na chemické struktuře, která je citlivá na jakékoli zásahy do postranního řetězce 2-fosfonylmethoxyethylskupiny. Zavedením alkylskupin, prodloužením či zkrácením řetězce nebo vynecháním kyslíkového atomu vždy dochází ke ztrátě protivirového účinku (A. Holý, E. DeClercq, I. Votruba, Nucleotide Analogues as Antiviral Agents. ACS Symposium Series No. 401, str. 51 (1989)). Jedině zavedením hydroxymethylové funkce do polohy 2 tohoto řetězce se protivirový účinek neztrácí, je však zaměřen výhradně proti DNA virům (herpesviry, adenoviry, poxviry atd.) (Čs. aut. osv. 233665, 264222) a ztratí se účinek antiretrovirový. Odpovídající aminomethyl, alkoxyethyl nebo azidomethylderiváty však žádný protivirový účinek nemají, stejně jako látky, v nichž je tato hydroxymethylová skupina nahrazena funkcí methylovou (A. Holy, E. DeClercq, I. Votruba, Nucleotide Analogues as Antiviral Agents. ACS Symposium Serie No. 401, Str. 51 (1998)).

40 Předmětem vynálezu jsou N-(3-fluor-2-fosfonylmethoxypropyl)deriváty purinových a pyrimidinových heterocyklických bází obecného vzorce I



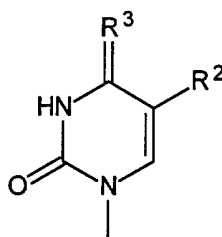
45 (I),

kde B je substituovaný pyrimidin-1-ylový zbytek pyrimidinové heterocyklické báze obecného vzorce II



(II),

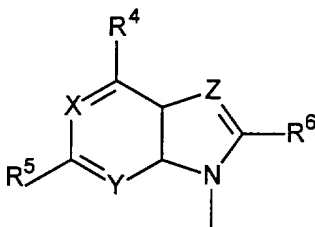
5 kde R¹ je vodík, hydroxylamino, hydrazino, alkoxy C₁ až C₄, amino nebo aminoskupina substituovaná alkylem C₁ až C₄, arylem C₆ až C₁₂, aralkylem C₇ až C₁₄, a R² vodík, halogen nebo alkyl C₁ až C₄, nebo B znamená skupinu obecného vzorce III



(III),

10

kde R² má stejný význam jako ve vzorci II, R³ je kyslík nebo síra, nebo B znamená 5-aza, 6-aza nebo 3-deaza deriváty skupin obecného vzorce II a III, nebo B znamená substituovaný purin-9-ylový, nebo purin-7-ylový zbytek purinové heterocyklické báze obecného vzorce IV



15

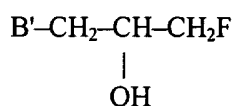
(IV),

20 kde R⁴ a R⁵ jsou vodík, amino, hydrazino, hydroxylamino, azido, amino skupina substituovaná alkylem C₁ až C₄, arylem C₆ až C₁₂, aralkylem C₇ až C₁₄, hydroxy, alkoxy C₁ až C₄, merkpto, alkylmerkpto C₁ až C₄, halogen nebo alkylskupina s krátkým C₁–C₄ řetězcem, R⁶ vodík, hydroxy, alkoxy C₁ až C₄, merkpto, alkylthio C₁ až C₄, amino, aminoskupina substituovaná alkylem C₁ až C₄, arylem C₆ až C₁₂, aralkylem C₇ až C₁₄, nebo halogen, X, Y a Z jsou –N= nebo CH= skupina a absolutní konfigurace na uhlíkovém atomu C2 je S, R nebo RS, a jejich soli s alkalickými kovy, amoniakem a aminy.

25

Dále je předmětem vynálezu způsob výroby látek obecného vzorce I, který spočívá v tom, že se N-(3-fluor-2-hydroxypropyl) deriváty pyrimidinových a purinových heterocyklických bází obecného vzorce V

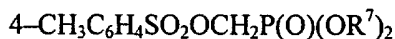
30



(V),

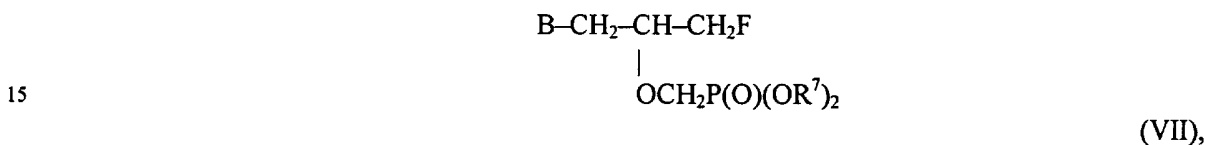
35 kde zbytek B' má tentýž význam jako ve vzorci I, případně zahrnuje jeho deriváty, substituované chránícími O-alkylskupinami nebo na aminoskupinách chránící N-acyl, N-dialkylamino-

methylenkupinou, uvedou do reakce s dialkylestery kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové obecného vzorce VI



5 (VI),

kde R^7 je alkylový (C1–C3), s výhodou 2-propylový zbytek, v přítomnosti 1–5 molárních ekvivalentů (vztaženo na látky obecného vzorce V) hydridu sodného v dipolárním aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dimethylformamidu, a to při teplotách $-30\text{ }^\circ\text{C}$ až $100\text{ }^\circ\text{C}$, po odpaření rozpouštědla se chránicí skupina na heterocyklické bázi odstraní methanolýzou nebo kyselinou hydrolyzou, a látky obecného vzorce VII



kde B má stejný význam jako ve vzorci I a R^7 stejný význam jako ve vzorci VI, izolované nebo deionizované se při teplotě místnosti uvedou do reakce s bromtrimethylsilanem v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v acetonitrilu, po odpaření se na směs působí vodou nebo roztoky pufru, a látky obecného vzorce I se izolují s výhodou ionoxovou chromatografií jako volné kyseliny, nebo soli s alkalickými kovy, amoniakem a aminy.

20

Dále je předmětem vynálezu způsob výroby látky vzorce I, kde B je hydroxanthin-9-yl, spočívající v tom, že se látky vzorce I, kde B je adenin-9-yl, uvede do reakce s 3-methylbutylnitritem v 50–80% vodné kyselině octové nebo s vodným roztokem dusitanu sodného v přítomnosti ekvimolárního množství kyseliny octové při teplotě místnosti.

25

Dále je předmětem vynálezu způsob výroby látky vzorce I, kde B je xanthin-9-yl, spočívající v tom, že se látka vzorce I, kde B je guanin-9-yl, uvede do reakce s 3-methylbutylnitritem v 50–80% vodné kyselině octové nebo s vodným roztokem dusitanu sodného v přítomnosti ekvimolárního množství kyseliny octové při teplotě místnosti.

30

Dále je předmětem vynálezu způsob výroby látky vzorce I, kde B je 2,6-diaminoadenin, spočívající v tom, že se látka vzorce I, kde B je 2-amino-6-azidopurin, uvede do reakce s plynným vodíkem v přítomnosti katalyzátoru, s výhodou kovového palladia, vyredukovaného na anorganickém nosiči, a to ve vodě nebo ve zředěných vodných roztocích organických či minerálních kyselin.

35

Dále je předmětem vynálezu použití látek obecného vzorce I pro výrobu léčiva pro potlačení multiplikace virů, zejména retrovirů.

40

Pro přípravu látek obecného vzorce I je výhodný postup podle vynálezu, který je založen na zavedení fosfonomethylové skupiny ve volnou hydroxylovou skupinu N-(3-fluor-2-hydroxypropyl)derivátů heterocyklických bází obecného vzorce V. Tyto látky jsou dobře dostupné např. alkylací heterocyklických bází fluormethyloxiranem. Aby byly vyloučeny vedlejší reakce při zavádění fosfororganického synthonu, je výhodné u těchto látek vzorce V, které obsahují bazickou aminoskupinu (např. cytosin, adenin, guanin apod.) tuto funkci chránit vhodnou chránicí skupinou, např. aroylací (benzoylací), především na amidinovou funkci apod. (A. Holý, I. Rosenberg, H. Dvořáková, Collect. Czech. Chem. Commun. 54, 2470 (1989)). K tomu účelu je možné užít např. postup, vypracovaný pro specifickou N-benzoylaci (G.S.Ti, B.L. Gaffney, R. A. Jones, J. Am. Chem. Soc. 104, 1316 (1982)).

45

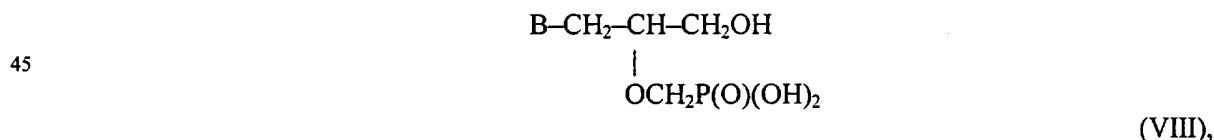
50

Připravené chráněné deriváty obecného vzorce V se pak kondenzují s činidlem obecného vzorce VI v přítomnosti hydridu sodného, a to nejvýhodněji v dimethylformamidu. Reakce probíhá nejlépe při použití 3 až 3,5 molárních ekvivalentů hydridu, vztaženo na látku vzorce V. Alkylační činidlo obecného vzorce VI je odvozeno na dříve popsaném principu (A. Holý, I. Resenberg: Collect. Czech. Chem. Commun. 47, 3447 (1982); A.F. Kluge, Org. Syn. 64, 80 (1985)); esterově vázaná skupina může být alkyl nebo aralkyl. Protože však se za uvedených reakčních podmínek látky vzorce VI mohou (podobně jako neutrální estery fosforečných a fosfonových kyselin) chovat jako alkylační činidla, je nejvýhodnější užívat estery s nízkou alkylační schopností, jako jsou např. 2,2-dimethylpropyl nebo 2-propylester, snadno dostupný např. podle následujícího postupu: ke směsi 96 g di(2-propyl)fosfátu a 23 g paraformaldehydu se za míchání přidá 8,4 ml triethylaminu a směs se zahřívá pod zpětným chladičem s chlorkalciovým uzávěrem při 100 °C do úplného rozpuštění paraformaldehydu a ještě 1 h navíc. K tomu se po ochlazení přidá 500 ml acetonitrilu, 121,5 g p-toluensulfonylchloridu a za míchání 90 ml triethylaminu a 1 g 4-dimethylaminopyridinu. Směs se míchá 24 h, ochladí ledem a přidá se postupně 400 ml 0,4 M triethylamoniumhydrogenkarbonátu. Míchá se 24 h, ve vakuu se odpaří acetonitril při teplotě max. 40 °C a směs se extrahuje etherem (3 x 200 ml). Etherový extrakt se suší síranem sodným, filtruje, odpaří ve vakuu a zbytek v 200 ml benzenu se filtruje přes sloupec silikagelu (500 ml) v benzenu. Sloupec se vymývá benzenem do odstranění nečistot s vyšší R_F (TLC v chloroformu na destičkách silikagelu) a produkt se vymyje ethylacetátem. Po odpaření rozpouštědla ve vakuu se zbylý olej míchá s 300 ml petroletheru ve vakuu. Získá se 140 g di(2-propyl)esteru kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové, t.t. 37,5 °C. Pro $C_{14}H_{23}PO_6S$ (350,4) vypočteno 47,98 % C, 6,61 % H, 8,86 % P, 9,15 % S; nalezeno 48,15 % C, 6,80 % H, 9,02 % P, 9,25 % S.

Reakce látek VI s anionty látek V probíhá dobře při nízké teplotě (-10 °C až 0 °C), ale může být provedena i při teplotě zvýšené. Ke zpracování reakční směsi se doporučuje nejprve odstranit chránicí skupinu z heterocyklické báze, pokud je použita, a izolovat diestery obecného vzorce VII buď chromatografií na silikagelu nebo na ionexu. Di(2-propyl)estery jsou za podmínek deionizace stále i ve zředěném vodném amoniaku. Po vysušení se látky vzorce VII podrobí reakci s bromtrimethylsilanem nebo jodtrimethylsilanem v dimethylformamidu, chlorovaných uhlovodících nebo s výhodou v acetonitrilu. Tato reakce probíhá vesměs hladce při teplotě místnosti. Po odpaření směsi a kódestilaci zbytku s vodou se surové látky obecného vzorce I čistí nejnázne ionexovou chromatografií a uchovávají se s výhodou jako ve vodě dobře rozpustné a stále alkalické soli.

Látky obecného vzorce I obsahují na postranním řetězci v poloze 2 asymetrický uhlíkový atom. Uvedený způsob přípravy je zcela identický pro oba enantiomery (R- a S-) i pro racemický derivát a závisí na charakteru použité výchozí látky obecného vzorce V.

Účinek látek vzorce I je dokumentován v tabulce 1. Vyhraněný účinek proti retrovirům je neočekávaný, protože všechny dosavadní modifikace hydroxymethylové skupiny v HPMP-derivátech obecného vzorce VIII



kde B má stejný význam jako ve vzorci I

a všechny substituce PME-derivátů obecného vzorce IX



(IX),

kde B má stejný význam jako ve vzorci I

5 jakýmkoliv substituentem jiným než hydroxymethylovou skupinou vesměs vedly k látkám bez jakéhokoliv protivirového účinku. Náhradou hydroxymethylskupiny v látkách obecného vzorce VIII atomem fluoru dochází tak nejen k nečekanému zachování protivirového účinku, ale současně k jeho zásadní kvalitativní změně na selektivní účinek protiretrovirový, který neodpovídá účinkům látek obecného vzorce VIII ani IX.

10

Výhodou látek obecného vzorce I ve srovnání s analogickými látkami obecného vzorce IX je zlepšený index selektivity (poměr střední minimální protivirové koncentrace k střední cytotoxické koncentraci), který je důležitým ukazatelem při vývoji potenciálních léčiv proti virovým onemocněním.

15

V následujícím jsou látky obecného vzorce I a jejich příprava charakterizovány v příkladech, aniž se tím jakkoli omezují, a jejich protivirový účinek je doložen údaji, uvedenými v tabulkách 1 a 2, které jsou součástí této přihlášky vynálezu.

20

Příklad 1

K suspenzi 6 g 9-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)adeninu ve 160 ml pyridinu se přidá 24 ml
 25 chlortrimethylsilanu, směs se míchá 1 h při teplotě místnosti, přidá se 18,5 ml benzoylchloridu a míchá se 2 h při teplotě místnosti. Pak se ochladí ledem, přikape 30 ml ledové vody, následovaně 66 ml konc. vodného amoniaku a míchá se 30 min za chlazení ledem. Odpaří se ve vakuu a zbytek krystaluje z vody. Odsaje se, promyje vodou, acetonem, etherem a suší ve vakuu nad oxidem fosforečným při 15 Pa. Získá se 7,5 g (84 %) 9-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)-N⁶-benzoyladeninu, t.t. 197 °C, R_F-0,35 (TLC, Silofol UV₂₅₄, chloroform-methanol, 9:1).
 30 Pro C₁₅H₁₄FN₅O₃ (331,3) vypočteno 54,38 % C, 4,26 % H, 5,73 % F, 21,14 % N; nalezeno 54,62 % C, 4,46 % H, 6,04 % F, 23,67 % N. ¹³C-NMR Spektru : 45,91 d, CH₂N, ³J_{CF} = 8,0; 67,51 d, CH(OH), ²J_{CF} = 19,2; 85,08 d, CH₂F, ¹J_{CF} = 169,1.

Tento produkt se kódestiluje dimethylformamidem (2x25 ml) při 40 °C/15 Pa, rozpustí v 80 ml
 35 dimethylformamidu, ochladí na 0 °C, přidá se 2,8 g 60% disperze hydridu sodného v parafinu a míchá se 30 min. Pak se přidá roztok 9,1 g di(2-propyl)esteru kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové v 20 ml dimethylformamidu a míchá se 16 h při 80 °C za vyloučení přístupu vlhkosti. Odpaří se při 40 °C/15 Pa, zbytek kódestiluje za týchž podmínek toluenem (2x25 ml) a přidá se 200 ml 0,1 M methoxidu sodného v methanolu. Směs se ponechá stát 20 h při teplotě
 40 místnosti, neutralizuje se přidáním katexu v H⁺ - formě (např. Dowexu 50), alkalizuje zpět přidáním triethylaminu, zfiltruje, promyje methanolem (200 ml) a filtrát se odpaří ve vakuu. Zbytek se v 50 ml vody vnese na sloupec téhož ionexu (200 ml), promývá se 20% vodným methanolem a detekuje se UV-absorpce eluátu při 254 nm. Po poklesu UV-absorpce na původní hodnotu se sloupec vymyje 1 l zředěného (1:10) vodného roztoku amoniaku (výsledná
 45 koncentrace 2–2,5 % váhových) a eluát se odpaří ve vakuu. Odparek se kódestiluje ethanolem (2x50 ml) a suší při 15 Pa nad oxidem fosforečným 24 h. K odparku se přidá 150 ml acetonitrilu a 15 ml bromtrimethylsilanu, roztok se ponechá stát 24 h při teplotě místnosti a odpaří ve vakuu. Ke zbytku se přidá 100 ml vody, po 30 min se neutralizuje konc. vodným amoniakem a odpaří ve
 50 vakuu. Zbytek se vnese v 50 ml vody na sloupec katexu v H⁺ - formě (např. Dowexu 50) (200 ml) a opakuje se předchozí postup deionizace. Amoniakální eluát se odpaří a zbytek v 50 ml vody vnese na sloupec 200 ml středně bazického anexu (např. Dowexu 1x2). Sloupec se promyje vodou (400 ml) a potom se promývá postupně 0,5 M kyselinou octovou (1 l) a 1 M kyselinou octovou; průběh eluce se sleduje měřením UV-absorpce eluátu při 254 nm. Produkt se získá z eluátu 1 M kyselinou octovou, odpaří se ve vakuu a ze zbytku se kyselina octová odstraní

kodestilací vodou. Produkt se rozpustí ve vroucí vodě (100 ml), filtruje za horka, zahustí ve vakuu na objem cca 20 ml a přidá se 100 ml ethanolu a 100 ml etheru. Ponechá se stát v lednici 24 h, odsaje, promyje etherem a suší ve vakuu. Získá se 2,5 g 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonyl-methoxypropyl)adeninu, t.t. 265 °C. Pro C₉H₁₃FN₅O₄P (305,3) vypočteno 35,40 % C, 4,29 % H, 6,22 % F, 22,95 % N, 10,17 % P; nalezeno 35,69 % C, 4,57 % H, 7,25 % F, 22,84 % N, 9,71 % P. ¹³C-NMR Spektrum: 43,12 d, CH₂N, ³J_{CF} = 6,8; 77,47 dd, CH, ²J_{CF} = 19,0, ³J_{PC} = 11,0; 82,32 d, CH₂F, ¹J_{CF} = 167,3; 68,37 d, CH₂p, ¹J_{PC} = 149,8. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5: 0,88.

10

Příklad 2

K suspenzi 5,9 g 1-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)cytosinu ve 180 ml pyridinu se přidá 27 ml chlortrimethylsilanu a směs se dále zpracuje podle příkladu 1. Získá se 10 g 1-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)-N⁴-benzoylcytosinu, t.t. 205 °C. R_F = 0,42 (TLC, Silufol UV₂₅₄, chloroform-methanol, 9:1). Pro C₁₄H₁₄FN₃O₂ (291,3) vypočteno 57,72 % C, 4,84 % H, 6,52 % F, 14,43 % N; nalezeno 58,29 % C, 4,63 % H, 6,32 % F, 14,19 % N. ¹³C-NMR Spektrum: 45,91 d, CH₂N, ³J_{CF} = 8,0; 67,51 d, CH(OH), ²J_{CF} = 19,2; 85,08 d, CH₂F, ¹J_{CF} = 169,1.

20

Tento produkt se kodestiluje dimethylformamidem (2x25 ml) při 40 °C/15 Pa, rozpustí ve 100 ml dimethylformamidu, ochladí na 0 °C, přidá se 3,8 g 60% disperze hydridu sodného v parafínu a míchá se 30 min. Pak se přidá roztok 11,6 g di(2-propyl)esteru kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové v 20 ml dimethylformamidu a míchá se 16 h při 80 °C za vyloučení přístupu vlhkosti. Další zpracování směsi, reakce dionizovaného meziproductu s brombrimethylsilanem a následující zpracování a deinizace se provedou podle příkladu 1. Amoniakální eluát se odpaří a zbytek v 50 ml vody vnese na sloupec 200 ml středně bazického anexu (např. Dowexu 1x2). Sloupec se promyje vodou (400 ml) a potom se promývá 0,5 M kyselinou octovou; průběh eluce se sleduje měřením UV-absorpce eluátu při 254 nm. UV-Absorbující eluát se odpaří ve vakuu a ze zbytku se kyselina octová odstraní kodestilací vodou. Produkt se čistí preparativní kapalinovou chromatografií na sloupci 300 ml C18-silikagelu ve vodě. Produkt se rozpustí ve vroucí vodě (100 ml), filtruje za horka, zahustí ve vakuu na objem ca 20 ml a přidá se 100 ml ethanolu a 100 ml etheru. Ponechá se stát v lednici 24 h, odsaje, promyje etherem a suší ve vakuu. Získá se 2,0 g 1-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)cytosinu, t.t. 219 °C. Pro C₈H₁₃FN₃O₅P (281,3) vypočteno 34,16 % C, 4,66 % H, 6,76 % F, 14,94 % N, 11,04 % P; nalezeno 34,63 % C, 5,00 % H, 6,70 % F, 15,47 % N, 11,15 % P. ¹³C-NMR Spektrum: 49,42 d, CH₂N, ³J_{CF} = 7,1; 78,04 dd, CH, ²J_{CF} = 18,5 ³J_{PC} = 11,4; 82,78 d, CH₂F, ¹J_{CF} = 167,2; 67,70 d, CH₂ ¹J_{PC} = 153,9. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5: 0,95.

40

Příklad 3

K suspenzi 4,7 g 9-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)guaninu v 120 ml pyridinu se přidá 17 ml chlortrimethylsilanu a po 1 h míchání 13 ml benzoylchloridu. Po 2 h se směs rozloží při 0 °C 20 ml vody a 45 ml konc. vodného amoniaku a zpracuje podle příkladu 1. Získá se 7,2 g 9-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)-N²-benzoylguaninu, t.t. 178 °C. R_F = 0,20 (TLC, Silufol UV₂₅₄, chloroform-methanol, 9:1). Pro C₁₅H₁₄FN₅O₃ (331,3) vypočteno 54,38 % C, 4,26 % H, 5,73 % F, 21,14 % N; nalezeno 54,82 % C, 5,07 % H, 5,71 % F, 21,29 % N. ¹³C-NMR Spektrum: 45,73 d, CH₂N ³J_{CF} = 7,1; 67,54 d, CH(OH), ²J_{CF} = 19,5; 85,04 d, CH₂F, ¹J_{CF} = 168,5.

50

Tento produkt se kodestiluje dimethylformamidem (2 x 25 ml) při 40 °C/15 Pa, rozpustí v 80 ml dimethylformamidu, ochladí na -20 °C, přidá se 2,4 g 60% disperze hydridu sodného v parafínu a roztok 7,7 g di(2-propyl)esteru kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové v 20 ml dimethylformamidu a míchá se 16 h při 70 °C za vyloučení přístupu vlhkosti. Další zpracování směsi, reakce deionizovaného meziproductu s bromtrimethylsilanem a následující zpracování a

deionizace se provedou podle příkladu 1. Amoniakální eluát se odpaří a zbytek v 50 ml vody vnese na sloupec 120 ml středně bazického anexu (např. Dowexu 1X2). Sloupec se promyje vodou (400 ml) a potom se promývá 0,5 M kyselinou octovou; průběh eluce se sleduje měřením UV-absorpce eluátu při 254 nm. UV-Absorbující eluát se odpaří ve vakuu a ze zbytku se kyselina octová odstraní kódestilací vodou. Produkt se krystaluje z vody. Získá se 2,3 g 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)guaninu, netaje do 300 °C. Pro C₉H₁₃FN₅O₅P (321,1) vypočteno 33,64 % C, 4,08 % H, 5,91 % F, 21,80 % N, 9,66 % P; nalezeno 34,00 % C, 3,75 % H, 5,60 % F, 21,87 % N, 10,20 % P. ¹³C-NMR Spektrum: 42,22 d, CH₂N, ³J_{CF} = 8,3; 77,52 dd, CH, ²J_{CF} = 19,0, ³J_{PC} = 11,3; 82,05 d, CH₂F, ¹J_{CF} = 166,8; 67,96 d, CH₂P, ¹J_{PC} = 150,1. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5: 0,92.

Příklad 4

K suspenzi 4,7 g 9-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)-2-amino-6-azidopurinu v 60 ml pyridinu se přidá 8,5 ml chlortrimethylsilanu a po 1 h míchání 6,5 ml benzoylchloridu. Po 2 h se směs rozloží při 0 °C 10 ml vody a 24 ml konc. vodného amoniaku a zpracuje podle příkladu 1. Získá se 3,6 g 9-(RS)-(3-fluor-2-hydroxypropyl)-2-benzoylamino-6-azidopurinu, t.t. 198 °C. R_F = 0,30 (TLC, Silufol UV₂₅₄, chloroform-methanol, 9:1). Pro C₁₅H₁₃FN₈O₂ (356,3) vypočteno 50,56 % C, 3,68 % H, 5,33 % F, 31,45 % N; nalezeno 50,42 % C, 4,08 % H, 5,32 % F, 31,25 % N.

Tento produkt se kódestiluje dimethylformamidem (2x25 ml) při 40 °C/15 Pa, rozpustí v 40 ml dimethylformamidu, ochladí na -20 °C, přidá se 1,1 g 60% disperze hydridu sodného v parafínu a roztok 3,8 g di(2-propyl)esteru kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové v 10 ml dimethylformamidu a míchá se 16 h při teplotě místnosti a za vyloučení přístupu vlhkosti. Další zpracování směsi, reakce deionizovaného meziproductu s bromtrimethylsilanem (80 ml acetonitrilu a 8 ml bromtrimethylsilanu), následující zpracování a deionizace se provedou podle příkladu 1. Sloupec katexu se eluuje vodou. Po vymytí solí se produkt eluuje se značnou retencí. Frakce obsahující produkt se odpaří ve vakuu a odparek se krystaluje z vody. Získá se 2,4 g 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)-2-amino-6-azidopurinu, netaje do 260 °C. Pro C₉H₁₂FN₈O₄P (346,3) vypočteno 31,21 % C, 3,49 % H, 5,49 % F, 32,36 % N, 8,96 % P; nalezeno 31,56 % C, 3,70 % H, 5,62 % F, 32,56 % N, 9,21 % P. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5 : 0,92.

Příklad 5

K suspenzi 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)-3-deazaadeninu (9 mmol) v 50 ml pyridinu se přidá 7 ml chlortrimethylsilanu a po 1 h 5,5 ml benzoylchloridu. Po dalších 2 h se směs rozloží při 0 °C postupně přidáním 7 ml vody a 18 ml konc. vodného amoniaku a po 30 min při 0 °C se odpaří ve vakuu a kódestiluje ethanolom. Zbytek se chromatografuje na sloupci 200 ml silikagelu v chloroformu, produkt se získá elucí směsí chloroform-methanol (95:5). Odpařením ve vakuu se získá 1,60 g 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)-N⁶-benzoyl-3-deazaadeninu (amorfní pěna) R_F = 0,12 (TLC, Silufol UV₂₅₄, chloroform-methanol, 9:1).

K tomuto produktu se přidá roztok 2 g di(2-propyl)esteru kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové v 10 ml dimethylformamidu, ochladí se na -15 °C a přidá se 600 mg 60% disperze hydridu sodného v parafínu. Směs se míchá 16 h při teplotě místnosti a za vyloučení přístupu vlhkosti. Další zpracování směsi, reakce deionizovaného meziproductu s bromtrimethylsilanem (50 ml acetonitrilu a 5 ml bromtrimethylsilanu), následující zpracování a deionizace se provedou podle příkladu 1. Sloupec katexu se eluuje vodou. Po vymytí solí se produkt eluuje zředěným vodným amoniakem. Frakce obsahující produkt se odpaří ve vakuu a odparek se čistí

preparativní chromatografií na C18-silikagelu (eluze vodou). Získá se 0,50 g 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)-2-amino-6-azidopurinu, netaje do 260 °C. Pro C₁₀H₁₄FN₄O₄P (304,3) vypočteno 39,47 % C, 4,64 % H, 6,24 % F, 18,42 % N, 10,20 % P; nalezeno 39,80 % C, 4,67 % H, 6,38 % F, 18,67 % N, 10,50 % P. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5 : 0,78.

Příklad 6

K suspenzi 200 mg 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)adeninu v 20 ml 80% vodné kyseliny octové se přidá 2 ml 3-methylbutylnitritu a směs se ponechá stát při teplotě místnosti 24 h. Odpaří se ve vakuu, zbytek se kódestiluje vodou (4x20 ml) a vnese na sloupec 150 ml katexu v H⁺-formě (např. Dowexu 50). Sloupec se eluje vodou a průběh eluce se sleduje měřením UV-absorpce eluátu při 254 nm. UV-Absorbující eluát produktu se odpaří ve vakuu, zbytek se kódestiluje ethanolem (2x25 ml) a odsaje s etherem. Získá se 100 g 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)hypoxanthinu, netaje do 260 °C. Pro C₉H₁₂FN₄O₅P (306,3) vypočteno 35,29 % C, 3,95 % H, 6,20 % F, 18,30 % N, 10,13 % P; nalezeno 35,15 % C, 4,12 % H, 6,43 % F, 18,70 % N, 9,87 % P. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5 : 0,83.

Příklad 7

Suspenze 200 mg 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)guaninu ve směsi 20 ml 80% vodné kyseliny octové a 2 ml 3-methylbutylnitritu se ponechá stát 24 h při teplotě místnosti a dále zpracuje podle příkladu 5. Získá se 100 mg 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)xanthinu, netaje do 260 °C. Pro C₉H₁₂FN₄O₆P (322,3) vypočteno 33,54 % C, 3,75 % H, 5,90 % F, 17,39 % N, 9,63 % P; nalezeno 33,65 % C, 3,90 % H, 5,77 % F, 17,56 % N, 9,40 % P. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5 : 0,78.

Příklad 8

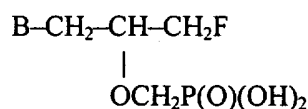
K suspenzi 200 mg 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)-2-amino-6-azidopurinu v 50 ml 80% kyseliny octové se přidá 200 mg 10% Pd/C katalyzátoru (palladium na aktivním uhlí) a směs se míchá v atmosféře vodíku při atmosférickém tlaku 24 h. Zfiltruje se, promyje vodou, filtrát se odpaří ve vakuu a zbytek kódestiluje vodou (3 x 20 ml). Surový produkt se čistí chromatografií na sloupci C18 silikagelu ve vodě a produkt se po odpaření rozpustí v horké vodě, přidá se pětinasobný objem ethanolu a ether do vzniku zákalu. Po krystalizaci v lednici se produkt odsaje, promyje etherem a suší ve vakuu. Získá se 100 g 9-(RS)-(3-fluor-2-phosphonylmethoxypropyl)-2,6-diaminopurinu. Netaje do 260 °C. Pro C₉H₁₄FN₆O₄P (320,3) vypočteno 33,75 % C, 4,41 % H, 5,93 % F, 26,24 % N, 9,69 % P; nalezeno 33,65 % C, 3,95 % H, 5,79 % F, 26,56 % N, 9,42 % P. Elektroforetická pohyblivost (vztaž. na uridin-3'-fosfát) při pH 7,5 : 0,70.

PATENTOVÉ NÁROKY

5

1. N-(3-Fluor-2-fosfonylmetoxypropyl)deriváty purinových a pyrimidinových heterocyklických bází obecného vzorce I

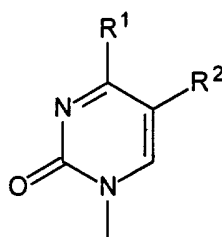
10



(I),

15

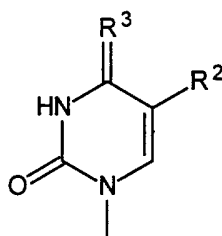
kde B je substituovaný pyrimidin -1-ylový zbytek pyrimidinové heterocyklické báze obecného vzorce II



(II),

20

kde R¹ je vodík, hydroxylamino, hydrazino, alkoxy C₁ až C₄, amino nebo aminoskupina substituovaná alkylem C₁ až C₄, arylem C₆ až C₁₂, aralkylem C₇ až C₁₄, a R² vodík, halogen nebo alkyl C₁ až C₄, nebo B znamená skupinu obecného vzorce III

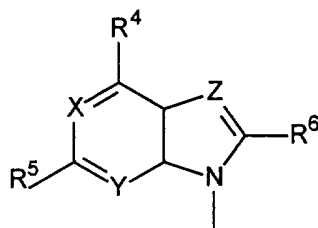


25

(III),

kde R² má stejný význam jako ve vzorci II, R³ je kyslík nebo síra, nebo B znamená 5-aza, 6-aza nebo 3-deaza deriváty skupin obecného vzorce II a III, nebo B znamená substituovaný purin-9-ylový, nebo purin-7-ylový zbytek purinové heterocyklické báze obecného vzorce IV

30



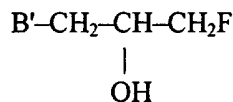
(IV),

35

kde R⁴ i R⁵ jsou vodík, amino, hydrazino, hydroxylamino, azido, amino skupina substituovaná alkylem C₁ až C₄, arylem C₆ až C₁₂, aralkylem C₇ až C₁₄, hydroxy, alkoxy C₁ až C₄, merkapto,

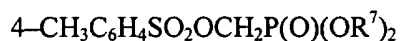
alkylmerkpto C₁ až C₄, halogen nebo alkylskupina s krátkým C₁ – C₄ řetězcem, R⁶ vodík, hydroxy, alkoxy C₁ až C₄, merkpto, alkylthio C₁ až C₄, amino, aminoskupina substituovaná alkylem C₁ až C₄, arylem C₆ až C₁₂ aralkylem C₇ až C₁₄, nebo halogen, X, Y a Z jsou –N= nebo CH= skupina a absolutní konfigurace na uhlíkovém atomu C2 je S, R nebo RS, a jejich soli s alkalickými kovy, amoniakem a aminy.

2. Způsob výroby N-(3-fluor-2-fosfonylmetoxypropyl) derivátů purinových a pyrimidinových heterocyklických bází obecného vzorce I podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m**, že se N-(3-fluor-2-hydroxypropyl) deriváty pyrimidinových a purinových heterocyklických bází obecného vzorce V



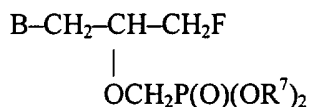
(V),

kde zbytek B' má tentýž význam jako B v nároku 1, případně zahrnuje jeho deriváty substituované chránicemi O-alkylskupinami nebo na aminoskupinách chránicí N-acyl, N-dialkylaminomethylskupinou, uvedou do reakce s dialkylestery kyseliny p-toluensulfonyloxymethylfosfonové obecného vzorce VI



(VI),

kde R⁷ je alkylový C₁ – C₃, s výhodou 2-propylový zbytek, v přítomnosti 1 až 5 molárních ekvivalentů, vztaženo na látky obecného vzorce V, hydridu sodného v dipolárním aprotickém rozpouštědle, s výhodou v dimethylformamidu, a to při teplotách -30 °C až +100 °C, po odpaření rozpouštědla se chránicí skupina na heterocyklické bázi odstraní methanolýzou nebo kyselou hydrolyzou, a látky obecného vzorce VII



(VII),

kde B má stejný význam jako ve vzorci I a R⁷ stejný význam jako ve vzorci VI, izolované nebo deionizované se při teplotě místnosti uvedou do reakce s bromtrimethylsilanem v aprotickém rozpouštědle, s výhodou v acetonitrilu, po odpaření se na směs působí vodou nebo roztoky těkavého pufru a látky obecného vzorce I se izolují s výhodou ionexovou chromatografií jako volné kyseliny, nebo soli s alkalickými kovy, amoniakem a aminy.

3. Způsob výroby sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, kde B je hypoxanthin-9-yl, **v y z n a ě n ý t í m**, že se látka vzorce I, kde B je adenin-9-yl, uvede do reakce s 3-methylbutylnitritem v 50 až 80% vodné kyselině octové nebo s vodným roztokem dusitanu sodného v přítomnosti ekvimolárního množství kyseliny octové při teplotě místnosti.

4. Způsob výroby sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, kde B je xanthin-9-yl, **v y z n a ě n ý t í m**, že se látka vzorce I, kde B je guanin-9-yl, uvede do reakce s 3-methylbutylnitritem v 50 až 80% vodné kyselině octové nebo s vodným roztokem dusitanu sodného v přítomnosti ekvimolárního množství kyseliny octové při teplotě místnosti.

5. Způsob výroby sloučeniny obecného vzorce I podle nároku 1, kde B je 2,6-diaminoadenin, **v y z n a ě n ý t í m**, že se látka vzorce I, kde B je 2-amino-6-azidopurin uvede do reakce s plynným vodíkem v přítomnosti katalyzátoru, s výhodou kovového palladia, vyredukovaného na anorganickém nosiči, a to ve vodě nebo ve zředěných vodných roztocích organických či minerálních kyselin.

5

6. Použití látek obecného vzorce I podle nároku 1 pro výrobu léčiva pro potlačení multiplikace virů, zejména retrovirů.

10

Konec dokumentu

15