

(19)



REPUBLIKA SLOVENIJA
Urad RS za intelektualno lastnino

(10) **SI 8211200 A8**

(12)

PRENEŠENI PATENT

(21) Številka prijave: **8211200**

(51) MPK⁶: **C07D 473/18 , A61K 31/52**

(22) Datum prijave: **04.06.1982**

(60) Patent pri ZZZP: **YU 1200/82, 04.06.1982 (31.08.1982)**
YU 40079

(45) Datum objave: **31.10.1996**

(30) Prednost: **02.09.1974 GB 38278/74**

(61) Številka prvotne prijave: **7512220**

(72) Izumitelj: **SCHAEFFER HOWARD JOHN, Richmond, Virginia, US**

(73) Nosilec: **THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, 183-193 Euston Road, London NW1 2BP, GB**

(74) Zastopnik: **PATENTNA PISARNA D.O.O., Čopova 14 p.p. 322, 1000 Ljubljana, SI**

(54) **POSTOPEK ZA PRIDOBIVANJE 9-(2-HIDROKSI-ETOKSIMETIL)GVANINSKIH DERIVATOV PURINA**

SI 8211200 A8

(51) Int. Cl. C 07D 473/32
A 61K 31/52

(19)



SFR JUGOSLAVIJA
SAVEZNI ZAVOD ZA PATENTE
BEOGRAD

(12)

Patentni spis c3

(11)

40079

(21) Broj prijave: 1200/82
(22) Datum podnošenja prijave: 04.06.82.
(41) Datum od koga se prijava mogla razgledati: 04.06.82.
(43) Datum objavljivanja prijave: 31.08.82.
(45) Datum objavljivanja patenta: 30.06.85.
(30) Prioritet: GB; 02.09.74, 38278/74

(73) Nosilac patenta: THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, LONDON NW 1; GB

(72) Pronalazač: SCHAEFFER, H.J.

(61) Dopunski patent uz osnovni patent broj:

(62) Izdvojen patent iz prvobitne prijave broj:

2220/75

(74) Zastupnik: Rade Mikijelj, adv., Beograd

(54) Naziv: POSTUPAK ZA DOBIVANJE 9-(2-HIDROKSI-ETOKSIMETIL)GVANINSKIH DERIVATA PURINA

(51) Int. Cl. C 07D 473/32
A 61K 31/52

(57) Apstrakt:

Pronalazak se odnosi na postupak za dobivanje 9-(2-hidroksietoksimetil)gvanina, značajnog antiviralnog sredstva, posebno za lečenje herpesa, koji obuhvata aminolizu 2-hloro-9-(2-hidroksietoksimetil)hipoksantina.

YU

Oblast tehnike

Pronalazak se odnosi na postupak za dobivanje novih supstituisanih purinskih jedinjenja i njihovih farmaceutski prihvatljivih soli, a posebno na postupak za dobivanje 9-(2-hidroksietoksimetil) gvaninskih derivata purina čije su farmakološke, naročito antiviralne osobine istaknute.

Tehnički problem

Pronalaskom se rešava problem dobivanja novih 9-(2-hidroksietoksimetil)-derivata purina, amonolizom odgovarajuće odabranog derivata, kako bi se dobio proizvod željenog farmakološkog dejstva i izbegle negativne strane sličnih poznatih antiviralnih proizvoda.

Stanje tehnike

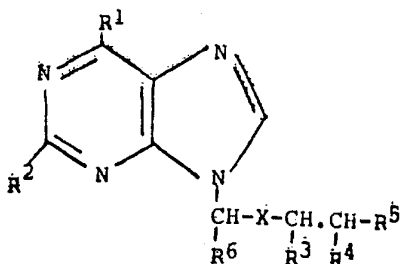
Godine 1971, Schaeffer, et al. (J. Med. Chem., 14, 367 (1971)) je izneo sintezu nekoliko purinskih acikličnih nukleozida u studiji o adenzin deaminazi enzim-substrat interakciji. Ovde je posebno obradjen 9-(2-hidroksietoksimetil)adenin i izmerena je njegova substratna aktivnost sa adenzin deaminazom.

Poznata antiviralna sredstva uključuju idoksuridin (Prusoff, Biochem Biophys Acta, 32 295 (1959)) i trifluridin, tj. 5-trifluorometil 2'-dioksaluridin (Kaufman i Heidelberger, Science, 145, 585 (1964)) i koriste se za površinsko tretiranje herpesnih infekcija kod oka. Isto tako je predložen ARA, tj. 9-beta-D-arabinofuranozil-adenin koji je takođe korišćen i za sistemsko tretiranje encefalitis herpesa. Ova antiviralna sredstva su međutim relativno neselektivna pri njihovom aktiviranjem delovanju, odnosno ne samo da uništavaju virus herpesa, već takođe i ćelije domaćina koje sadrže virus, što ustvari znači da su relativno toksična.

Opis rešenja tehničkog problema sa primerima izvodjenja

Sada su, postupkom prema pronalasku, obezbedjeni derivati purina koji su veoma selektivni u terapeutskom smislu, pri čemu uništavaju samo nepoželjne viruse a ne i ćelije domaćina.

Tako je utvrdjeno da supstituisani purini formule (I)



u kojoj je X kiseonik ili sumpor a R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 i R^6 su različiti supstituenti, imaju antiviralnu aktivnost protiv različitih klasa DNA i RNA virusa kako *in vitro* tako i kod *in vivo*

eksperimenata. Jedinjenja su naročito aktivna protiv citomegalovirusa, adenovirusa, naročito adenovirusa 5, rino virusa, Mengo virusa i Sindbis virusa. Naročito su aktivni protiv vaccinia-e i herpes virusa, uključujući simplex, zoster i varicella, kod sisara, koji prouzrokuju bolesti kao što su na primer herpetički keratitis kod zečeva i herpetički encefalitis kod miševa. Pored toga mogu se koristiti u lečenju infektivnog mononukleozeisa.

Prema pronalasku je obezbedjeno jedinjenje formule (I) u kome je X sumpor ili kiseonik, R^1 je vodonik, halogen, hidroksi, alkoksi, azid, tio, alkitio, amino, alkilamino ili dialkilamino; R^2 je vodonik, halogen, amino ili azid; R^3 je vodonik, ravan, račvast ili ciklični alkil, hidroksialkil, benziloksialkil ili fenil; R^4 je vodonik, hidroksi ili alkil; R^5 je vodonik, hidroksi, amino, alkil, hidroksialkil, benziloksi, benzilofoksi, benziloksialkil, sulfamoksil, fosfat, karboksipropioniloksi, acetoksi, ili supstituisana karbamoil grupa formule $NH.CO-Z$ gde je Z alkil, aril ili aralkil po potrebi supstituisan sa jednom ili više sulfonil, amino, karbamoil ili halogen grupom; R^6 je vodonik ili alkil, pod uslovom da kada je X kiseonik i R^2 , R^3 , R^4 i R^5 su vodonik, R^1 ne bude amino ili metilamino, kada je R^5 vodonik, hidroksi ili benziloksi; takođe pod uslovom da kada je R^2 vodonik, R^1 ne bude hlor; i pod uslovom da kada je X kiseonik, R^2 , R^3 , R^4 i R^5 su vodonik a R^6 metil, R^1 ne bude etilamino ili amino, ili njihove soli, naročito u obliku farmaceutski prihvatljivih soli.

Jedinjenja formule (I), u kojima je X sumpor ili kiseonik; R^1 je vodonik, halogen, hidroksi, alkoksi, azid, tio, alkitio, amino, alkilamino ili dialkilamino; R^2 vodonik, halogen, amino ili azid; R^3 je vodonik, ravan, račvast ili cikličan alkil, hidroksialkil, benziloksialkil ili fenil; R^4 je vodonik, hidroksi ili alkil; R^5 je vodonik, hidroksi, amino, alkil, hidroksialkil, benziloksi, benziloksimetil, benziloksi, sulfamoksil, fosfat, karboksipropioniloksi, acetoksi ili supstituisana karbamoil grupa formule $NH.CO-Z$ gde je Z alkil, aril ili aralkil po potrebi supstituisan sa jednom ili više sulfonil, amino, karbamoil, halogen; R^6 je vodonik, ili alkil grupa; kao i gore dati uslovi, ili njihove soli, naročito u obliku farmaceutski prihvatljivih soli, su poželjna jedinjenja.

Uz gore date uslove, naročito su poželjna jedinjenja gore definisane formule (I), u kojima je X kiseonik; R^1 je vodonik, halogen, hidroksi, alkoksi, tio, alkitio, amino, alkilamino, dialkilamino ili azid; R^2 je vodonik, halogen, amino ili azid; R^3 je vodonik, ravan ili račvast ili ciklični alkil, hidroksialkil ili fenil; R^4 je vodonik, ili hidroksi; R^5 je vodonik, hidroksi, benziloksi, hidroksialkil, amino, karboksipropioniloksi, acetoksi, benziloksi, benziloksimetil, fosfat, sulfamoksil, supstituisana karbamoil grupa formule $NH.CO-Z$ gde je Z alkil, aril ili aralkil po potrebi supstituisan sa jednom ili više sulfonil, amino, karbamoil grupama, halogenom; R^6 je vodonik, ili alkil, pod uslovom da je R^5 hidroksi samo kada je R^1 amino, hidroksi, alkilamino, alkitio, ili dialkilamino a R^2 je amino i R^6 je vodonik; R^3 je hidroksialkil samo kada je R^1 hidroksi; R^5 je vodonik samo kada je R^1 hidroksi ili halogen; kada je R^5 benziloksi R^2 nije halogen; R^5 je acetoksi samo kada su R^1 i R^3 oba amino ili oba halogen; R^6 je supstituisani karbamoil formule $NH.CO-Z$ gde je Z grupa $CH(NH_2)CH_2C_6H_5$ samo kada je R^1 dialkilamino; ili njihove

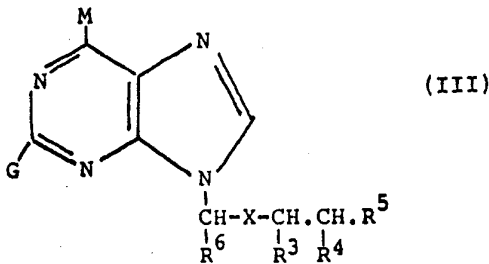
soli, naročito u obliku farmaceutski prihvatljivih soli.

Takodje je utvrđeno da su naročito visoko aktivna jedinjenja formule (I), prema gornjoj definiciji, u kojima je X kiseonik, R¹ halogen, amino, hidroksi ili alkililo; R₂ je amino; R⁵ je hidroksi, benziloksi, karboksipropioniloksi, acetoksi ili hidroksialkil i R³, R⁴ i R⁶ su vodonik, pod uslovom da je R⁵ hidroksialkil samo kada je R¹ hidroksi a R⁵ je acetoksi samo kada je R¹ amino. Jedinjenja u kojima je X sumpor, R¹ halogen, amino ili alkilamino i R², R³, R⁴, R⁵ i R⁶ su vodonik, imaju takodje veoma visoku aktivnost.

Poželjan halogenski supstituent je hlor. Ovde upotrebljen izraz alkil označava ovu grupu sa 1 do 12 atoma ugljenika, poželjno 1 do 8 atoma ugljenika.

Soli koje su posebno pogodne za terapijsku upotrebu su soli farmaceutski prihvatljivih organskih kiselina kao što su mlečna, sirćetna, maleinska, ili p-toluolsulfonska kiselina, kao i soli farmaceutski prihvatljivih mineralnih kiselina kao što su hlorovodonična ili sumporna kiselina.

Ovaj pronalazak obezbeđuje postupak za dobivanje supstituisanih purina formule (I) ili njihovih kiselinskih adicijonih soli, koji je naznačen time što se jedinjenje formule (III), u kojoj jedan ili oba od M i G predstavljaju vodonik ili halogen, ili amino, hidroksi, azido, aralkoksi, merkaptio ili hidrazin grupu



prevodi u jedinjenje formule (I), pa se potom, kada je proizvod baza, po potrebi jedinjenje formule (I) prevodi u svoju farmaceutski prihvatljivu kiselinsku adicijonu so, ili se, kada je proizvod so jedinjenja formule (I), ova so po potrebi prevodi u svoju bazu ili u drugu željenu so.

Konverzija jedinjenja formule (III) u jedinjenje formule (I) se izvodi tako što se jedna ili obe od grupa G i M prevode halogenizacijom u halogeni atom; u hidroksilnu grupu hidrolizom; u tio ili alkililo grupu sulfuracijom; u atom vodonika redukcijom ili desulfuracijom; ili obrazovanjem azida. Isto tako, konverzija se izvodi upotrebom enzima, na primer adenin deaminaze, pri čemu se 2,6-diamino jedinjenje efikasno prevodi u dvaniin R¹ = OH, R² = NH₂, u vodenoj suspenziji na oko 37°C i početnom pH od oko 7.0.

Pronalazak se posebno odnosi, kako je već pomenuto, na postupak za dobivanje 9-(2-hidroksietoksietil) gvanina, i obuhvata amonolizu 2-hloro-9-(2-hidroksietoksietil) hidrksantina sa sredstvom za aminolizu kao što je amonijak, u prisustvu rastvarača kao što je metanol, na povišenoj temperaturi, naročito na oko 125°C.

Prema daljem aspektu pronalaska obezbeđen je farmaceutski preparat koji sadrži jedinjenje formule (I), u kome X, R, R², R³, R⁴, R⁵ i R⁶ imaju gore data značenja, kada je R⁶ alkil grupa,

ona ima od 1 do 8 atoma ugljenika a u svim drugim slučajevima kada supstituenti imaju alkil jezgro, ono ima od 1 do 4 C-atoma; ili njegovu farmaceutski prihvatljivu so; zajedno sa farmaceutski prihvatljivim nosačem. U posebnom aspektu pronalaska, farmaceutski preparat obuhvata jedinjenje formule (I) u obliku efektivne jedinične doze.

Ovde upotrebljeni izraz "efektivno jedinično doziranje" ili "efektivna jedinična doza" označava prethodno određenu antiviralnu količinu dovoljnu da efikasno deluje protiv viralnih organizama *in vivo*. Farmaceutski prihvatljivi nosači su materijali koji se koriste za davanje lekova, i mogu biti čvrsti, tečni ili gasoviti materijali, koji su inertni i medicinski prihvatljivi i slažu se sa aktivnim sastojcima.

Ovi farmaceutski preparati se mogu davati parenteralno, oralno, kao supozitorije ili umetak za matericu, površinski u obliku masti, kremova, aerosoli, praškova, ili u obliku kapi za nos ili oči itd., u zavisnosti od toga da li se preparat koristi za lečenje unutrašnjih ili spoljašnjih virusnih infekcija.

Za unutrašnje infekcije preparati se daju oralno ili parenteralno u dozi, izračunato u odnosu na slobodnu bazu, od oko 0.1 do 250 mg na kg, poželjno 1.0 do 50 mg na kg, telesne težine osara, i kod ljudi se koristi u obliku jedinične doze, davani nekoliko puta dnevno u količini od 1 do 250 mg po jediničnoj dozi.

Za oralno davanje, fini praškovi ili granule mogu da sadrže sredstva za razblaživanje, disperigovanje i/ili površinski aktivna sredstva, i mogu biti u obliku napitka, u vodi ili u sirupu; u kapsulama ili kesicama u suvom obliku ili u obliku ne-vodenih rastvora ili suspenzija, pri čemu se mogu uključiti i sredstva za suspendovanje; u obliku tableta, gde se mogu uključiti vezivna sredstva i lubrikanti; ili u suspenziji u vodi ili sirupu. Kada je poželjno ili neophodno, mogu se uključiti sredstva za ukus, zaštitu, suspendovanje, zgušnjavanje ili emulgovanje.

Poželjni oblici su tablete i granule, i ove se mogu prevlačiti.

Za parenteralno davanje ili davanje u obliku kapi, kao što je za očne infekcije, jedinjenja se mogu prezentirati u obliku vodenih rastvora u koncentraciji od oko 0.1 do 10%, poželjno je 0.1 do 7%, najbolje od 0.2% t/v. Rastvor može da sadrži antioksidans, pufere i sl.

Alternativno se za infekciju očiju, ili za druga spoljašnja tkiva npr. usta i kožu, preparat poželjno nanose na inficirani deo tela pacijenta kao površinski krem ili mast. Preparat može biti u obliku masti, na primer sa masnom bazom koja se rastvara u vodi, ili kremu, npr. sa uljem u bazi voda-krem, u koncentraciji od oko 0.1 do 10%, poželjno 0.1 do 7%, najpoželjnije 1% t/v.

Od jedinjenja formule (I) 9-(2-hidroksietil)gvanin (R¹ = OH, R² = NH₂) i 2-amino-9-(2-hidroksietoksietil)-adenin su najpoželjnija, posebno zbog njihove vrlo visoke aktivnosti protiv herpes virusa. Pored toga, 2-amino-6-hlor-9-(2-benziloksietoksietil)purin, 9-(2-benziloksietoksietil)gvanin, 9-(2-hidroksipropoksietil)gvanin, 2-amino-6-metil-9-(2-hidroksietoksietil)purin, 9-(2-(3-karboksipropioniloksi)etoksietil)gvanin, 9-(2-acetoksietoksietil)-2,6-diamino purin, 6-hlor-9-etilometil purin, 9-etilometiladenin, 9-etilometil-6-metilamino-purin takodje pokazuju visoku aktivnost protiv herpes virusa i vaccinia-e.

Prima još jednom aspektu pronalaska obezbeđen je postupak za lečenje virusnih infekcija kod sisara koji obuhvata davanje efektivne antiviralne količine, kao što je ovde ranije definisana, supstituisanog purina formule (I), ili njegove farmaceutski prihvatljive soli. Davanje se poželjno izvodi površinskim nanošenjem ili oralnim ili parenteralnim putem.

Pronalazak će sada biti ilustrovan sledećim primerom.

Primer : 9-(2-Hidroksietoksimetil)gvanina I : $R^1 = OH$; $R^2 = NH_2$.

Čvrsti natrijum nitrit (0,97 g) je dodat na sobnoj temperaturi uz mešanje tokom 1 h u rastvoru 2-hlor-9-(2-hidroksietoksimetil)adenina (0,5 g) u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (10 ml). Reakciona smeša je mešana još tokom 4 1/2 h. Bela čvrsta supstanca je uklonjena filtracijom, isprana sa hladnom sirćetnom kiselinom i potom dobro triturisana sa hladnom vodom da bi se uklonio prisutan natrijum acetat. Čvrst proizvod je sačuvan. Spojeni filtrati sirćetne kiseline I od ispiranja su upareni na sniženom pritisku i na temperaturi kupatila od 40°C i zaostalo ulje je triturisano sa hladnom vodom. Dobljeni čvrsti materijal je spojen sa prethodno izolovanim čvrstim materijalom i spojena čvrsta supstanca je osušena i prekrstalisana iz etanola dajući 2-hlor-9-(2-hidroksietoksimetil)hipoksantin (0,25 g), t.t. 310°C. Elementarna analiza NMR spektar su u saglasnosti sa ovom strukturom.

Smeša 2-hlor-9-(2-hidroksietoksimetil)hipoksantina (0,375 g) i metanola (80 ml) zasićenog sa anhidrovanim amonijakom je zagrevana u bombi na 125°C tokom 5h. Bomba je ohladjena na ledenom kupatilu i reakciona smeša je uklonjena. Rastvarač i višak amonijaka su uklonjeni pod sniženim pritiskom na 50°C. Posle trituiranja ostatka sa hladnom vodom da bi se uklonio obrazovani amonijum hlorid, zaostali čvrsti deo je osušen a potom rekristalisan iz metanola dajući čist 9-(2-hidroksietoksimetil)gvanin (0,24 g), t.t. 256,5 - 257°C.

Dobivanje 9-(2-hidroksietoksimetil)gvanina

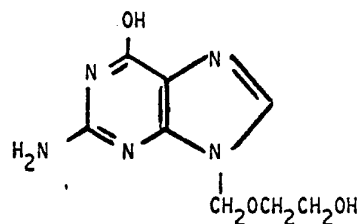
Čvrsti natrijum nitrat (0,97 g) je dodat na sobnoj temperaturi uz mešanje tokom 1 h u rastvoru od 2-hlor-9-(2-hidroksietoksimetil)adenina (0,5 g) u glacijalnoj sirćetnoj kiselini (10 ml). Reakciona smeša je mešana još tokom 4 1/2 h. Bela čvrsta supstanca je uklonjena filtracijom, isprana sa hladnom sirćetnom kiselinom i potom dobro triturisana sa hladnom vodom da bi se uklonio prisutan natrijum acetat. Čvrst proizvod

je sačuvan. Spojeni filtrati sirćetne kiseline I od ispiranja su upareni na sniženom pritisku i na temperaturi kupatila od 40°C i zaostalo ulje je triturisano sa hladnom vodom. Dobljeni čvrsti materijal je spojen sa prethodno izolovanim čvrstim materijalom i spojena vrsta supstanca je osušena i prekrstalisana iz etanola dajući 2-hlor-9-(2-hidroksietoksimetil)hipoksantin (0,25 g), t.t. 310°C. Elementarna analiza NMR spektar su u saglasnosti sa ovom strukturom.

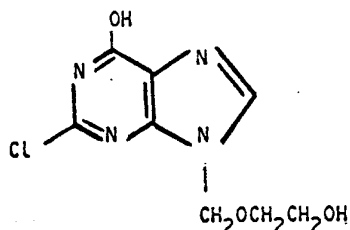
Smeša 2-hlor-9-(2-hidroksietoksimetil)hipoksantina (0,375 g) i metanola (80 ml) zasićenog sa anhidrovanim amonijakom je zagrevana u bombi na 125°C tokom 5h. Bomba je ohladjena na ledenom kupatilu i reakciona smeša je uklonjena. Rastvarač i višak amonijaka su uklonjeni pod sniženim pritiskom na 50°C. Posle trituiranja ostatka sa hladnom vodom da bi se uklonio obrazovani amonijum hlorid, zaostali čvrsti deo je osušen a potom rekristalisan iz metanola dajući čist 9-(2-hidroksietoksimetil)gvanin (0,24 g), t.t. 256,5 - 257°C.

PATENTNI ZAHTEV

Postupak za dobivanje 9-(2-hidroksietoksimetil)gvaninskih derivata purina formule (I):



n a z n a č e n t i m e, što se 2-hloro-9-(2-hidroksietoksimetil)hipoksantin formule (II)



zagreva na 125°C u metanolu zasićenom amonijakom.