

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA  
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

10	ES	11	NUMERO	470383	12	A1
		21				
		22	FECHA DE PRESENTACION	31. MAY 1978		

**PATENTE DE INVENCION**

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

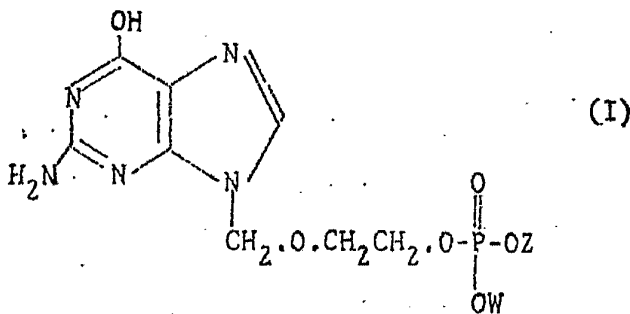
30 PRIORIDADES:		
31 NUMERO	32 FECHA	33 PAIS
771.778 53905/77	24.2.77 24.12.77	EE.UU. G. Bretaña
34 FECHA DE PUBLICIDAD	35 CLASIFICACION INTERNACIONAL	36 PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07D; A61K	467.300
37 TITULO DE LA INVENCION		
"UN METODO DE PREPARACION DE UN DERIVADO DE 9-HIDROXIETOXIMETIL-GUANINA"		
38 SOLICITANTE (ES)		
THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED		
DOMICILIO DEL SOLICITANTE		
183-193 Euston Road, Londres N.W.1., Inglaterra		
39 INVENTOR (ES)		
Howard John Schaeffer		
40 TITULAR (ES)		
41 REPRESENTANTE		
D. ALBERTO DE ELZABURU MARQUEZ		(P.- 69.052)

1                    Esta invención se refiere a monofosfato de 9-(2-  
-hidroxietoximetil)guanina, en particular a sales farma-  
céticamente aceptables del mismo. La invención se refiere  
también a métodos de preparación de este compuesto y sus  
5                    sales, y también a composiciones farmacéuticas que los con-  
tienen.

                    Se sabe que los derivados 2-hidroxietoximetilados  
en la posición 9 de las purinas tienen actividad antiviral  
contra diversas clases de virus de DNA y RNA tanto en ex-  
10                    perimentos in vitro como in vivo, véase la patente españo-  
la n.º 440.631. En particular, estos compuestos son activos  
como agentes antivirales contra el virus de la vacuna, y  
los virus de los herpes, con inclusión del herpes simplex,  
el herpes zóster y la varicela en los mamíferos, los cuales  
15                    virus causan enfermedades tales como la queratitis herpé-  
tica en los conejos y la encefalitis herpética en los rato-  
nes.

                    Se ha encontrado ahora que el éster monofosfato  
de 9-(2-hidroxietoximetil)guanina no sólo es tan activo  
20                    como el compuesto no fosforilado, sino que también tiene  
la ventaja selectiva de una solubilidad mucho mayor al me-  
nos a un pH comprendido entre 1 y 7,5 en comparación con  
el correspondiente compuesto sin fosforilar.

                    De acuerdo con la presente invención, se propor-  
25                    ciona un derivado de 9-hidroxietoximetil-guanina de fórmu-  
la (I):

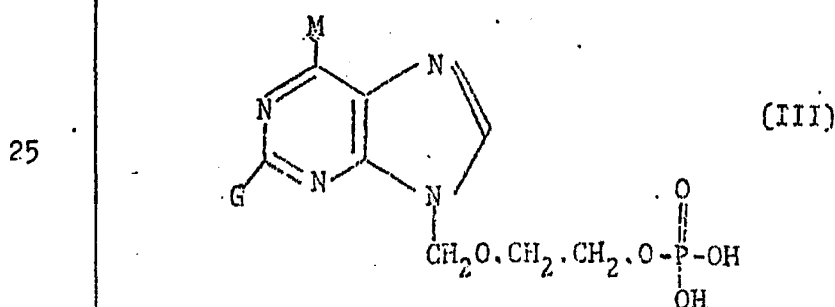


1 - donde W y Z son iguales o diferentes y cada uno de ellos  
 representa un átomo de hidrógeno o un catión farmacéutica-  
 mente aceptable.

5 El catión farmacéuticamente aceptable puede se-  
 leccionarse a partir de un grupo que comprende sodio, pota-  
 sio, litio, calcio/2, magnesio/2, aluminio/3, o amonio. Se  
 prefieren los compuestos de fórmula (I) en la que Z es so-  
 dio, potasio o amonio y W es hidrógeno, y son particular-  
 mente preferidos los compuestos de fórmula (I) en la que Z  
 10 es sodio o amonio y W es hidrógeno.

En la definición anterior de W y Z, los cationes  
 polivalentes se expresan como calcio/2, magnesio/2 y alu-  
 minio/3, con lo que se intenta significar el catión divi-  
 dido por su valencia, esto es,  $Ca^{++}/2$ ,  $Mg^{++}/2$  y  $Al^{+++}/3$ .  
 15 Esto debe entenderse con el significado de que los catio-  
 nes calcio o magnesio están en asociación iónica con dos  
 oxígenos de fosfato, y el aluminio con tres.

En un segundo aspecto de la presente invención,  
 se proporciona un método de preparación de un compuesto de  
 20 fórmula (I), como se define arriba, caracterizado por el  
 hecho de que: un compuesto de fórmula (III),

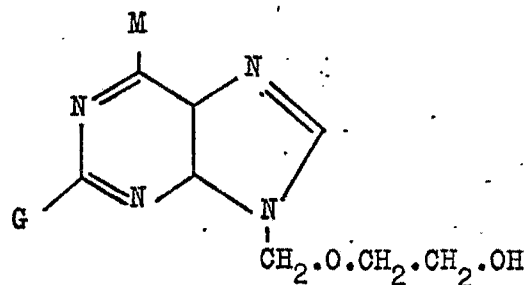


30 donde M es un grupo hidroxilo en posición 6 y G es un áto-  
 mo o grupo que puede reemplazarse o convertirse en un gru

1 -po amino por amonólisis selectiva, se convierte en un com-  
puesto de fórmula (I) y opcionalmente se convierte un com-  
puesto de fórmula (I) en la que W y Z son ambos hidróge-  
no en un compuesto en el que uno cualquiera o ambos de W  
5 y Z es (son) un catión farmacéuticamente aceptable, por  
reacción con una base o una sal que contiene el catión --  
deseado.

La conversión de un compuesto de fórmula (III),  
por el método puede conseguirse de diversas maneras, por  
10 ejemplo cuando G es un átomo de halógeno, un grupo mercap-  
to o un grupo alcoholítico, tal como metiltio, puede conver-  
tirse en un grupo amino por amonólisis. Este método, jun-  
to con otros procedimientos bien conocidos en la técnica,  
pueden encontrarse en "Heterocyclic Compounds - Fused Py-  
rimidines, Part II, Purines", editado por D.J. Brown (1971),  
15 publicado por Wiley - Interscience.

Los compuestos de fórmula (III) se pueden consi-  
derar como intermedios en la síntesis de los compuestos de  
fórmula (I) y pueden prepararse haciendo reaccionar un com-  
20 puesto de fórmula (II)



30

27029

1 con un agente fosforilante tal como derivados de ácido fos-  
fórico que tienen de 1 a 3 grupos hidroxil reemplazados por  
átomos de halógeno, por ejemplo cloro. Es preferido por  
ejemplo el oxiclорuro de fósforo. Hasta dos de los grupos  
5 hidroxil pueden también estar sustituidos para formar gru-  
pos alcoxi, que opcionalmente llevan sustituciones adicio-  
nales para formar por ejemplo grupos benciloxi. Dichos de-  
rivados de fósforo y halógeno o fosfatos se aplican bajo  
condiciones neutras o alcalinas usuales, requiriendo las  
10 últimas preferiblemente activación por ejemplo por carbo-  
diimida, por ejemplo dicitclohexilcarbodiimida excepto quan-  
do se encuentra presente en la forma del anhídrido.

15 Cuando al menos dos de los grupos hidroxil en el  
derivado del ácido fosfórico están reemplazados por haló-  
geno, entonces después de la reacción con el compuesto de  
fórmula (II) es necesario eliminar los halógenos libres por  
hidrólisis acuosa moderadamente suave, empleando por ejem-  
plo un equivalente molar de agua en un disolvente miscible  
en agua, tal como alcohol.

20 Los grupos alcoxi sustituidos o no sustituidos  
introducidos con un grupo fosfato pueden ser hidrolizados  
en un medio acuoso adecuado en presencia de bases en una  
etapa subsiguiente. Los grupos alcoxi aromáticamente susti-  
tuidos tal como benciloxi también pueden someterse a hidro-  
25 genólisis, preferiblemente en presencia de un catalizador,  
de acuerdo con técnicas usuales de escisión reductora. Los  
compuestos de fórmula (II) pueden, a su vez, prepararse  
análogamente de acuerdo con los métodos descritos en la pa-  
tente española nº 440.631.

30 Las sales farmacéuticamente aceptables de fosfa-

1 to de 9-(2-hidroxi-etoximetil)guanina pueden prepararse por  
neutralización del monofosfato en su forma ácida con una  
cantidad equivalente (esto es, equinormal) de una base tal  
como un hidróxido, bicarbonato, o carbonato que contiene el  
5 catión deseado, esto es, sodio, potasio, amonio, calcio,  
litio, magnesio o aluminio. Alternativamente, aquéllos se  
pueden preparar por reacciones de intercambio por las que  
una sal del monofosfato se trata con una solución, preferi-  
blemente acuosa, de una sal que contiene el catión deseado.  
10 Por ejemplo, la sal de bario ligeramente soluble del mono-  
fosfato de 9-(2-hidroxi-etoximetil)guanina se trata en sus-  
pensión acuosa con sulfato de sodio para separar el bario  
en forma del sulfato de bario muy insoluble, dejando en so-  
lución monofosfato de 9-(2-hidroxi-etoximetil)guanina y so-  
15 dio.

En otro aspecto de la invención, se proporciona  
una composición farmacéutica que comprende un compuesto de  
fórmula (I) como se ha definido anteriormente en esta memo-  
ria junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable para  
20 el mismo.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables son  
materiales útiles para el fin de administrar la composi-  
ción, y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos,  
los cuales son por lo demás inertes y médicamente acepta-  
25 bles, y son compatibles con el ingrediente activo. Estas  
composiciones farmacéuticas pueden administrarse oralmen-  
te, parenteralmente, utilizarse como un supositorio o pesa-  
rio, aplicarse tópicamente como un unguento, crema, aéro-  
sol, o polvo, o aplicarse como gotas oftálmicas o nasales,  
30 dependiendo de si la preparación se utiliza para tratar

1 -infecciones virales internas o externas.

Para infecciones internas, los compuestos de fórmula (I) se administran a niveles de dosis de 0,1 a 250 mg por kg, calculados como la forma de fosfato libre, preferi-  
5 blemente de 1,0 a 50 mg por kg de peso corporal del mamífero, y se utilizan en el hombre, en una forma de dosificación unitaria, administrada por ejemplo unas cuantas veces al día, como una o más dosis unitarias, en una cantidad de 1  
a 800 mg por dosis unitaria, preferiblemente de 1 a 250 mg por dosis unitaria, y lo más preferiblemente de 10 a 200  
10 mg por dosis unitaria.

Para administración parenteral, o administración tópica en forma de gotas, p. ej. para infecciones oculares, los compuestos de la fórmula (I) se pueden presentar en so-  
15 luciones acuosas en una concentración comprendida entre aproximadamente 0,1 y 10% peso/volumen, preferiblemente 0,1 a 7%, y lo más preferiblemente 0,2 a 5% peso/volumen.

Alternativamente, para infecciones de los ojos o de otro tejido externo, p. ej. la boca y la piel, se pre-  
20 fieren formulaciones en solución, ungüento o formulaciones tópicas de cremas. Pueden utilizarse concentraciones comprendidas entre aproximadamente 0,1 y 10%, preferiblemente entre 0,3 y 6%, y lo más preferiblemente de 3%.

En otro aspecto adicional de la invención, se pro-  
25 porciona un método de tratamiento de las infecciones virales en los mamíferos que comprende la administración de una cantidad antiviral efectiva y no tóxica de un compuesto de fórmula (I) como se ha definido anteriormente. Tal como se utiliza en esta memoria, el término "cantidad antiviral  
30 efectiva y no tóxica" tiene por objeto significar una can-

1 -tidad antiviral predeterminada suficiente para ser efectiva contra el virus in vivo.

La invención se ilustrará ahora con referencia a los Ejemplos siguientes.

5

EJEMPLO 1

Monofosfato de 9-(2-hidroxi-etoximetil)guanina

Se añadió oxiclорuro de fósforo (0,03 ml) en una sola porción a una suspensión agitada de 2-cloro-9-(2-hidroxi-etoximetil)hipoxantina (20 mg) en fosfato de trietilo (0,3 ml) a -8°C. Se dejó que la temperatura se elevase a 0°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se agitó después a 0°C durante 40 minutos y a +5°C durante 50 minutos. Se vertió después sobre hielo, y el pH se ajustó a 7 con hidróxido de potasio 2N. La solución resultante se extrajo dos veces con cloroformo (2 x 2 ml). La fase acuosa se ajustó a pH 8-8,5 con hidróxido de potasio 2N, y se añadió acetato de bario (105 mg). El precipitado de fosfato de bario resultante se separó por filtración. La fase sobrenadante se trató con un gran exceso de etanol, precipitando monofosfato de 2-cloro-9-(2-hidroxi-etoximetil)-hipoxantina y bario bruto. El sólido se recogió por filtración y se suspendió en etanol. La suspensión etanólica se calentó luego en un baño de vapor durante varios minutos, se enfrió y se filtró. El precipitado recogido se lavó con éter anhidro y se secó, dando monofosfato de 2-cloro-9-(2-hidroxi-etoximetil)hipoxantina y bario (26 mg).

20

25

30

Se añadió sulfato de amonio (3,96 mg) a una suspensión agitada de monofosfato de 2-cloro-9-(2-hidroxi-etoximetil)-hipoxantina y bario (7 mg) en agua (0,5 ml). La

1 mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 15 minu-  
tos y luego se enfrió en un baño de hielo. El sulfato de  
bario precipitado se separó por filtración y se lavó con  
5 agua (1 ml) y etanol (10 ml). El filtrado y los lavados  
reunidos se evaporaron a presión reducida, y el residuo  
resultante se disolvió en metanol (3 ml). La solución meta-  
nólica se transfirió a una bomba de acero inoxidable revestida  
interiormente de Teflón<sup>®</sup>, y se añadió también a la  
10 bomba metanol (8 ml) saturado con amoníaco gaseoso a la  
temperatura del baño de hielo. La bomba, herméticamente  
cerrada, se colocó en una estufa a 122°C durante 4 horas,  
se enfrió y se abrió. Se evaporó el disolvente hasta volu-  
men mínimo. La mezcla de reacción residual se puso sobre  
15 hojas de celulosa Eastman Chromatogram<sup>®</sup> para cromatogra-  
fía en capa delgada, las cuales se revelaron después en  
n-propanol:agua (70:30 vol/vol). Se separaron las bandas a  
Rf 0,16 y 0,34, se suspendieron en tampón Tris (0,6 ml) a  
pH 8, y se separó la celulosa por filtración.

Se encontró que estas bandas contenían monofosfa-  
20 to de 9-(2-hidroxi-etoximetil)-guanina y monofosfato de  
2-cloro-9-(2-hidroxi-etoximetil)hipoxantina por desfosfori-  
lación enzimática con fosfatasa alcalina a 9-(2-hidroxi-eto-  
ximetil)guanina y 2-cloro-9-(2-hidroxi-etoximetil)-hipoxan-  
tina, respectivamente. Se añadió fosfatasa alcalina (2 mi-  
25 crolitros) de E. coli al filtrado y la mezcla se calentó a  
32°C durante 2 horas. Se examinó después por cromatografía  
en capa delgada sobre hojas de celulosa Eastman Chromato-  
gram<sup>®</sup> en tres sistemas disolventes:

(a) n-propanol:agua (70:30 vol/vol)

(b) agua

30

1 (c) n-propanol:hidróxido de amonio concentrado:  
:agua (60:30:10 vol/vol)

5 En cada sistema estaban presentes dos manchas,  
correspondientes a 9-(2-hidroxietoximetil)guanina (A) y 2-  
-cloro-9-(2-hidroxietoximetil)hipoxantina (B).

<u>Sistema</u>	<u>Disolvente</u>	<u>Rf (A)</u>	<u>Rf (B)</u>	<u>Rf del producto de reacción</u>
(a)		0,51	0,64	0,51 y 0,65
(b)		0,68	0,97	0,67 y 0,97
(c)		0,51	0,71	0,51 y 0,71

10

### EJEMPLO 2

#### Monofosfato de 9-(2-hidroxietoximetil)guanina y amonio

15 Se disolvió fosfato de 9-(2-hidroxietoximetil)-  
guanina (0,28 g) en agua (30 ml) y el pH de la solución se  
ajustó a 6 con ácido clorhídrico 6N. Se adsorbió el produc  
to sobre 14 ml de carbón vegetal compactado (Fischer 5-690B,  
de 297-74 micras, lavado a los ácidos y desactivado con to  
lueno). El carbón vegetal se lavó bien con agua y se eluyó  
20 con 70 ml de etanol acuoso al 50% que contenía 2% de hidró  
xido de amonio concentrado. Se evaporó el disolvente a pre  
sión reducida para dar monofosfato de 9-(2-hidroxietoxime-  
til)guanina y amonio (0,048 g); Rf = 0,30 sobre celulosa  
Eastman en n-propanol:agua (70:30 vol/vol).

25

### EJEMPLO 3 - Tableta

Fosfato de 9-(2-hidroxietoximetil)- guanina y sodio	100 mg
Lactosa	200 mg
Almidón	50 mg

30

12058

1	Polivinilpirrolidona	5 mg
	Estearato de magnesio	<u>4 mg</u>
	Peso total	<u>359 mg</u>

5 EJEMPLO 4 - Solución Oftálmica

	Fosfato de 9-(2-hidroxi-etoximetil)- guanina y sodio	1,0 g
	Cloruro de sodio, reactivo analítico	0,9 g
	Trimerosal	0,001 g
10	Agua purificada, cantidad suficien- te para	100 ml
	pH ajustado a	5,5-7,5

15 EJEMPLO 5 - Solución Inyectable

	Fosfato de 9-(2-hidroxi-etoximetil)- guanina y sodio	0,775 g
	Tampón de fosfato de pH 7, estéril y exento de pirógenos, canti- dad suficiente para	25 ml

20

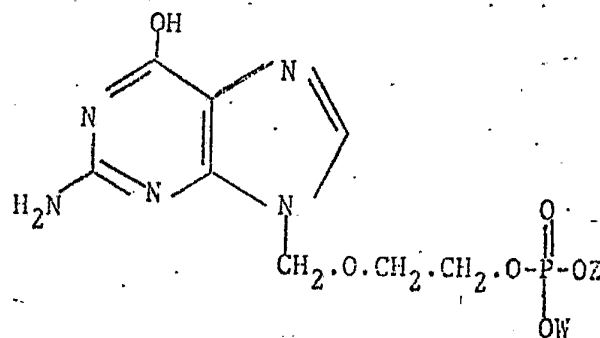
25

30

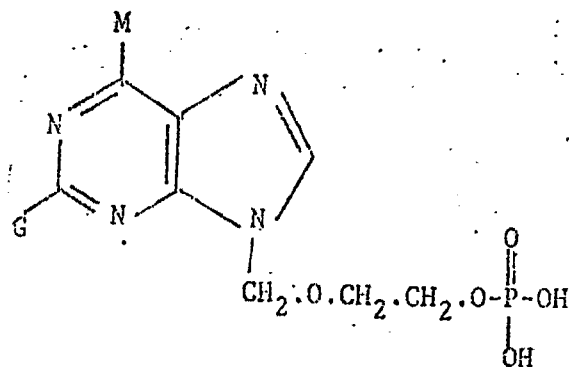
REIVINDICACIONES

Los puntos de invención propia y nueva que se presentan para que sean objeto de esta solicitud de Patente de Invención en España, por VEINTE años, son los que se recogen en las reivindicaciones siguientes:

1ª.- Un método de preparación de un derivado de 9-hidroxi-etoximetil-guanina de fórmula (I)



donde W y Z son iguales o diferentes y cada uno de ellos representa un átomo de hidrógeno o un catión farmacéuticamente aceptable, caracterizado por el hecho de que: un compuesto de fórmula (III)



1 - en la que M es un grupo hidroxilo en posición 6 y G es un  
átomo o grupo que puede reemplazarse o convertirse en un  
grupo amino por amonólisis selectiva; se convierte en un  
compuesto de fórmula (I); y opcionalmente se convierte  
5 un compuesto de fórmula (I) en la que W y Z son ambos --  
hidrógeno en un compuesto en el que uno cualquiera de los  
dos o ambos, W y Z, es (son) un catión farmacéuticamente  
aceptable, por reacción con una base o una sal que contie  
ne el catión deseado.

10 2ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 1ª, en el que un compuesto de fórmula (III), donde M es un grupo hidroxilo en posición 6 y G es un átomo de halógeno, un grupo mercapto o un grupo alcoholítico, se convierte en un compuesto de fórmula (I) por amonólisis.

15 3ª.- Un método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1ª y 2ª, en el que la base, con la cual se hace reaccionar un compuesto de fórmula (I) en la que W y Z son ambos hidrógeno, es un hidróxido, bicarbonato o carbonato que contiene el catión farmacéuticamente aceptable deseado.

20 4ª.- Un método de acuerdo con la reivindicación 3ª, en el que el catión deseado es sodio, potasio, amonio, calcio, litio, magnesio o aluminio.

25 5ª.- Un método de preparación de un derivado de 9-hidroxietoximetilguanina.

Tal y como se ha descrito en la Memoria que antecede, y con los fines que se han especificado.

1

Esta Memoria consta de trece hojas escritas  
a máquina por una sola cara.

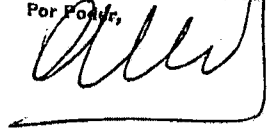
5

Madrid, 01.MAR.1979

P.A.

10

Alberfo de Elizaburu  
Por Poder,



15

20

25

30

27029

JMS