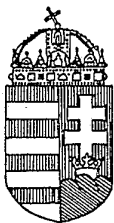


(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

205 367 B

(21) A bejelentés száma: 757/90
(22) A bejelentés napja: 1990. 02. 12.
(30) Elsőbbségi adatok:
309 561 1989. 02. 13. US

(51) Int. Cl.⁵

C 07 H 19/16

A 61 K 31/70

(40) A közzététel napja: 1990. 08. 28.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1992. 04. 28. SZKV 92/04

(72) Feltalálók:

Huryn, Donna Mary, Newton, Pennsylvania (US)
Tam, Steve Yik-Kai, West Caldwell, New Jersey (US)
Weigele, Manfred, Clifton, New Jersey (US)

(73) Szabadalmaz:

F. Hoffmann-La Roche Ag., Bazel (CH)

(54) Eljárás új izomer didezoxinukleozidok és ezeket hatóanyagként tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

(57) KIVONAT

Az (I) általános képletű vegyületek (mely képletben
A jelentése 6-amino-9H-purin-9-il- vagy 2-amino-6-
hidroxi-9H-purin-9-il-csoport)

és gyógyászati lag alkalmas sóik retrovirális fertő-
zés (pl. HIV-fertőzések) kezelésére alkalmas gyógyá-
szati készítmények hatóanyagaként alkalmazhatók.

Az (I) általános képletű vegyületeket úgy állítják
elő, hogy

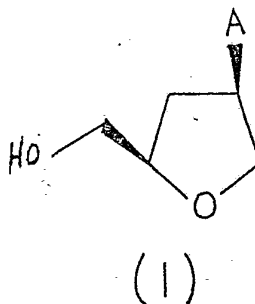
a) valamely (IV-1) általános képletű vegyületet (mely
képletben X jelentése lehasítható csoport és C je-
lentése hidroxi-metil-csoport vagy maszkírozott
előterméke) adeninnel vagy guaninnel reagáltatnak
és szükség esetén egy C helyén levő maszkírozott
előterméket hidroxi-metil-csoporttá alakítanak;
vagy

b) valamely (VIII) képletű vegyületben levő klórhe-
lyettesítőt hidrolizálnak; vagy

c) valamely (X) képletű vegyületet ammóniával rea-
gáltatnak; vagy

d) egy (XIII) képletű vegyületet valamely ortohangya-
sav-észterrel vagy dietoxi-metil-acetáttal reagáltat-
nak;

és kívánt esetben egy kapott (I) általános képletű
vegyületet gyógyászati lag alkalmas sóvá alakítanak.



Találmányunk új 2',3'-didezoxi-nukleozid-izomerek (mely képletben

A jelentése 6-amino-9H-purin-9-il- vagy 2-amino-6-hidroxi-9H-purin-9-il-csoport)

és gyógyászatilag alkalmas sók, valamint a fenti vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények előállítására vonatkozik.

Az (I) általános képletű vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények retrovirális – különösen HIV által okozott – fertőzések kezelésére alkalmazhatók.

Az utóbbi években az AIDS járványossá vált. Az eddig ismert, AIDS ellen legalább részlegesen hatásos gyógyszerek aktivitása azon alapul, hogy gátolják az AIDS-vírus replikációját. Az AIDS kezelésére alkalmas gyógyszerek egyike, a 3'-azido-2',3'-didezoxi-timidin (AZT) azonban elsődlegesen úgy fejt ki AIDS-ellenes hatását, hogy gátolja a vírus reverz transzkriptáz enzim aktivitását. Az AZT-t az élő szervezetbe beadva a vegyület először a sejt-kinázok hatására trifoszfátjává foszforileződik. A kapott AZT-trifoszfát letörli a vírus DNS-láncának növekedését, és gátolja a reverz transzkriptáz enzim működését.

Más didezoxi-nukleozidok, így a 2,3-didezoxi-adenozin és a 2,3-didezoxi-inozin is fejt ki antiretrovirális aktivitást a reverz transzkriptáz enzim gátlása révén. E vegyületek gyógyászati alkalmazhatóságát azonban gátolja az a körülmény, hogy a cukor-bázis kötés hidrolízise révén gyorsan lebomlanak. A találmány szerint előállítható izomer 2',3'-didezoxi-nukleozidok az előzőnél stabilabb nukleozidkötéssel rendelkeznek.

A leírásban használt „halogénatom” kifejezés a fluor-, klór-, bróm- és jódatomot öleli fel. A „nukleotidbázis” kifejezés nukleozidokban (pl. adenin, guanin, citozin, timin, 2,6-diamino-purin, uracil, purin vagy 2-amino-purin) levő bázisokra vonatkozik. Az „AIBN” kifejezés valamely szokásos gyökinitiatort jelent (pl. α, α' -aza-izobutironitril). A „kilépőcsoport” kifejezésen nukleofil kiszorításos reakciókra alkalmas funkcionális csoportok értendők, pl. alkil- vagy arilszulfonátok, aktivált OH-csoportok [mint pl. $OP^+(fenil)_3$] vagy halogének. A „18-korona-6-éter” kifejezés szokásos fázis-transfer-reagenset jelöl, pl. 1,4,7,10,13,16-hexaoxakiklo-oktadecán. A vastagodó vonal a molekula szintje síkja felett elhelyezkedő csoportokat jelöl. A megszakított vagy pontozott vonal azt jelenti, hogy a csoport a molekula síkja alatt helyezkedik el. A hullámos vonal azt jelzi, hogy a csoport a molekula síkja felett vagy alatt egyaránt elhelyezkedhet. A „maszkírozott előtermék” kifejezésen valamely specifikus csoportot olyan formában tartalmazó vegyületek értendők, amelyből a szóban forgó funkcionális csoport egyszerű átalakítással visszaalakítható. Így pl. az acetálok és észterek a hidroxi-metil-csoport, míg az aril-éterek és szilil-éterek a hidroxilcsoport maszkírozott előtermékei.

Az (I) általános képletű vegyületek előnyös képviselője az izodidezoxi-adenozin (Ia; izo-ddA) és az izodidezoxi-guanozin (Ib; izo-ddG) és gyógyászatilag alkalmas sóik. Előnyösek a fenti vegyületeket tartalmazó gyógyászati készítmények is.

Az (I) általános képletű vegyületek gyógyászatilag alkalmas sói szerves savakkal (pl. tejsavval, ecetsavval, almasavval vagy p-toluolszulfonsavval) vagy szervetlen savakkal (pl. ásványi savakkal, mint pl. sósavval vagy kénsavval) képezett sók lehetnek.

A találmányunk tárgyát képező eljárás szerint az (I) általános képletű vegyületeket és gyógyászatilag alkalmas sóikat oly módon állíthatjuk elő, hogy

a) valamely (IV-1) általános képletű vegyületet (mely képletben X jelentése lehasítható csoport és C jelentése hidroxi-metil-csoport vagy maszkírozott előtermék) adeninnel vagy guaninnel reagáltatunk és szükség esetén egy C helyén levő maszkírozott előterméket hidroxi-metil-csoporttá alakítunk; vagy

b) valamely (VIII) képletű vegyületben levő klórhe-lyettesítőt hidrolizálunk; vagy

c) valamely (X) képletű vegyületet ammóniával reagáltatunk; vagy

d) egy (XIII) képletű vegyületet valamely ortohan-gyasav-észterrel vagy dietoxi-metil-acetáttal reagáltatunk; és kívánt esetben egy kapott (I) általános képletű vegyületet gyógyászatilag alkalmas sóvá alakítunk.

Az alábbiakban az (I) általános képletű vegyületek és új közbelső termékeik előállítását részletesen ismer-tetjük.

A találmányunk szerinti új vegyületek előállításánál valamely egyszerű cukorszarmazékból (pl. 1,2-O-me-til-etilidén-D-xilofuranóz) indulhatunk ki, amelyet egy sor reakció segítségével az A-reakciósémán feltüntetett módon egy tozil-acetonid közbelső terméké alakítunk.

Az A-reakcióséma szerint 1,2-O-(1-metil-etilidén)- α -D-xilofuranózt tozil-kloriddal reagáltatunk. A kapott 1,2-O-(1-metil-etilidén)-5-O-p-(tolilszulfonil)- α -D-xilofuranózt 1,2-diklór-etánnal és tiokarbonil-diimida-zollal reagáltatjuk. A kapott új (III) képletű közbelső terméket – imidazolkarbotiosav-származék – tri-n-bu-til-ón-hidriddel és AIBN-nel kezeljük toluolban és ily módon a 3-dezoxi-1,2-O-(1-metil-etilidén)- α -D-eritro-pentafuranóz-4-metil-benzolszulfonátot nyerjük. A ka-pott tozil-acetonidot kétféleképpen alakíthatjuk a (IV) általános képletű új közbelső terméké (mely képlet-ben B jelentése amino- vagy hidroxilcsoport vagy e csoportok átalakított formája vagy maszkírozott előter-méke vagy valamely kilépőcsoport és C jelentése hid-roxi-metil-csoport vagy maszkírozott előterméke, pl. halogén-metil, karbonsav, aldehid, észter, acetál, tioa-cetál vagy alkoxi-metil-csoport). Az új közbelső ter-mékek didezoxi-nukleozid-izomerek széles palettájá-nak – beleértve az (Ia) és (Ib) vegyületet – előállítására használhatók fel.

Az új közbelső termékeket a B-reakciósémán fel-tüntetett módon állíthatjuk elő:

A tozil-acetonidot 1,2-propánditiollal és bór-trifluo-rid-éteráttal reagáltatjuk, a kapott (V) képletű nyílt láncú diolt tisztítás után piridin metilén-kloridos olda-tával keverjük. A kapott (IVa) képletű tetrahidrofuran-származékot tozil-kloriddal közvetlenül a (IVb) képle-tű tozilezett tioacetállá alakítjuk. A tozilezett tioacetált oszlopkromatográfiás tisztítás után higany-kloridos

hidrolízissal, majd nátrium-bór-hidrides reagáltatással a (IVc) képletű új közbenső terméké alakítjuk. A (IVa), (b) és (c) és (V) képletű közbenső termék új.

A (IV) képletű vegyület a C-reakciósémán feltüntetett módon is előállítható.

A C-reakcióséma szerint a tozil-acetonidot ecetsav/metanol eleggyel reagáltatjuk és a metil-glikozid, felnyitott gyűrűt tartalmazó dimetil-acetál és a kívánt (IVd) képletű termék keverékévé alakítjuk. A kapott keverék többnapos keverés után teljesen a (IVd) képletű dimetil-acetál-tetrahidrofuránná alakul. A tisztított vegyületet szokásos körülmények között tozilezzük, majd a kapott (IVe) képletű dimetil-acetál-tozilátot savas hidrolízissal és nátrium-bór-hidrides redukcióval a (IVc) képletű vegyületté alakítjuk. A fenti reakciósémán szereplő (IVd) és (IVe) képletű vegyületek új közbenső termékek.

A (IV) általános képletű vegyületekből igen sokféle nukleozid – beleértve az (Ia) és (Ib) vegyületet – állítható elő, és pedig alapvetően kétféleképpen.

Az első módszert az 1. reakcióegyenleten tüntetjük fel. Az izodidezoxi-cukorban levő kilépőcsoportot valamely nukleotidbázissal kiszorítjuk. Nukleozidok karbociklikus analógjainak (különösen adeninszármazékok) a fenti reakcióúton történő előállítását az irodalomban leírták, a módszert azonban nem alkalmazzák túl gyakran.

Az 1. reakcióegyenletben

X jelentése kilépőcsoport,
Bázis-H jelentése valamely nukleotidbázis,
C jelentése CH_2OH -csoport vagy maszkírozott előterméke.

Az alternatív klasszikus módszer a nukleotidbázis több lépésben történő felépítésén alapul. Nukleozidok (különösen purin- és pirimidinszármazékok) ily módon történő előállítását az irodalom bőségesen ismerteti. Valamennyi klasszikus nukleotidbázis (IV) általános képletű izodidezoxi-cukorból kiindulva az izodidezoxi-nukleozid-szerkezetbe várhatóan beépíthető.

A (IVf) képletű aminoszármazék a (IV) általános képletű vegyületekből szokásos átalakítások segítségével könnyen előállítható és ily módon mindkét eljárás módszerén ugyanaz a közbenső termék használható fel.

A 2. reakcióegyenletben a (IVf) képletű vegyület új közbenső termék. A 2. reakcióegyenletben

X jelentése kilépőcsoport és
C jelentése hidroximetil-csoport vagy maszkírozott előterméke.

Így pl. az (Ia) vegyületet (izo-ddA) oly módon állíthatjuk elő, hogy a (IVc) képletű vegyületet adeninnel, kálium-karbonáttal és valamely fázistranszfer-reagenssel (pl. 18-korona-6-éter) reagáltatjuk vagy az adenin nátriumsójával hozzuk reakcióba. Az eljárást a D-reakciósémán tüntetjük fel.

A (IVe) képletű vegyületből az (Ia) vegyületet az E-reakciósémán feltüntetett módon állíthatjuk elő.

Az E-reakcióséma szerint adenint, kálium-karbonátot és 18-korona-6-étert reagáltatunk a dimetil-acetál-

izocukorral. A kapott (VI) képletű izo-ddA-dimetil-acetált ezután oxálsavoldattal a (VII) képletű aldehiddé hidrolizáljuk. Az instabil (VII) képletű aldehidet semlegesítés után katalitikusan az (Ia) képletű izo-ddA-á alakítjuk. Az E-reakciósémán szereplő vegyületek közül a (IVe), (VI) és (VII) képletű vegyületek új közbenső termékek.

Az (Ib) képletű vegyületet ugyancsak a fentiekben ismertetett általános módszerekkel állíthatjuk elő. Az eljárás első lépésében a (IVc) képletű vegyületet az F-reakciósémán feltüntetett módon előbb 2-amino-6-klór-purinnal, valamely szokásos fázistranszfer-katalizátorral (pl. 18-korona-6-éter) és kálium-karbonáttal reagáltatjuk és ily módon a (VIII) képletű vegyülethez jutunk.

A (VIII) képletű vegyületet ezután a G-reakciósémán feltüntetett módon savas vagy bázikus körülmények között (pl. sósav jelenlétében végrehajtott) hevítéssel alakítjuk az (Ib) képletű vegyületté. A G-reakciósémában szereplő (VIII) képletű vegyület új közbenső termék.

A találmányunk szerinti izomer didezoxi-nukleozidok továbbá klasszikus módszerekkel is előállíthatók, amelyek során a nukleotidbázist egy aminból építjük fel. Az eljárást a H-reakciósémán tüntetjük fel.

A H-reakcióséma szerint a (IVc) képletű vegyületet nátrium-aziddal reagáltatjuk, majd a kapott vegyületet palládium/szén jelenlétében hidrogénezzük. A kapott (IVf) képletű amint bázis jelenlétében 5-amino-4,6-diklór-pirimidinnel hozzuk reakcióba. A kapott (IX) képletű pirimidinszármazékot dimetoxi-metil-acetáttal végzett kondenzációval (X) képletű purin-addukttá alakítjuk, majd savval indukált lehasítással a (X) képletű 6-klór-purin-didezoxi-nukleozidot nyerjük. Metanolos ammóniaoldattal végrehajtott kezeléssel az (Ib) képletű izo-ddA és a (XI) képletű vegyület keverékét kapjuk. A H-reakciósémában szereplő vegyületek közül a (IX), (X) és (XI) képletű vegyületek új közbenső termékek.

Az izo-ddG-t ugyancsak a (IVf) képletű vegyületből a nukleotidbázis több lépésben történő kialakításával az I-reakciósémán feltüntetett módon szintetizálhatjuk. A (IVf) képletű vegyületet trietil-amin jelenlétében 2-amino-6-klór-4(3H)-pirimidinonnal reagáltatjuk. A kapott (XII) képletű pirimidinont platina-oxiddal redukáljuk, majd a kapott (XIII) képletű amino-pirimidinont orthoangyasav-trietil-észterrel és savval kezelve nyerjük az (Ib) képletű izo-ddG-t. Az I-reakciósémában szereplő vegyületek közül a (XII) és (XIII) képletű vegyületek új közbenső termékek.

Az (I) általános képletű vegyületek retrovírus-fertőzések – különösen HIV – kezelésére alkalmazhatók oly módon, hogy a fertőzött szervezetbe a vírus inaktiválásához elegendő mennyiségben valamely (I) általános képletű vegyületet vagy gyógyászatiilag alkalmas sóját adjuk be.

Más didezoxi-nukleozidok (pl. 2,3-didezoxi-adenozin és 2,3-didezoxi-inozin) szintén antiretrovirális aktivitást fejtenek ki a reverz transzkriptáz enzim gátlása révén. E vegyületek gyógyászati alkalmazhatóságát azonban a cukor-bázis kötés gyors lebomlása korlátoz-

za. A találmányunk szerinti eljárással előállítható új 2,3-didezoxi-nukleozid-izomerek stabilabb nukleozid-kötéssel rendelkeznek.

Az (I) általános képletű vegyületek bármely megfelelő adagolási módon a szervezetbe juttathatók, beleértve az orális, helyi és parenterális (pl. szubkutáns, intravénás, intramuszkuláris vagy intradermális) adagolást.

Az (I) általános képletű vegyületek önmagukban vagy – előnyösen – gyógyászati készítmények formájában alkalmazhatók. A gyógyászati készítmények hatóanyagként valamely (I) általános képletű vegyületet vagy gyógyszerileg alkalmas sóját és adott esetben más gyógyászati hatóanyagokat és gyógyászati hordozóanyagokat tartalmaznak. Gyógyászati hordozóanyagként az ilyen készítményekben használatos, a hatóanyaggal és a többi komponenssel kompatibilis és a beteg számára ártalmatlan anyagok alkalmazhatók.

Az orális adagolásra szolgáló gyógyászati készítmények adagolási egységként meghatározott mennyiségű (I) általános képletű vegyületet tartalmazó kapszulák, tasakok vagy tabletták, továbbá porkeverékek vagy granulátumok lehetnek. Ezenkívül e célra vizes vagy nemvizes folyadékkal képezett oldatokat vagy szuszpenziókat vagy olaj-a-vízben vagy víz-az-olajban típusú emulziókat állíthatunk elő. Az (I) általános képletű vegyületet továbbá bólusz vagy paszta alakjában készíthetjük ki.

A tablettákat száraz vagy nedves préseléses eljárásokkal állíthatjuk elő és pl. változó mennyiségű hidroxipropil-metil-cellulóz hozzáadásával szabályozott hatóanyag-fel szabadulási profilt alakíthatunk ki.

A parenterális adagolásra szolgáló készítmények vizes vagy nemvizes izotóniás steril injekciós oldatok lehetnek, amelyek antioxidánsokat, puffereket, bakteriosztatikus anyagokat és izotóniát kialakító anyagokat tartalmazhatnak. A készítmények továbbá liofilizett (fagyasztva szárított) formában állíthatók elő, amelyből közvetlenül a felhasználás előtt steril injekciós oldatokat készítenek.

Eljárásunk további részleteit az alábbi példákban ismertetjük anélkül, hogy találmányunkat a példákra korlátoznánk.

1. példa

40 g 1,2-O-(1-metil-etilidén)- α -D-xilofuranóz és 125 ml metilén-klorid oldatához 40 ml vízmentes piridint adunk. Az oldatot -5°C -ra hűtjük és nitrogénatmoszférában 30 perc alatt 44,2 g tozil-klorid 100 ml metilén-kloriddal képezett oldatával elegyítjük. A reakcióelegyet egy éjjelen át keverés közben szobahőmérsékletre hagyjuk felmelegedni, majd 500 ml metilén-kloridot adunk hozzá és a reakcióelegyet egyszer 600 ml vízzel, kétszer 400 ml vízzel, végül egyszer 500 ml telített nátrium-klorid-oldattal mossuk. A szerves fázist szárítjuk, szűrjük és vákuumban bepároljuk. A maradékot a visszamaradó piridin eltávolítása céljából egy éjjelen át 23°C -on/7 Pa szárítjuk. A nyers szilárd maradékot (71 g) 100 ml metilén-kloridban oldjuk és zavarosodásig hexánt

adunk hozzá. Az elegyet egy éjjelen át 0°C -on állni hagyjuk. A szilárd anyagot szűrjük, hexánnal mossuk és levegőn szárítjuk. Fehér, szilárd anyag alakjában 52,4 g 1,2-O-(1-metil-etilidén)-5-O-p-(tolilszulfonil)- α -D-xilofuranózt kapunk. Az anyalúg bepárlásával 5,7 g második frakciót kapunk. Kitermelés: 80%.

58,1 g 1,2-O-(1-metil-etilidén)-5-O-p-(tolilszulfonil)- α -D-xilofuranóz 1 liter 1,2-diklór-etánnal képezett oldatát 361 g tiokarbonil-diimidazolal elegyítjük. A sárga oldatot 2 órán át visszafolyató hűtő alkalmazása mellett forraljuk, majd további 4,2 g tiokarbonil-diimidazolt adunk hozzá és újabb egy órán keresztül hevítjük. A reakcióelegyet lehűtjük és az oldószert eltávolítjuk. A narancssárga maradékot metilén-klorid és 1,4 liter víz között megosztjuk. A szerves fázist elválasztjuk, előbb 700 ml vízzel, majd 500 ml telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. 91 g 1,2-O-(1-metil-etilidén)- α -D-xilofuranóz-3-O-(1H-imidazol-1-karbotiosav)-4-metil-benzolszulfonsav-észtert [(III) képletű vegyület] kapunk, narancssárga szilárd anyag alakjában.

2. példa

600 ml vízmentes toluolt argonatmoszféra alá helyezzünk, majd visszafolyató hűtő alkalmazása mellett forraljuk és 27,1 ml tri-n-butil-ón-hidriddel és 50 mg AIBN-nel elegyítjük. Az oldatot egy óra alatt $30,3^{\circ}\text{C}$ -ra, az 1. példa szerint előállított vegyület és 600 ml vízmentes toluol oldatához adjuk. Az elegyet további 2 órán át hevítjük, majd 9 ml tri-n-butil-ón-hidrid és 50 mg AIBN oldatát adjuk hevítés közben hozzá, míg vékonyréteg-kromatográfián kiindulási anyag már nem mutatható ki (kb. egy óra múlva). A reakcióelegyet lehűtjük, a toluolt eltávolítjuk, a maradékot 1 liter acetonnitril és 800 ml hexán között megosztjuk. Az acetonnitril fázist bepároljuk és a maradékot (27,3 g) minimális térfogatú 3:7 arányú etil-acetát/hexán elegyben oldjuk. Az elegyet szilikagélén átszűrjük és 3:7 arányú etil-acetát/hexán eleggyel eluáljuk. Az eluálószer eltávolítása után kapott maradékot kevés éterben oldjuk és zavarosodásig petrolétert adunk hozzá. Az elegyet szárazjeges fürdőben 0°C -on egy éjjelen át állni hagyjuk. Fehér szilárd anyag alakjában 9,3 g 3-dezoxi-1,2-O-(1-metil-etilidén)- α -D-eritro-pentofuranóz-4-metil-benzilszulfonátot kapunk. Az anyalúgból további 4 g terméket nyerünk. Kitermelés: 61%.

12 g 3-dezoxi-1,2,-O-(1-metil-etilidén)- α -D-eritro-pentofuranóz-4-metil-benzilszulfonát 60 ml vízmentes metilén-kloriddal képezett oldatát nitrogénatmoszférában -78°C -ra hűtjük. Az oldatot előbb 4 ml 1,3-propánditiollal, majd 5 ml bór-trifluorid-éteráttal lassan elegyítjük. Az elegyet 40 órán át -78°C -on keverjük, majd 200 ml metilén-kloriddal elegyítjük, kétszer 50 ml telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. Az enyhén elszíneződött olajat oszlopkromatográfiás úton, 50%-os etil-acetát/hexán eleggyel végzett eluálással tisztítjuk. Színtelen olaj alakjában 7 g (2S,4R)-4-(1,3-ditián-2-il)-1,2,4-butántriol-1-O-(4-metil-benzolszulfonát)-ot kapunk [(V) képletű vegyület]. Kitermelés: 50% vagy 90% (a vissza-

nyert kiindulási anyagra vonatkoztatva. További 5,3 g kiindulási anyagot nyerünk vissza.

3. példa

7 g (V) képletű vegyület 20 ml metilén-kloriddal képezett oldatát 4 ml piridinnel elegyítjük. Az elegyet egy éjjelen át keverjük, majd 50 ml metilén-kloriddal elegyítjük és 20 ml telített nátrium-klorid-oldattal extraháljuk. A szerves fázist szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A maradékot [(IVa) képletű vegyület] 10 ml metilén-kloridban oldjuk és 5,5 g tozil-klorid 3 ml piridinnel képezett oldatával szobahőmérsékleten egy éjjelen át keverjük. Az elegyet 100 ml metilén-kloriddal hígítjuk, majd 25 ml nátrium-klorid-oldattal mossuk, szűrjük, szűrjük és bepároljuk. Kromatografálás és 3:7 arányú etil-acetát/hexán eleggyel végrehajtott eluálás után 4,2 g (2R)-transz-tetrahidro-5-(1,3-ditián-2-il)-3-furanol-4-metil-benzolszulfonátot [(IVb) képletű vegyület] kapunk, színtelen olaj alakjában.

MS: 360 (M⁺).

4. példa

1 g (2R)-transz-tetrahidro-5-(1,3-ditián-2-il)-3-furanol-4-metil-benzolszulfonát, 1,66 g higany(II)-klorid és 1,32 g higany(II)-oxid 25 ml 80%-os acetonitril/víz eleggyel képezett elegyét 5 órán át 80 °C-on melegítjük. Az oldatot szobahőmérsékletre hűtjük, szűrjük és az acetonitrilt részben eltávolítjuk. A maradékot 10 ml 50%-os metanol-víz eleggyel hígítjuk, 0 °C-ra hűtjük, majd 100 mg nátrium-bór-hidriddel elegyítjük. A reakcióelegyet 15 percen át 0 °C-on keverjük, majd bepároljuk. A maradékot metilén-klorid és nátrium-klorid-oldat között megosztjuk, a szerves fázist elválasztjuk, szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A visszamaradó olajat kromatografálással és 6:4 arányú etil-acetát/hexán eleggyel végzett eluálással tisztítjuk. Lehűléskor megszilárduló olaj alakjában 530 mg (2R-transz)-tetrahidro-4-[[[(4-metil-fenil)-szulfonil]-oxi]-2-furán-metanolt [(IVc) képletű vegyület] kapunk.

MS: 241 (M⁺-CH₂OH).

5. példa

40 g 3-dezoxi-1,2-O-(1-metil-etilidén)-α-D-eritropentafuranóz-4-metil-benzolszulfonátot 800 ml 1 térfogat% ecetsavat tartalmazó metanolban 3 napon át 70 °C-on melegítünk. A reakcióelegyet szobahőmérsékletre hűtjük, majd a pH-t nátrium-metilát-oldat hozzáadásával 6,0-ra állítjuk be. Az elegyet vákuumban szárazra pároljuk. Habszerű szilárd anyag alakjában (3S-transz)-tetrahidro-5-(dimetoxi-metil)-3-furanol [(IVd) képletű vegyület] kapunk. Ezt a terméket 160 ml vízmentes piridinnel és 50 g tozil-kloriddal elegyítjük és a reakcióelegyet 15 órán át 0 °C-on keverjük. Az elegyet 400 ml jeges vízbe öntjük, kétszer 400 ml metilén-kloriddal extraháljuk, majd 1 n sósavval, nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és vízzel mossuk. A szerves oldatot szárazra pároljuk. Könnyen mozgó folyadék alakjában 35,7 g (3S-transz)-tetrahidro-5-(dimetoxi-metil)-3-furanol-4-metil-benzolszulfonátot [(IVe) képletű vegyület] kapunk. Kitermelés: 93%.

(IVd): NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 2,00 (m, 2H), 3,45 (s, 6H), 3,78, 3,96 (AB ABX, 2H, J_{AB}=9 Hz, J_{AX}=2 Hz, J_{BX}=4 Hz), 4,29 (m, 2H), 4,54 (m, 1H).

6. példa

10,0 g (IVe) képletű vegyület, 50 ml trifluor-ecetsav és 80 ml dioxán elegyét 5 órán át 80 °C-on melegítjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékletre hagyjuk lehűlni, majd a pH-t 1 n nátrium-hidroxid-oldattal 7-re állítjuk be. Ezután 1,2 g nátrium-bór-hidriddel elegyítjük és 30 percen át szobahőmérsékleten keverjük. Az oldószert részben eltávolítjuk és a maradékot háromszor 100 ml etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázist szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A maradékot kromatografáljuk, az eluálást 6:4 arányú etil-acetát/hexán eleggyel véghezvük el. 3,6 g átalakulatlan kiindulási anyagot és 2,7 g (2R-transz)-tetrahidro-4-[[[(4-metil-fenil)-szulfonil]-oxi]-2-furán-metanolt kapunk, [(IVc) képletű vegyület].

7. példa

50 mg adenin, 100 mg kálium-karbonát, 97 mg 18-korona-6-éter és 10 ml dimetil-formamid elegyét argonatmoszférában 30 percen át keverjük. Az oldathoz 100 mg (2R-transz)-tetrahidro-4-[[[(4-metil-fenil)-szulfonil]-oxi]-2-furán-metanolt [(IVc) képletű vegyület] és 2 ml dimetil-formamid oldatát csepegtetjük keverés közben. A reakcióelegyet 80 °C-ra melegítjük és ezen a hőmérsékleten egy éjjelen át keverjük. Az oldószert vákuumban eltávolítjuk, a szilárd maradékot kromatografáljuk és 1:9 arányú metanol/metilén-klorid eleggyel eluáljuk. Az izolált anyagot fordított fázisú nagy teljesítőképességű folyadékkromatográfiával (HPLC) és acetonitril-víz eleggyel végzett gradienseluálással tisztítjuk. 25 mg (2R-cisz)-4-(6-amino-9H-purin-9-il)-tetrahidro-2-furán-metanolt kapunk [(Ia) képletű vegyület]. A termék analitikai tisztaságú mintája metanolos kristályosítás után 183–185 °C-on olvad, [α]_D= +47,91° (c=0,67, metanol).

UV: λ_{max} (MeOH) 260 nm (ε=13 990); UV: λ_{max} (pH 1) 210 nm (ε=19 700), 259 nm (ε=13 600).

8. példa

2,14 g adenin, 4,37 g kálium-karbonát, 417 mg 18-korona-6-éter és 400 ml dimetil-formamid elegyét argonatmoszférában 30 percen át keverjük. Az elegyhez keverés közben 5 g (3S-transz)-tetrahidro-5-(dimetoxi-metil)-3-furanol-4-metil-benzolszulfonát [(IVe) képletű vegyület] és 100 ml dimetil-formamid oldatát csepegtetjük. A kapott elegyet 80 °C-ra melegítjük és ezen a hőmérsékleten egy éjjelen át keverjük. Az elegyet szűrjük és a szűrletet bepároljuk. A szilárd maradékot szilikagélén kromatografáljuk és 7:93 arányú metanol/metilén-klorid eleggyel eluáljuk. A kívánt terméket tartalmazó frakciókat összegyűjtjük és bepároljuk. 3,0 g (3R-cisz)-9-[tetrahidro-5-(dimetoxi-metil)-3-furanil]-9H-purin-6-amint kapunk [(VI) képletű vegyület]. Op.: 144–146 °C.

UV: λ_{max} (MeOH) 214 nm (ε=18 890), 258 nm (ε=14 100); UV: λ_{max} (pH 1) 208 nm (ε=20 000),

258 nm ($\epsilon=13\,780$); UV: $\lambda_{\max}$ (pH 13) 259 nm ($\epsilon=14\,120$).

9. példa

150 mg (IVc) képletű vegyület és 3 ml vízmentes dimetil-formamid oldatát $-5\,^{\circ}\text{C}$ -ra hűtjük és 90 mg nátrium-azidot adunk hozzá. Az oldatot szobahőmérsékletre hagyjuk felmelegedni, majd 5 órán át $70\,^{\circ}\text{C}$ -on melegítjük. A dimetil-formamid eltávolítása után nyert maradékot 50 ml etil-acetát és 10 ml víz között megosztjuk. A szerves fázist telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, a vizes fázistokat egyesítjük és etil-acetáttal viszszamoszuk. Az összes szerves fázist egyesítjük, magnézium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A terméket 5 ml előszárított metanolban 15 mg 10%-os palládium-szén jelenlétében szobahőmérsékleten 3 órán át hidrogénezzük. Színtelen olaj alakjában 54 mg (2R-cisz)-4-amino-tetrahidro-2-furán-metanolt kapunk.

MS: 99 ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{O}$).

10. példa

184 mg (2R-cisz)-4-amino-tetrahidro-2-furán-metanol, 770 mg 5-amino-4,6-diklór-pirimidin, 0,44 ml trietil-amin és 16 ml tercier butil-alkohol elegyét argonatmoszférában 72 órán át visszafolyatós hűtő alkalmazása mellett forraljuk, majd az illékony komponenseket lehajtjuk. A maradékot 100 ml etil-acetátban oldjuk, az oldatot telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A kapott terméket oszlopkromatográfiával és 50:50 arányú etil-acetát/hexán eleggyel végzett eluálással tisztítjuk. 220 mg (2R-cisz)-4-[(5-amino-6-klór-4-pirimidinil)-amino]-tetrahidro-2-furán-metanolt kapunk [(IX) képletű vegyület].

UV: $\lambda_{\max}$ (MeOH) 206 nm, 265 nm, 295 nm; UV: $\lambda_{\max}$ (pH 1) 204 nm, 304 nm.

11. példa

220 mg (IX) képletű vegyület és 5 ml dietoxi-metil-acetát oldatát 120 órán át $100\,^{\circ}\text{C}$ -on melegítjük. Az illékony anyagokat lehajtjuk és a maradékot 5 ml toluollal és 5 mg p-toluolszulfonsavval elegyítjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten egy órán át keverjük, a toluolt eltávolítjuk és a maradékot oszlopkromatográfiával tisztítjuk; eluálószerként 1:9 arányú metanol/metilén-klorid elegyet alkalmazunk. Fehér szilárd anyag alakjában 109 mg (2R-cisz)-4-(6-klór-9H-purin-9-il)-tetrahidro-2-furán-metanolt kapunk [(X) képletű vegyület].

UV: $\lambda_{\max}$ (MeOH) 264 nm; UV: $\lambda_{\max}$ (pH 1) 265 nm.

12. példa

73 mg (2R-cisz)-4-(6-klór-9H-purin-9-il)-tetrahidro-2-furán-metanolt 15 ml, 16% ammóniát tartalmazó metanolban nemesacél-autoklávban 96 órán át reagáltatunk. Az oldószer eltávolítása után a maradékot oszlopkromatográfiával vetjük alá (eluálószer 1:9 arányú metanol/metilén-klorid elegy). Fehér szilárd anyag alakjában 20 mg (2R-cisz)-4-(6-amino-9H-purin-9-il)-

tetrahidro-2-furán-metanolt [(Ia) képletű vegyület] és 38 mg (2R-cisz)-tetrahidro-4-(6-metoxi-9H-purin-9-il)-2-furán-metanolt [(XI) képletű vegyület] kapunk.

(XI): UV: $\lambda_{\max}$ (MeOH) 249 nm; UV: $\lambda_{\max}$ (pH 1) 250 nm.

13. példa

63 mg 2-amino-6-klór-purin, 100 mg kálium-karbonát, 97 mg 18-korona-6-éter és 10 ml dimetil-formamid elegyét argonatmoszférában szobahőmérsékleten 60 percen át keverjük. Az oldathoz 100 mg (2R-transz)-tetrahidro-4-[[[(4-metil-fenil)-szulfonil]-oxi]-2-furán-metanol 2 ml dimetil-formamiddal képezett oldatát csepegtetjük keverés közben. A reakcióelegyet $80\,^{\circ}\text{C}$ -ra melegítjük és ezen a hőmérsékleten egy éjjelen át keverjük. Az oldószert vákuumban eltávolítjuk, a szilárd maradékot oszlopkromatográfiával tisztítjuk; eluálószerként 5:95 arányú metanol/metilén-klorid elegyet alkalmazunk. Az izolált anyagot fordított fázisú HPLC segítségével tovább tisztítjuk; eluálószerként gradiens szerint acetonitril-víz elegyet alkalmazunk. Fehér szilárd anyag alakjában 30 mg (2R-cisz)-4-(2-amino-6-klór-9H-purin-9-il)-tetrahidro-2-furán-metanolt kapunk [(VIII) képletű vegyület].

UV: $\lambda_{\max}$ (EtOH) 221 nm, 240 nm, 303 nm.

14. példa

4,35 g (3R-cisz)-9-[tetrahidro-5-(dimetoxi-metil)-3-furanil]-9H-purin-6-amin és 200 ml 0,1 mólos oxálsav oldatát 18 órán át visszafolyatós hűtő alkalmazása mellett forraljuk és így módon (2R-cisz)-4-(6-amino-9H-purin-9-il)-tetrahidro-2-furán-karbaldehidet kapunk [(VII) képletű vegyület]. A reakcióelegyet szobahőmérsékletre hagyjuk lehűlni, majd a (VII) képletű vegyületet tartalmazó oldatot 1 n nátrium-hidroxid-oldattal semlegesítjük. A kapott elegyhez 50 mg PtO_2 -ot adunk és hidrogénatmoszférában 48 órán át keverjük. Az elegyet szűrjük, a szűrletet bepároljuk, a maradékot oszlopkromatográfiás úton tisztítjuk és 5:95 arányú metanol/metilén-klorid eleggyel eluáljuk. Fehér szilárd anyag alakjában 2,0 g (2R-cisz)-4-(6-amino-9H-purin-9-il)-tetrahidro-2-furán-metanolt kapunk [(Ia) képletű vegyület]. A terméket kívánt esetben metanolos átkristályosítással tovább tisztíthatjuk.

15. példa

170 mg (2R-cisz)-4-(2-amino-6-klór-9H-purin-9-il)-tetrahidro-2-furán-metanolt 25 ml 1 n sósavban 3 órán át visszafolyatós hűtő alkalmazása mellett forralunk. A reakcióelegyet 40%-os kálium-hidroxid-oldattal semlegesítjük, majd bepároljuk. A fehér szilárd maradékot fordított fázisú HPLC-kromatográfiával tisztítjuk; az eluálást gradiens szerint acetonitril-víz elegyekkel végzzük el. Fehér szilárd anyag alakjában 65 mg (3R-cisz)-2-amino-1,9-dihidro-9-[tetrahidro-5-(hidroximetil)-3-furanil]-6H-purin-6-ont kapunk [(Ib) képletű vegyület]. Op.: $229\text{--}230\,^{\circ}\text{C}$.

UV: $\lambda_{\max}$ (pH 0) 205 nm, 253 nm 278 nm; UV: $\lambda_{\max}$ (pH 6) 252 nm, 270 nm; UV: $\lambda_{\max}$ (pH 13) 255 nm, 268 nm.

16. példa

427 mg (2R-cisz)-4-amino-tetrahydro-2-furán-metanol, 540 mg 2-amino-5-nitro-6-klór-4(3H)-pirimidinon, 3,5 ml trietil-amin és 5 ml dimetil-formamid elegyet 6 órán át 60 °C-on melegítjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékletre hűtjük, majd szilikagél jelenlétében bepároljuk. A maradékot szilikagéloszlopra viszszük fel és előbb 5:1 arányú metilén-klorid/metanol eleggyel, majd 3:1 arányú metilén-klorid/metanol eleggyel eluáljuk. 730 mg (XII) képletű vegyületet kapunk.

200 mg (XII) képletű vegyületet 75 mg PtO₂-dal és 50 ml 1:3 térfogatarányú hangyasav-metanol-oldattal elegyítünk és 48 órán át 3,75 bar nyomáson hidrogénezünk. Az elegyet szűrjük, a szűrletet bepároljuk; (XIII) képletű vegyületet kapunk. A maradékot 5 ml dimetil-formamiddal, 5 ml ortohangyasav-trietil-észterrel és 200 mg p-toluolszulfonsavval elegyítjük és 4 órán át 80 °C-on melegítjük. Az oldatot bepároljuk, a maradékot 10 ml 0,5 n sósavval 4 órán át keverjük, majd semlegesítjük és bepároljuk. Tisztítás után (Ib) képletű vegyületet kapunk. Kitermelés: 47% [a (XII) képletű vegyületre vonatkoztatva].

17. példa

Az (Ia) és (Ib) képletű vegyület HIV-ellenes aktivitását Mitsuya és tsai módszerével határozzuk meg [Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83, 1911 (1986)].

A sejteket az (Ia) vagy (Ib) képletű vegyülettel vagy 3-azido-2,3-didezoxi-timidinnel (AZT) hozzuk össze és a túlélő sejteket 7 nap elteltével meghatározzuk.

Az eredményeket az 1. ábrán foglaljuk össze. A fekete oszlopok a túlélő, HIV (HTLV-III) jelenlétében kezelt sejteket jelzik. A fehér oszlopok a túlélő, vírus távollétében kezelt sejtekre vonatkoznak.

Az (Ia) és (Ib) képletű vegyület anti-HIV-aktivitása az in vivo HIV ellen hatékony ismert retrovírusellenes szerek (különösen AZT) aktivitásával egyenértékű.

18. példa

(Ia) és (Ib) képletű vegyület HIV-ellenes aktivitásának vizsgálata ELISA-tesztrendszerben.

Az (Ia) és (Ib) képletű vegyület HIV-ellenes aktivitását az ELISA-teszt (Enzyme Linked Immuno-adsorbent Assay) segítségével vizsgáljuk. A vírusnövekedést CD⁴⁺ T-limfocitákban a fertőzött sejtek szövettényésztének maradványában leadott antigén kimutatásával mérjük.

Magas titerű víruskészítményeket (HIV, HTLV-III, RF-sejt) H9-sejtekben 10% magzati borjúsérummal, 100 NE/ml penicillinnel és 100 µg/ml sztreptomocinnel kiegészített RPMI 1640 (Flow Laboratories) táptalajban tenyésztünk. A sejtmradványokat alacsony fordulatszám mellett végzett centrifugálással eltávolítjuk és a maradékot felhasználásig -70 °C-on tároljuk. Gazdasajtként HIV-fertőzésekkel szemben különösen érzékeny C8166 CD⁴⁺ T-sejtvonalat alkalmazunk. A sejteket 10 TCID₅₀ HIV/HTLV-III (RF)-fel 37 °C-on 90 percen át inkubáljuk, majd PBSA-val háromszor mosuk. Aliquot részeket (2•10⁵ sejt) 6 ml-es csövecskék-

ben 1,5 ml táptalajban 37 °C-on inkubálunk. A fertőzés után 72 órával a sejtenyészlet maradványait HIV-antigénre azonnal megvizsgáljuk.

Az antigén kimutatásához Coulter-féle (Luton, Egyesült Királyság) ELISA-t alkalmazunk. A teszteket a fertőzött sejtenyészlet maradványával a gyártó cég előírásai szerint végezzük el. Minden teszt sorozathoz megfelelő pozitív és negatív belső kontrollt és a nem-fertőzött sejtek maradványából származó kontrollt is elvégezzük. A tenyésztetlemezeket megfelelő spektrofotometriás detektorrendszerrel értékeljük ki.

Az (Ia) vegyülettel és ddA-val (ismert HIV-ellenes szer) végzett ELISA-teszt eredményeit az alábbi táblázatban foglaljuk össze.

IC ₅₀ (µmól)	Tesztvegyület
3-10	(Ia)
1-3	ddA

A fenti tesztrendszerben az (Ia) képletű vegyület az ismert HIV-ellenes szerhez (ddA) hasonló vírusellenes hatást fejt ki.

19. példa

(Ia) és (Ib) képletű vegyületet tartalmazó tabletták előállítása

A) 0,05 mg hatóanyag-tartalmú tabletták

Komponens	Mennyiség, mg/tabletta
1. (Ia) vagy (Ib) képletű vegyület	0,05
2. Vízmentes laktóz	94,00
3. Fekete vas-oxid	0,15
4. Mikrokristályos cellulóz	25,00
(Avicel PH-102)	
5. Kroszkarmellóz-nátrium, A típus	5,00
(Ac-Di-Sol)	
6. Magnézium-sztearát	0,80
Össztömeg:	125,00 mg

B) 2 mg-os tabletták

Komponens	Mennyiség, mg/tabletta
1. (Ia) vagy (Ib) képletű vegyület	2,00
2. Vízmentes laktóz	147,00
3. Kozmetikai célokra alkalmas sárga vas-oxid	0,40
4. Mikrokristályos cellulóz	40,00
(Avicel PH-102)	
5. Kroszkarmellóz-nátrium, A típus	8,40
(Ac-Di-Sol)	
6. Magnézium-sztearát	2,20
Össztömeg:	200,00 mg

20. példa

(Ia) és (Ib) képletű vegyületet tartalmazó injekciós készítmények előállítása

A) Injekciós célokra szolgáló steril por

1. (Ia) vagy (Ib) képletű vegyület, mint liofilizálható por, 10 mg/ampulla

<i>Komponens</i>	<i>Mennyiség, mg/ampulla</i>
1. (Ia) vagy (Ib) képletű vegyület	10,00
2. Mannit	50,00
3. Sósav (1 térfogat%)	
4. Injekciós célokra alkalmas víz	
a. A sósavoldatot a törzsoldat pH-jának beállításához a fagyasztva szárítás előtt alkalmazzuk.	
B) Oldatok készítésére alkalmas por	
1. (Ia) vagy (Ib) képletű vegyület,	0,5 mg/por
<i>Komponens</i>	<i>Mennyiség, mg</i>
1. (Ia) vagy (Ib) képletű vegyület	0,50
2. Vízmentes laktóz	99,50
Össztömeg:	100,00 mg

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (I) általános képletű vegyületek (mely képletben
- A jelentése 6-amino-9H-purin-9-il- vagy 2-amino-6-hidroxi-9H-purin-9-il-csoport)
- és gyógyászati lág alkalmas sóik előállítására, *azzal jellemezve*, hogy
- a) valamely (IV-1) általános képletű vegyületet (mely képletben X jelentése lehasítható csoport és C jelentése hidroxi-metil-csoport vagy maszkírozott előterméke)

adeninnel vagy guaninnel reagáltatunk és szükség esetén egy C helyén levő maszkírozott előterméket hidroxi-metil-csoporttá alakítunk; vagy

- 5 b) A helyén guanilcsoportot tartalmazó vegyületek előállítására valamely (VIII) képletű vegyületben levő klórhelyettesítőt hidrolizálunk; vagy

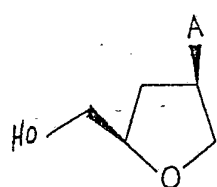
c) A helyén adenilcsoportot tartalmazó vegyületek előállítására valamely (X) képletű vegyületet ammóniával reagáltatunk; vagy

- 10 d) A helyén guanilcsoportot tartalmazó vegyületek előállítására egy (XIII) képletű vegyületet valamely orthangyasav-észterrel vagy dietoxi-metil-acetáttal reagáltatunk;

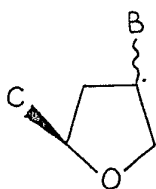
és kívánt esetben egy kapott (I) általános képletű vegyületet gyógyászati lág alkalmas sóvá alakítunk.

2. Az 1. igénypont szerinti a) eljárás (2R-cisz)-4-(6-amino-9H-purin-9-il)-tetrahydro-2-furán-metanol előállítására, *azzal jellemezve*, hogy (2R-transz)-tetrahydro-4-[[[4-metil-fenil]-sulfonil]-oxi]-2-furán-metanol 18-korona-6-éter és kálium-karbonát jelenlétében dimetil-formamidban adeninnel reagáltatunk.

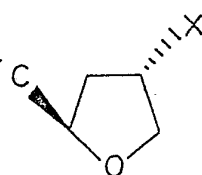
3. Eljárás gyógyászati készítmények előállítására, *azzal jellemezve*, hogy valamely, az 1. vagy 2. igénypont szerint előállított vegyületet gyógyászati segéd- vagy hordozóanyagokkal összekeverünk és galenikus formára hozunk.



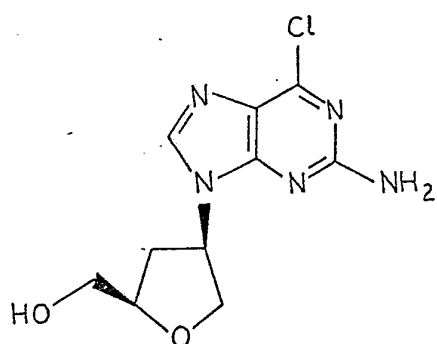
(I)



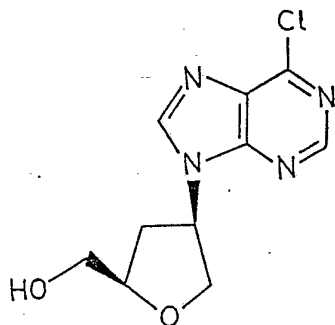
(IV)



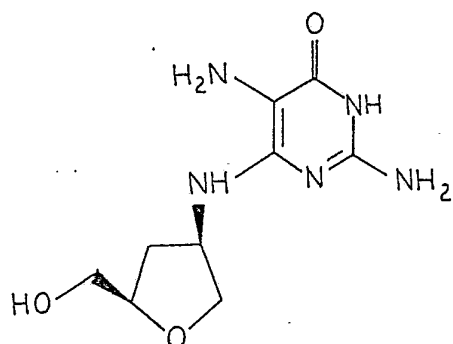
(IV-1)



(VIII)

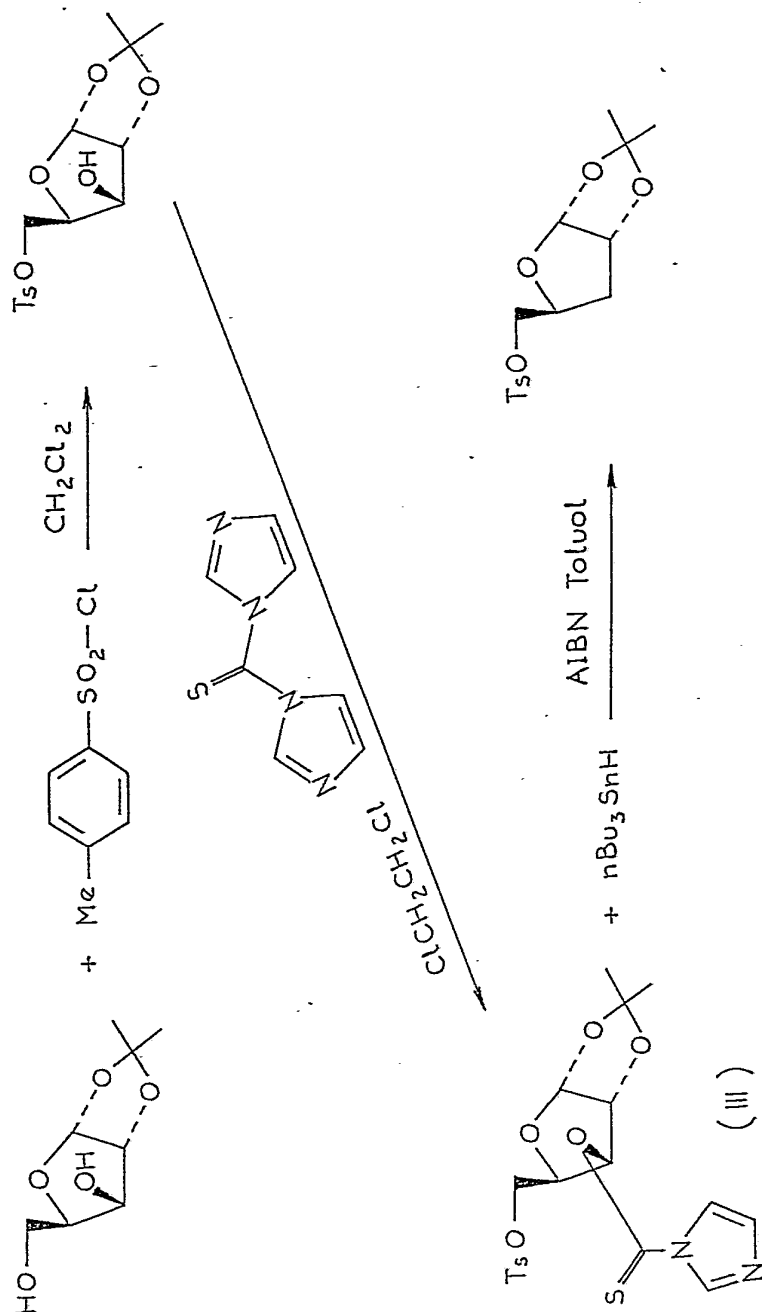


(X)

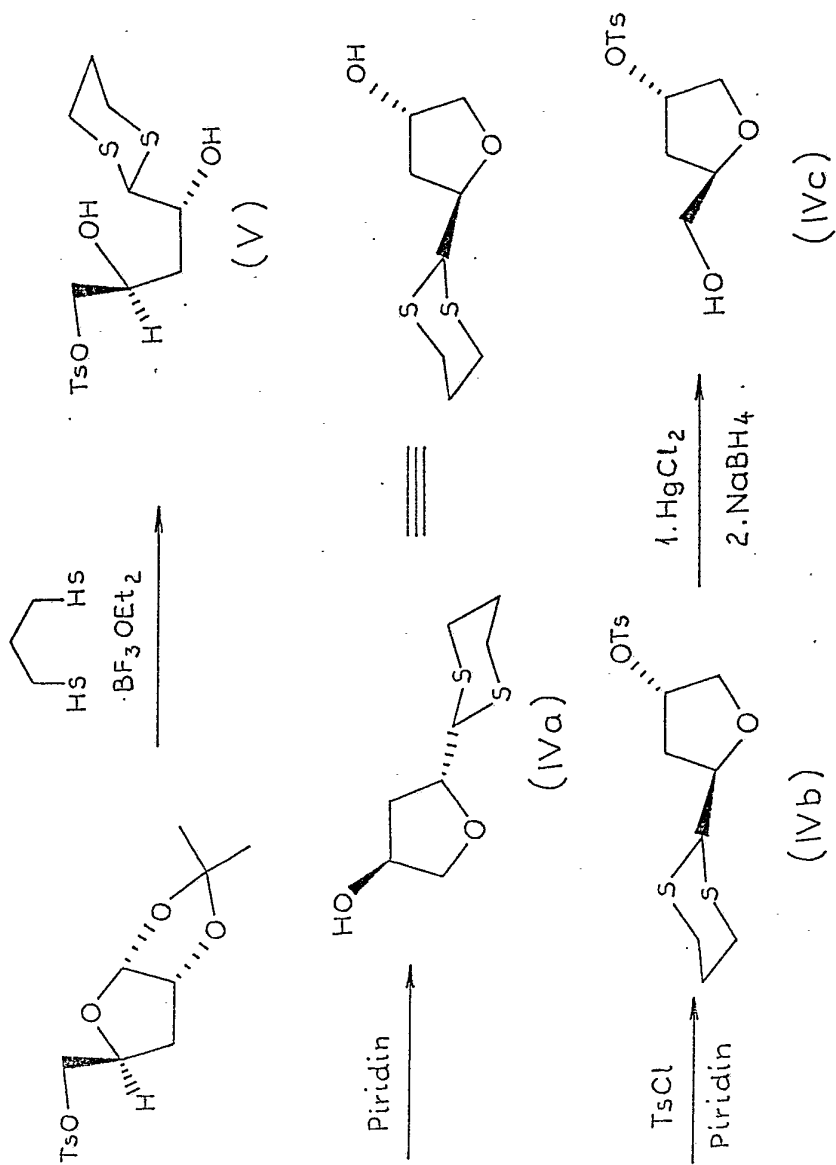


(XIII)

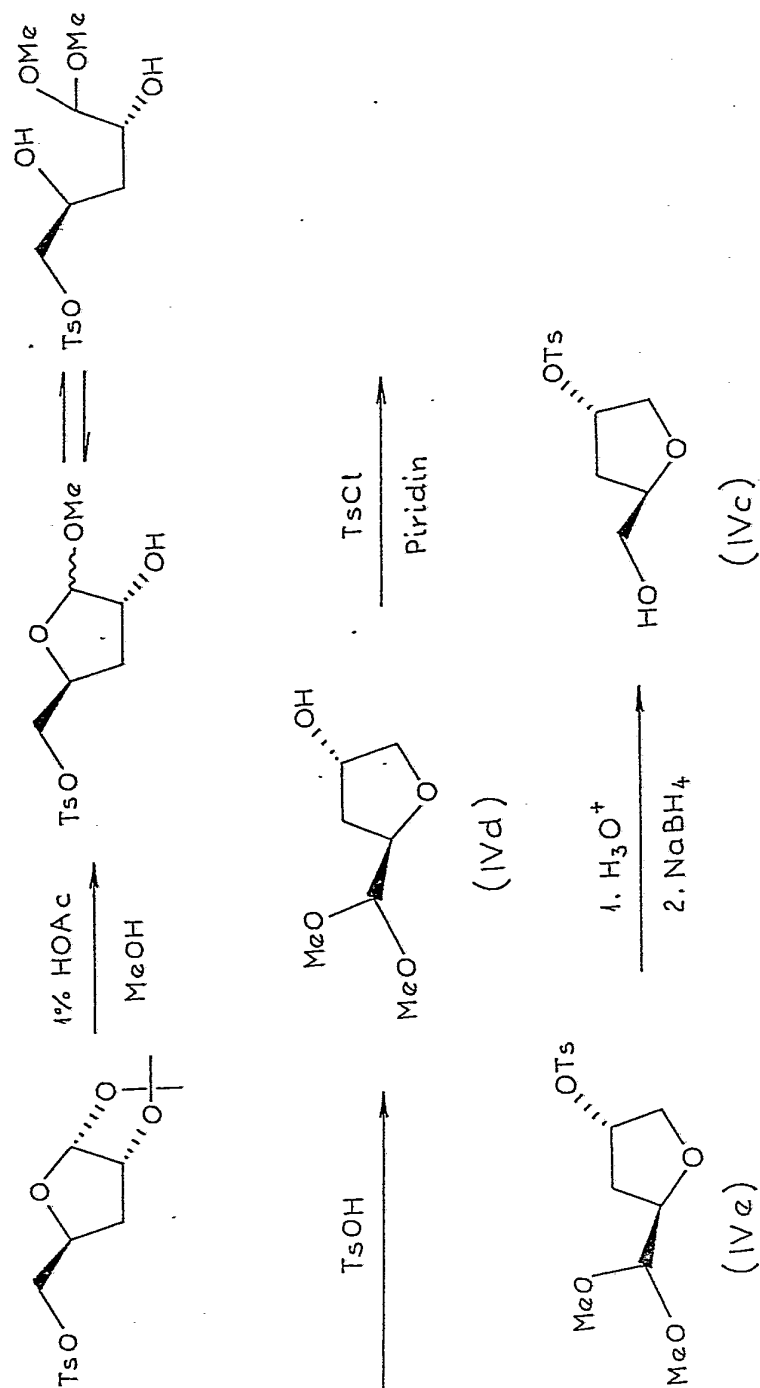
A-reakcióséma



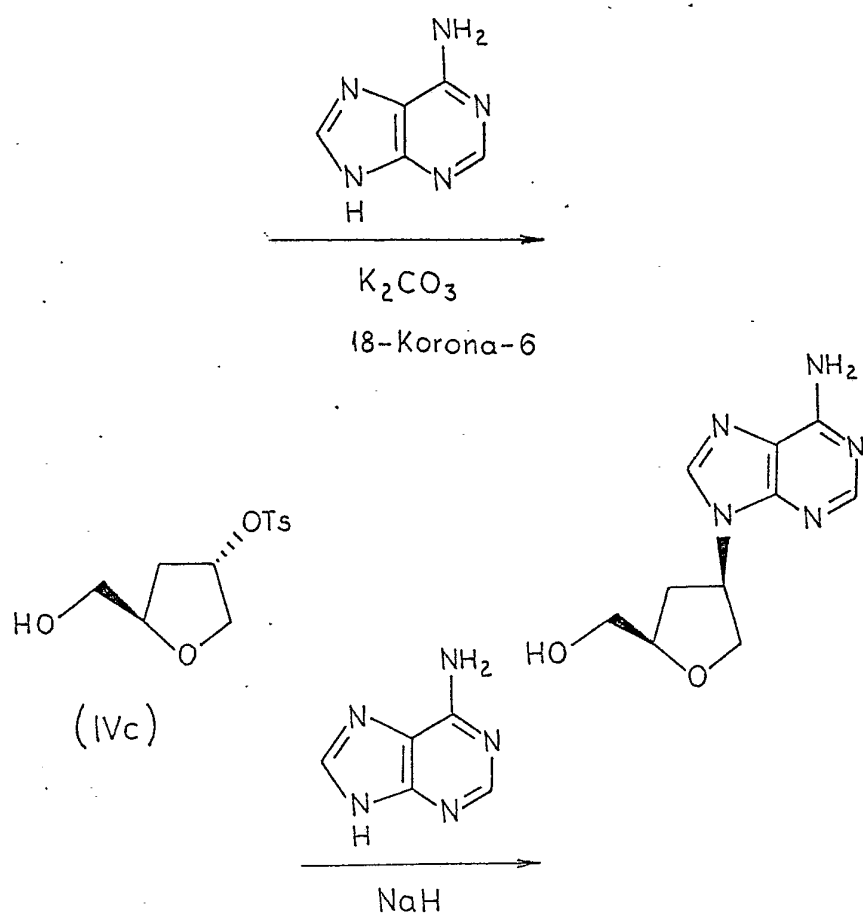
B-reakciösema



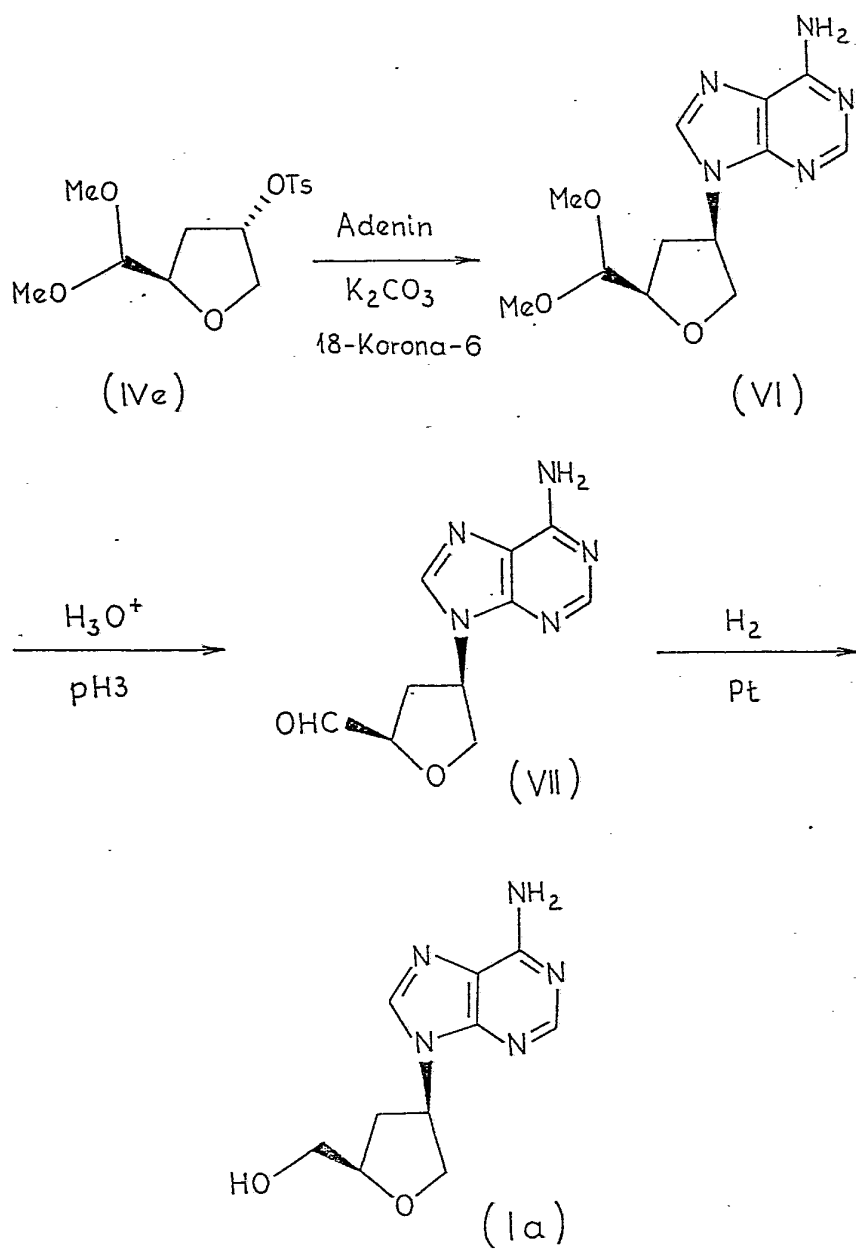
C-reakcióséma



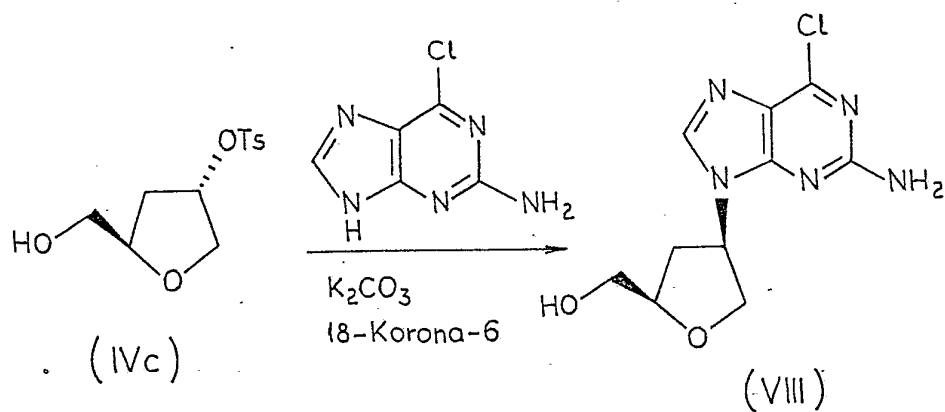
D-reakcióséma



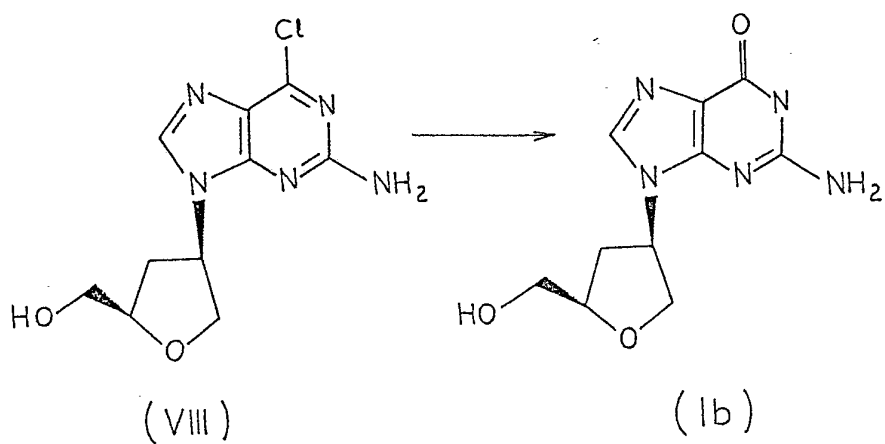
E-reakcióséma



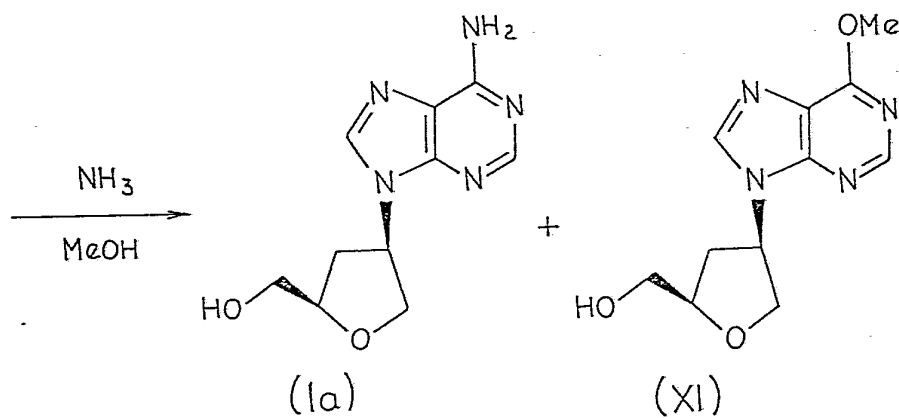
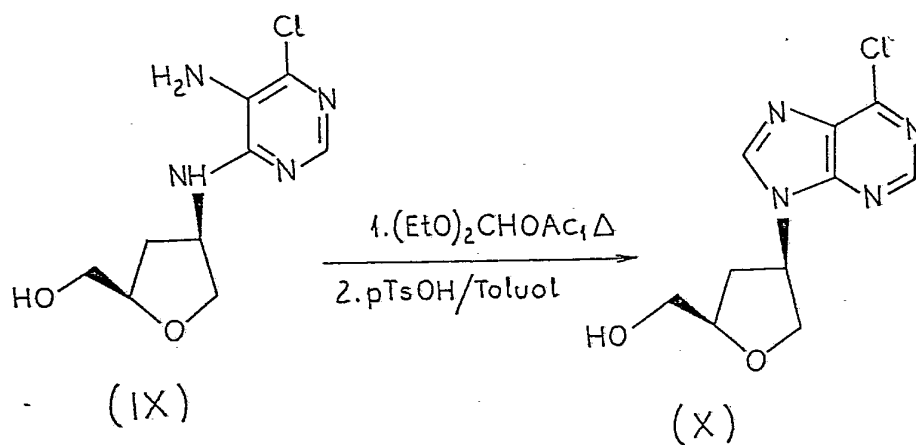
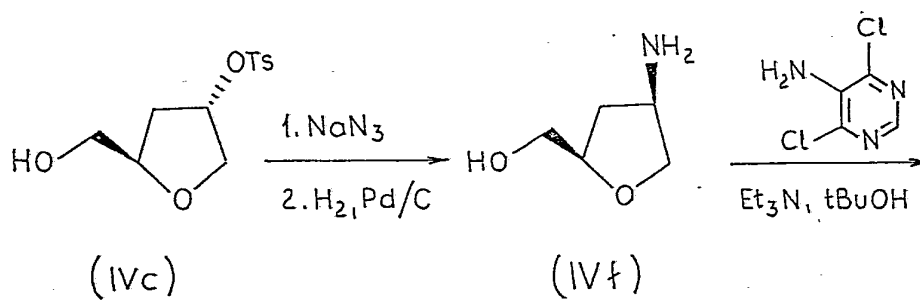
F-reakciósema



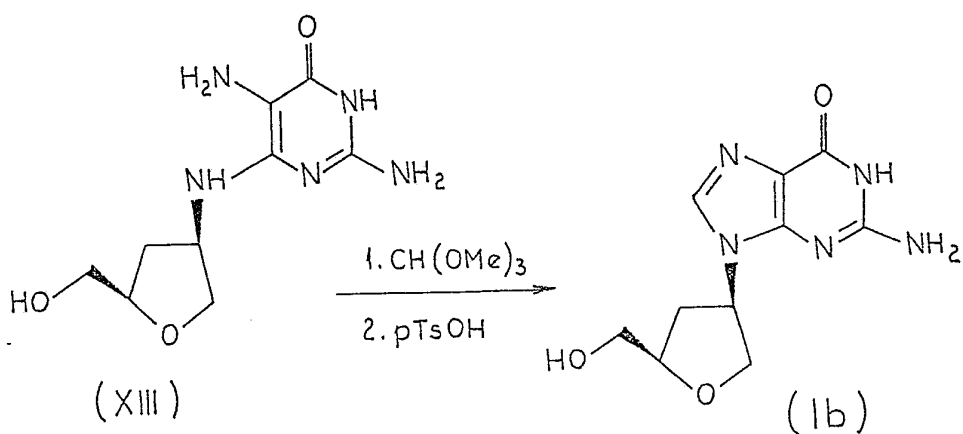
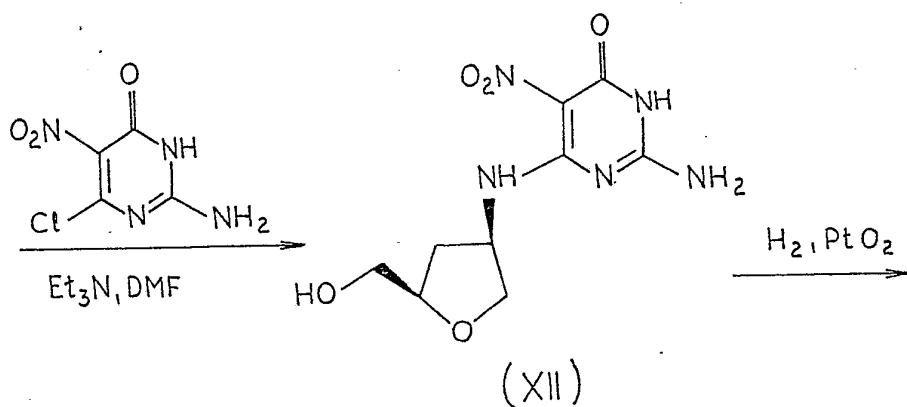
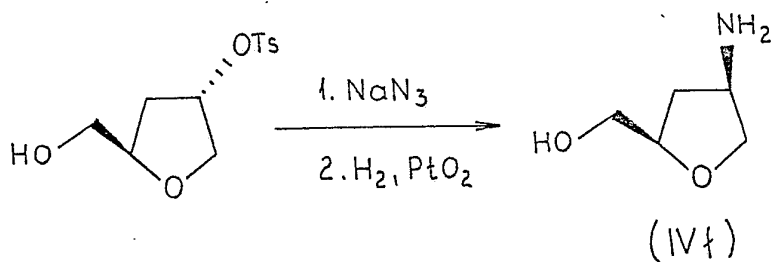
G-reakciósema



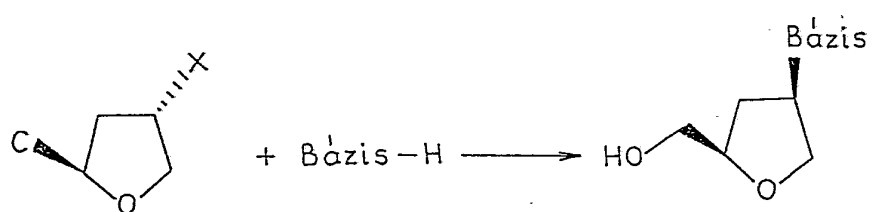
H-reakciósema



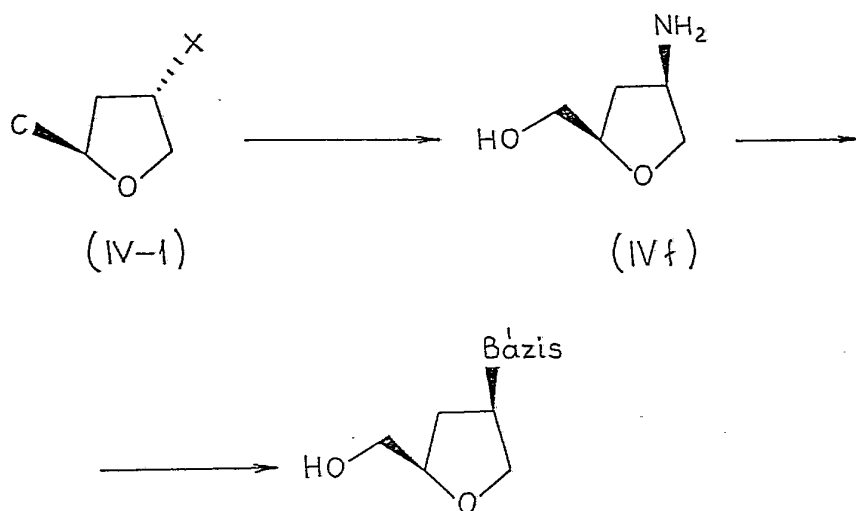
I - reakciósema



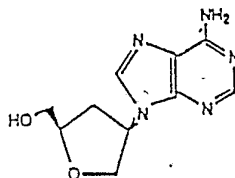
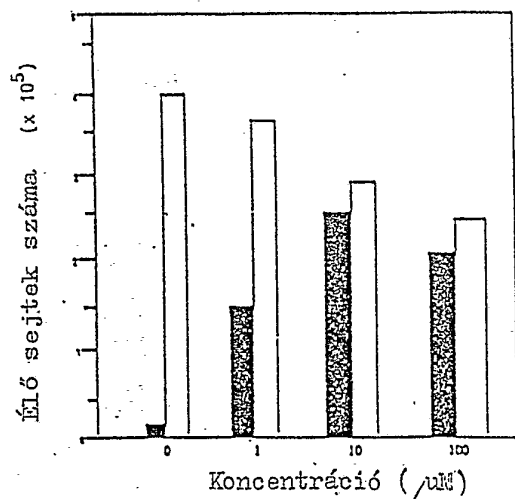
1. reakcióegyenlet



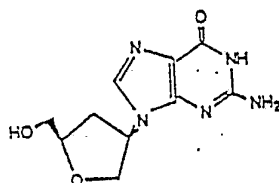
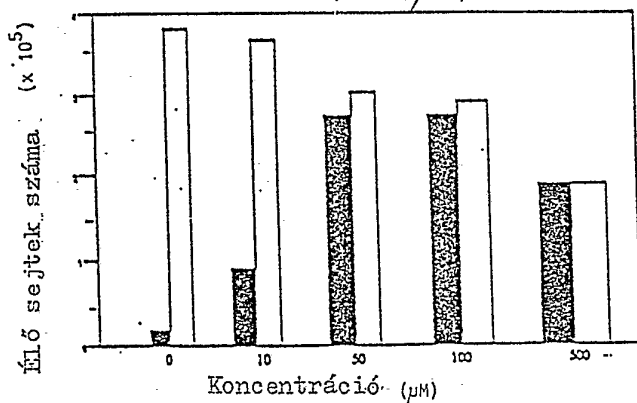
2. reakcióegyenlet



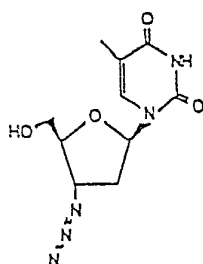
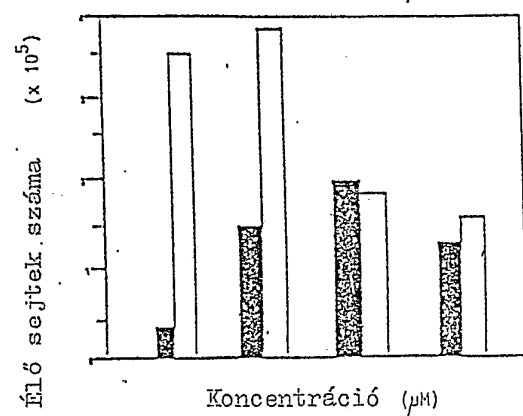
1. ábra



■ virussal fertőzött sejtek
□ nem fertőzött sejtek



■ virussal fertőzött sejtek
□ nem fertőzött sejtek



■ virussal fertőzött sejtek
□ nem fertőzött sejtek