

2854/95



KÖZZÉTÉTEL  
KIVONAT

61.166/SM

72459

KIVONAT

Purinok és pirimidinek telítetlen foszfonát-származékai

Merrell Dow Pharmaceuticals Inc., CINCINNATI, Ohio,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

A bejelentés napja: 1994. 02. 25.

Elsőbbsége: 1993. 04. 01. (93/400842.6) EURÓPA

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US94/01837

A nemzetközi közzététel száma: WO 94/22882

A találmány tárgya új (I) és (II) általános képletű vegyületek, ezek sztereo-izomer formái, tautomer formái, valamint gyógyszerészetileg elfogadható sói, ahol az általános képletben

$X_1$  hidrogénatom vagy aminocsoport;

$X_2$  hidroxilcsoport vagy aminocsoport;

$X_3$  hidrogénatom vagy metilcsoport; és

$X_4$  aminocsoport vagy hidroxilcsoport;

$Z$   $\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{O}$ -csoport vagy  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ -csoport vagy

$Z$ -nek nincs jelentése;

$W$   $W_a$ ,  $W_b$ ,  $W_c$ ,  $W_d$  vagy  $W_e$  képletű csoport, ahol

$R_1$  és  $R_2$  egymástól függetlenül hidrogénatom, fluoratom vagy  $\text{CH}_2\text{OH}$ -csoport;

$T$  elhagyott vagy  $T'$  vagy  $T''$  képletű csoport, ahol

$T'$   $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}=\text{CH}$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$ -csoport,

$\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})$ -csoport, vagy  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{F})$ -csoport és

T'' CH=CH-CH(OH)-csoport, CH=CH-CH(CH<sub>2</sub>OH)-csoport,  
 CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport, CH<sub>2</sub>OCH(CH<sub>2</sub>OH)-csoport, CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>-  
 -csoport, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OH)-csoport, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>OH)-csoport  
 vagy CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>F)-csoport és

R<sub>3</sub> és R<sub>4</sub> egymástól függetlenül hidroxilcsoport, OR<sub>5</sub> képletű csoport, OR<sub>5</sub>  
 képletű csoport vagy -O-CH(R<sub>6</sub>)-O-C(O)R<sub>5</sub> képletű csoport, azzal a fel-  
 téttel, hogy amennyiben R<sub>3</sub> vagy R<sub>4</sub> valamelyike hidroxilcsoport, a  
 másik nem lehet -O-CH(R<sub>6</sub>)-OC(O)R<sub>5</sub> képletű csoport, továbbá ahol R<sub>5</sub>  
 és R<sub>6</sub> egymástól függetlenül 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy  
 benzilcsoport és R<sub>6</sub> hidrogénatom vagy 1-10 szénatomszámú alkil-  
 csoport.

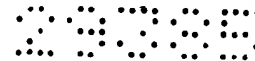
A találmány szerinti vegyületek alkalmasak DNS vírus által okozott vírusfertő-  
 zés, retrovírus által okozott vírusfertőzés és tumorképződésben szerepet játszó vírus  
 által okozott vírusfertőzés kezelésére.

A találmány szerinti vegyületeket gyógyszerészetben alkalmazzák.

Jell. szám: (I), (II)

2854/95  
61.166/SM

S.B.G. & K.  
Nemzetközi  
Szabadalmi Iroda  
H-1062 Budapest, Andrásy út 113.  
Telefon: 34-24-950, Fax: 34-24-333



A

KÖZZÉTÉTELI  
PÉLDÁNY

Purinok és pirimidinek telítetlen foszfonát-származékai

Merrell Dow Pharmaceuticals Inc., CINCINNATI, Ohio,

AMERIKAI EGYESÜLT ÁLLAMOK

Feltalálók: CASARA Patrick, ITTENHEIM,

NAVÉ Jean-Françoise, STRASBOURG,

HALAZY Serge, LAGARRIGUE,

FRANCIAORSZÁG

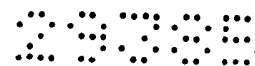
A bejelentés napja: 1994. 02. 25.

Elsőbbsége: 1993. 04. 01. (93/400842.6) EURÓPA

A nemzetközi bejelentés száma: PCT/US94/01837

A nemzetközi közzététel száma: WO 94/22882

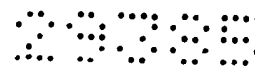
A találmány tárgya bizonyos telítetlen foszfonát purin- vagy pirimidin-származékok, amelyek vírusellenes szerként alkalmazhatók, továbbá eljárás ezek előállítására, illetve alkalmazására mint vírusellenes hatóanyag, amely hatóanyag alkalmas DNS vírusok (herpesz, 1 és 2 vírusok, citomegalovírus, varicella-zoster vírus, Epstein-Barr vírus) kezelésére, továbbá retrovírusok (humán immunhiány 1 és 2 vírusok, valamint visna vírus) kezelésére, valamint tumor képződésben szerepet játszó vírusok kezelésére.



Bizonyos purin vagy pirimidin bázisok vírusellenes és tumor ellenes aktivitást fejtenek ki. Például ezt leírták az EP 0,173,624 számú, az EP 0,253,412 számú, az EP 0,353,955 számú, az EP 0,481,214 számú szabadalmi bejelentésekben, a WO 92/01698 közzétételi számú bejelentésben, továbbá a *J. Org. Chem.* 57: 2320-2327 (1992) közleményben. A találmány szerinti vegyületek új anyagok, amelyek purin és pirimidin bázisokból leszármaztathatóak.

A találmány tárgya új (I) és (II) általános képletű vegyületek, ezek sztereoizomer formái, tautomer formái, valamint gyógyszerészetileg elfogadható sói, ahol az általános képletben

- $X_1$  jelentése hidrogénatom vagy aminocsoport;
- $X_2$  jelentése hidroxilcsoport vagy aminocsoport;
- $X_3$  jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport; és
- $X_4$  jelentése aminocsoport vagy hidroxilcsoport;
- $Z$  jelentése elhagyott vagy  $CH_2$ -csoport,  $CH_2CH_2$ -csoport,  $CH_2O$ -csoport vagy  $CH_2OCH_2$ -csoport;
- $W$  jelentése  $W_a$  általános képletű csoport,  $W_b$  általános képletű csoport,  $W_c$  általános képletű csoport,  $W_d$  általános képletű csoport vagy  $W_e$  általános képletű csoport, ahol
- $R_1$  és  $R_2$  jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, fluoratom vagy  $CH_2OH$ -csoport;
- $T$  jelentése elhagyott vagy  $T'$  vagy  $T''$  általános képletű csoport, ahol
- $T'$  jelentése  $CH_2CH_2$ -csoport,  $CH=CH$ -csoport,  $CH_2CH(OH)$ -csoport,  $CH_2CH(CH_2OH)$ -csoport, vagy  $CH_2CH(CH_2F)$ -csoport és
- $T''$  jelentése  $CH=CH-CH(OH)$ -csoport,  $CH=CH-CH(CH_2OH)$ -csoport,  $CH_2OCH_2$ -csoport,  $CH_2OCH(CH_2OH)$ -csoport,  $CH_2CH(CH_2OH)CH_2$ -



-csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})$ -csoport  
vagy  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{F})$ -csoport és

$R_3$  és  $R_4$  jelentése egymástól függetlenül hidroxilcsoport,  $\text{OR}_5$  általános képletű csoport,  $\text{OR}_5$  általános képletű csoport vagy  $-\text{O}-\text{CH}(\text{R}_6)-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5$  általános képletű csoport, azzal a feltétellel, hogy amennyiben  $R_3$  vagy  $R_4$  valamelyikének jelentése hidroxilcsoport, a másik jelentése nem lehet  $-\text{O}-\text{CH}(\text{R}_6)-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5$  általános képletű csoport, továbbá ahol  $R_5$  és  $R_5$  jelentése egymástól függetlenül 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport és  $R_6$  jelentése hidrogénatom vagy 1-10 szénatomszámú alkilcsoport,

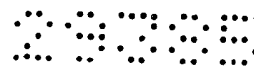
azzal a feltétellel, hogy amennyiben T jelentése  $\text{CH}=\text{CH}$  képletű csoport vagy  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport, W jelentése  $W_c$  általános képletű csoport és Z jelentése  $\text{CH}_2$ -csoport, akkor egyidejűleg  $X_1$  jelentése nem aminocsoport és  $X_2$  jelentése nem hidroxilcsoport;

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben W jelentése  $W_e$  általános képletű csoport, akkor Z jelentése elhagyott vagy  $\text{CH}_2$ -csoport;

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben T jelentése elhagyott, abban az esetben W jelentése nem  $W_c$  általános képletű csoport;

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben Z jelentése  $\text{CH}_2$ -csoport és W jelentése  $W_a$  általános képletű csoport, akkor T jelentése nem lehet  $\text{CH}=\text{CH}$ -csoport; és azzal a feltétellel, hogy amennyiben Z jelentése elhagyott és W jelentése  $W_c$  általános képletű csoport, akkor T jelentése nem lehet  $\text{CH}=\text{CH}$ -csoport.

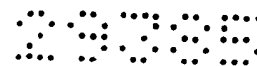
A találmány tárgya továbbá az (I) és (II) általános képletű vegyületek alkalmazása gyógyszerkészítmény előállítására, amely vírusos fertőzések kezelésére alkalmas.



A találmány szerinti vegyületek az (I) általános képletű purin-származékok vagy a (II) általános képletű pirimidin-származékok, amelyeket a leírásban nuklein-bázisként jelölünk, és amelyek a (33) és (34) általános képletű csoportokat tartalmaznak (a szaggatott vonal a molekula többi részének kapcsolódását jelöli) továbbá molekulák foszfonát-csoporttal rendelkeznek. A purin- vagy pirimidin-származékhoz a foszfonát-csoportot T, W és Z általános képletű csoportok kapcsolják. Ilyen kapcsoló csoportok lehetnek például a T általános képletű csoport, ahol T jelentése T'' és  $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})$  képletű csoport, W jelentése  $W_a$  általános képletű csoport, ahol  $R_1$  és  $R_2$  jelentése egyaránt hidrogénatom és Z jelentése  $\text{CH}_2\text{O}$ -csoport.

A (III) általános képletű vegyületek, amelyek a találmány szerinti kisebb molekulák, előnyösek: ahol az általános képletben amennyiben W jelentése  $W_a$  vagy  $W_b$  általános képletű csoport és T jelentése T'' általános képletű csoport, akkor Z jelentése nem  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ -csoport, továbbá amennyiben W jelentése  $W_c$  vagy  $W_d$  általános képletű csoport és T jelentése T' általános képletű csoport, akkor Z jelentése nem  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ -csoport, végül amennyiben W jelentése  $W_c$  vagy  $W_d$  általános képletű csoport és T jelentése T'' általános képletű csoport, akkor Z jelentése  $\text{CH}_2$ -csoport.

Egyéb előnyös találmány szerinti vegyületek, amelyekben az általános képletben T jelentése T' általános képletű csoport, előnyösebben T' jelentése  $\text{CH}=\text{CH}$ -csoport; továbbá ahol az általános képletben T jelentése T'' általános képletű csoport, előnyösebben T'' jelentése  $\text{CH}_2\text{OCH}$ -csoport; továbbá ahol az általános képletben W jelentése  $W_a$ ,  $W_c$  vagy  $W_d$  általános képletű csoport; előnyös vegyületek ezen túlmenően, amelyekben  $R_1$  és  $R_2$  jelentése egyaránt hidrogénatom; és/vagy Z jelentése  $\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport vagy  $\text{CH}_2\text{O}$ -csoport. Az (I) általános képletű vegyület előnyösebb mint a (II) általános képletű vegyület. Előnyös pirimidin-típusú bázisok a



citozil, az uracil és a timin. Előnyös purin-típusú bázisok a 2,6-diamino-purin (DAP), a guanin és az adenin.

A fenti feltételek „amennyiben T jelentése CH=CH vagy CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-csoport, W jelentése W<sub>c</sub> általános képletű csoport és Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport, akkor X<sub>1</sub> jelentése nem aminocsoport és X<sub>2</sub> jelentése nem hidroxilcsoport” azt jelzik, hogy az igénypontokból kizárjuk azokat a vegyületeket, amelyekben guanin bázis található (egyidejűleg X<sub>1</sub> jelentése aminocsoport és R<sub>2</sub> jelentése hidroxilcsoport). Ez a feltétel kizárja azt a két vegyületet, amely esetében a bázis guanin: azaz amennyiben (1) T jelentése CH=CH-csoport, W jelentése W<sub>c</sub> általános képletű csoport és Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport, továbbá (2) amennyiben T jelentése CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-csoport, W jelentése W<sub>c</sub> általános képletű csoport és Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport.

Az 1-10 szénatomszámú alkilcsoport vagy 1-15 szénatomszámú alkilcsoport elnevezés alatt sorrendben olyan alkilcsoportokat értünk, amelyek 1-10 szénatomot, illetve 1-15 szénatomot tartalmaznak. Az alkilcsoportok lehetnek egyenes vagy elágazó szénláncúak, mint például terc-butil-csoport. Az 1-15 szénatomszámú alkilcsoport körében előnyösek az 1-10 szénatomszámú alkilcsoportok, legelőnyösebbek az 1-6 szénatomszámú alkilcsoportok, és különösen előnyösek az 1-3 szénatomszámú alkilcsoportok. Az 1-10 szénatomszámú alkilcsoportok körében előnyös az 1-6 szénatomszámú alkilcsoport és legelőnyösebb az 1-3 szénatomszámú alkilcsoport.

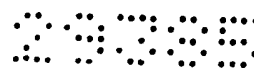
A „gyógyszerészetileg elfogadható só” elnevezés alatt savaddíciós sókat, valamint fém- és amin-sókat értünk, amelyek nem-toxikusak és alkalmas származékok a gyógyszerkészítmény előállításában, amely gyógyszerkészítmény végső felhasználásra kerül.

Gyógyszerészetileg elfogadható savaddíciós sók lehetnek ismert nem-toxikus szerves és szervetlen savakkal képzett addíciós sók, amelyeket az (I) általános



képletű és (II) általános képletű bázikus vegyületekkel alakítunk ki. A megfelelő só képzésére alkalmazható szerves savak például a mono-, di- és trikarbonsavak, mint például az ecetsav, a glikolsav, a tejsav, a piruvinsav, a malonsav, a borostyánkősav, a glutársav, a fumársav, az almasav, a borkősav, a citromsav, az aszkorbinsav, a maleinsav, a hidroximaleinsav, a benzoésav, a hidroxibenzoésav, a fenil-ecetsav, a fahéjsav, a szalicilsav és a 2-fenoxibenzoésav. Egyéb alkalmazható sóképző szerves savak lehetnek például a szulfonsavak, mint például a metánszulfonsav és a 2-hidroxietánszulfonsav. Képezhetünk mono- vagy di-savaddíciós sókat és ezek a sók hidratált vagy lényegében vízmentes formában is képezhetők. A savaddíciós sókat szokásos eljárással állíthatjuk elő, például a szabad bázist valamely vizes vagy vizes-alkoholos oldatban oldjuk vagy más alkalmas oldószert használunk, amely oldószer a megfelelő savat tartalmazza, majd az oldatot bepároljuk, és így a terméket izoláljuk vagy más eljárás szerint a szabad bázist szerves oldószerben reagáltatjuk és ebben az esetben a só forma közvetlenül csapadékként kiválik vagy az oldat bepárlásával kinyerhető. Általában a savaddíciós sók a találmány szerinti vegyületek esetében kristályos anyagok, amelyek vízben és különféle hidrophil formában oldhatók, és amelyek magasabb olvadáspontúak mint az alapvegyület és megnövelt stabilitással rendelkeznek.

A gyógyszerészetileg elfogadható fém- és amin-sók olyan sók, amelyek szobahőmérséklet körülményei között stabilak és amelyekben a kation nem lényegesen befolyásolja a só biológiai aktivitását. Alkalmas fémsók lehetnek a nátrium-só, kálium-só, kalcium-só, bárium-só, cink-só és ammónium-só. Előnyös sók a nátrium-só és a kálium-só. Alkalmas amin-sókat úgy állíthatunk elő, hogy olyan aminokat alkalmazunk, amelyek megfelelően bázikusak ahhoz, hogy stabil sót képezzenek. Előnyösen alkalmazható aminok, amelyeket a gyógyszerészeti kémiában általában használnak mivel, hogy ezek alacsony toxicitásúak és gyógyszerészeti felhasználás-



ra elfogadhatók. Ilyen aminok például a trialkil-aminok, mint például a trietilamin és egyéb aminok, például a prokain, a dibenzil-amin, az N-benzil-béta-fenetil-amin, az efenamin, az N,N'-dibenzil-etilén-diamin, a dehidro-abietilamin, az N-etil-piperidin, a benzilamin és a diciklohexil-amin.

Az (I) és (II) általános képletű vegyületek „sztereoizomer formái” elnevezés alatt a vegyületek valamennyi izomerjét értjük, amely izomerek csak az atomok térbeni elhelyezkedésében térnek el egymástól. Ezek lehetnek tükörképi izomerek (enantiomerek), geometriai izomerek (cisz/transz izomerek), illetve olyan esetekben, amennyiben a hatóanyag egynél több királis centrummal rendelkezik nem-tükörképi sztereoizomerek (diasztereomerek). Az izomer keverékeket a szakirodalomban ismert eljárásokkal reszolválhatjuk vagy izolálhatjuk. Ezek az eljárások lehetnek például kromatográfiás elválasztás, frakcionált kristályosítás, optikailag aktív savak alkalmazása, enzimatis részolválás és hasonló eljárások. A purin-csoportot tartalmazó vegyületek esetében a 6-helyzetben keto-enol-tautomer formák létezhetnek a pirimidin vegyületek esetében pedig amin-imin-tautomer formák állnak elő. A leírásban ugyan a „W<sub>c</sub>” általános képletű csoportot cisz-térállásban ábrázoljuk, azonban természetesen a találmány tárgykörébe beleértjük a cisz- és a transz-izomereket is.

A találmány szerinti vegyületeket a szakirodalomban ismert reakciókkal analóg kémiai reakciók segítségével állíthatjuk elő, amely reakciókban a szakirodalomban ismert reaktánsokat vagy szakirodalmi eljárásokkal könnyen előállítható reaktánsokat alkalmazunk. Az (I) általános képletű és (II) általános képletű vegyületek általános előállítási eljárását mutatjuk be az (I) reakcióvázlatban.

Hacsak másképp nem jelezzük, az alábbi reakcióvázlatokban az egyes csoportok jelentése a korábban megadott. „Pg” jelentése megfelelő védőcsoport. Alkalmass védőcsoportokat írtak le a *Protective groups in organic synthesis*, 2nd ed. Theodora W. Greene, John Wiley and sons, Inc., New York (1991) közleményben,



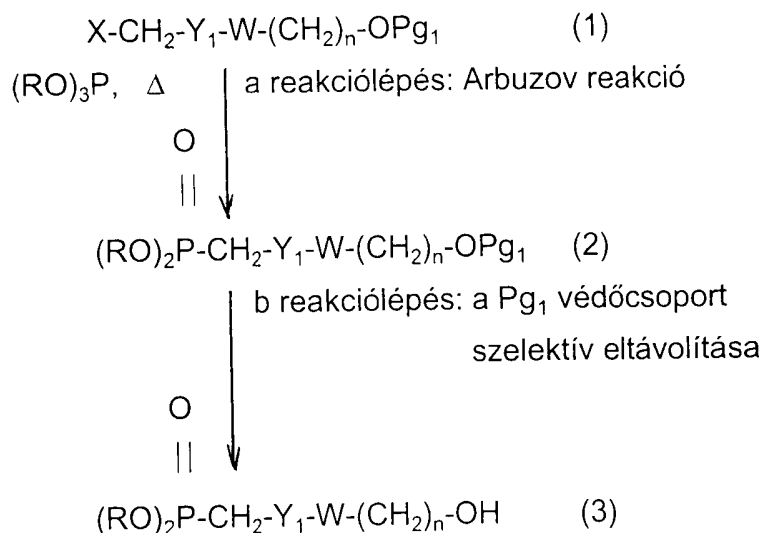
amelyet referenciaként adunk meg. Például ilyen védőcsoportok lehetnek a tetrahidro-piranyl-csoport (THP), a tercier-butil-dimetil-szilil-csoport (TBDMS), a tercier-butil-difenil-szilil-csoport (TBDPS). A Pg jelezés alsó indexszáma azt mutatja, hogy a védőcsoportok eltérőek lehetnek és szelektíven lehasíthatók, miközben más védőcsoportok érintetlenek maradnak. A „B” elnevezés alatt vagy a „BASE” elnevezés alatt a fent megadott nuklein-bázisokat értjük. A „DEAD” jelzés alatt dietil-azodikarboxilát-csoportot értünk. A „TMS Br” elnevezés alatt trimetil-szilil-bromidot értünk. A „Ph” jelzés alatt fenilcsoportot értünk. A „K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>” elnevezés alatt kálium-karbonátot értünk. A „DMF” elnevezés alatt dimetil-formamidot értünk. Az M<sup>+</sup> elnevezés alatt gyógyszerészetileg elfogadható alkálifém kationt értünk. Az „n” jelzés alatt 1 vagy 2 egész számot értünk.

Az I-III. reakcióvázlatokon bemutatjuk a (3), (6) és (9) általános képletű közbenső termékek előállítási eljárását, amelyeket az A reakcióvázlatban alkalmazunk. A IV-VI. reakcióvázlatokban bemutatjuk a (3), (6) és (9) közbenső termékekből kiinduló szintézis eljárást. Az A reakcióvázlatban bemutatjuk az áttekintő képet, amellyel az egyes reakcióvázlatok egymáshoz illeszkednek. A B reakcióvázlatban bemutatjuk az A reakcióvázlat alternatív szintetikus eljárását, amely szintetikus eljárás az A reakcióvázlat egy részére vonatkozik. A C reakcióvázlatban bemutatjuk az A reakcióvázlat alternatív szintetikus eljárását. A D, E és F reakcióvázlatokban bemutatunk olyan eljárásokat, amelyekben az R<sub>3</sub> és R<sub>4</sub> csoportok változóak.

### I. reakcióvázlat

(3) általános képletű közbenső termék előállítási eljárása

(T jelentése telített csoport)



W jelentése  $W_a$ ,  $W_b$ ,  $W_c$  vagy  $W_d$  általános képletű csoport

$Y_1$  jelentése  $\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH(OPg}_2\text{)}$ -csoport,  $\text{OCH}_2$ -csoport,  $\text{OCH(CH}_2\text{OPg}_2\text{)}$ -csoport,  $\text{CH(CH}_2\text{OPg}_2\text{)CH}_2$ -csoport,  $\text{CH(CH}_2\text{OPg}_2\text{)}$ -csoport vagy  $\text{CH}_2\text{CH(CH}_2\text{OPg}_2\text{)}$ -csoport

n jelentése 1 vagy 2

X jelentése halogénatom (Cl, Br, I)

R jelentése 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport.

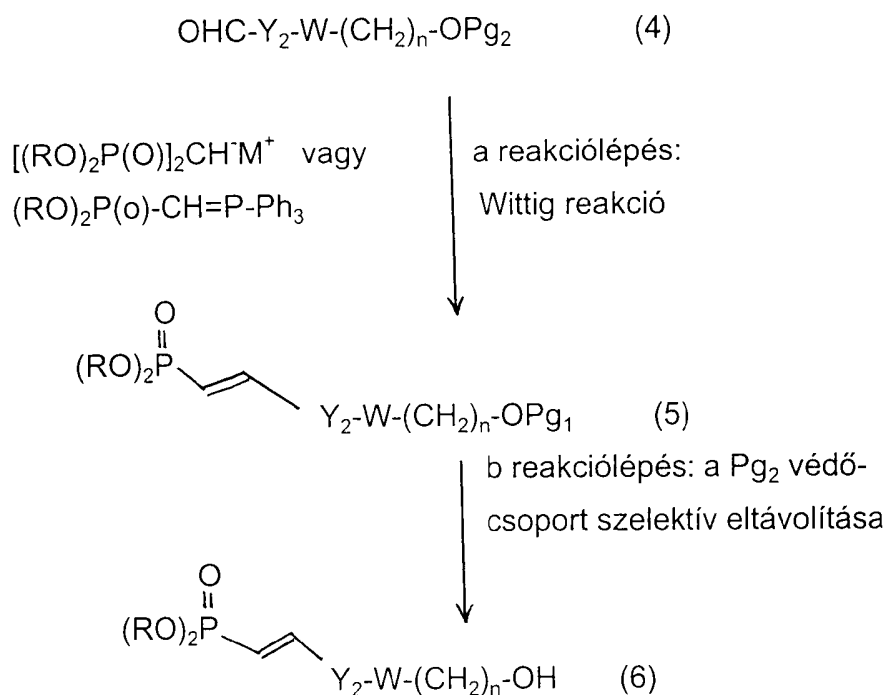
Általában a (3) általános képletű közbenső termékeket az (1) reakcióvázlat szerinti eljárással állítjuk elő, amelynek során az a reakciólépésben Arbuzov reakciót hatjunk végre úgy, hogy egy trialkil-foszfít-csoportot vagy triaril-foszfít-csoportot tartalmazó vegyületet és egy alkalmas védőcsoporttal ellátott alkohol-halogenidet, (1) általános képletű vegyületet hevítünk [Engel R. és munkatársai, *Chem. Rev.* 77: 349

(1977) és Holy A. és munkatársai, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 52: 2801 (1987)]. A  $Pg_1$  és  $Pg_2$  hidroxilcsoport védőcsoportokat úgy választjuk meg, hogy a reakció körülményei között stabilak legyenek, ezek után pedig szelektíven eltávolíthatók legyenek a b reakciólépés befejezése után, és így a (3) általános képletű közbenső terméket nyerhessük.

## II. reakcióvázlat

(6) általános képletű közbenső termék előállítása

(T jelentése telítetlen-csoport)



$Y_2$  = elhagyott vagy  $\text{CH}(\text{OPg}_2)$  általános képletű csoport vagy  $\text{CH}_2(\text{CH}_2\text{OPg}_2)$  általános képletű csoport, azzal a feltétellel, hogy amennyiben  $Y_2$  jelentése 0, abban az esetben  $W$  jelentése nem lehet  $W_c$  általános képletű csoport;

$W$  = az A reakcióvázlatban megadott;

$R$  = 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport.



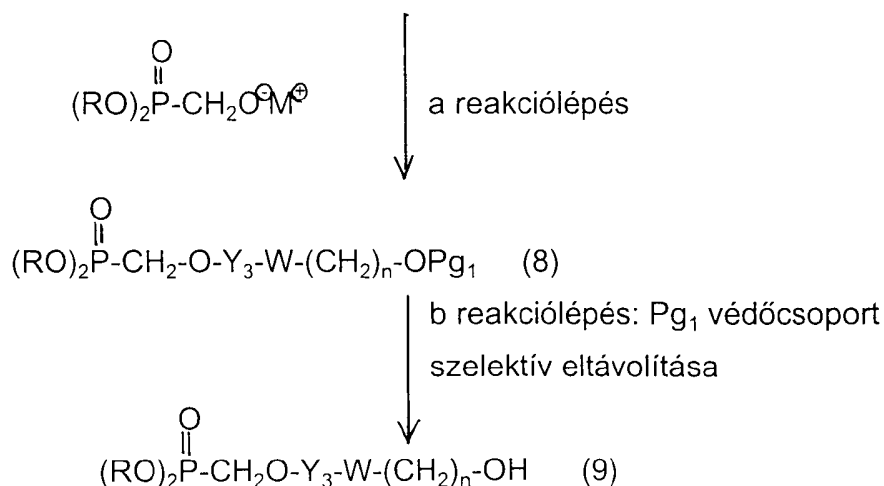
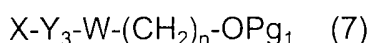
A II. reakcióvázlat szerinti eljárásban a (6) általános képletű vegyületeket Wittig típusú reakcióval állítjuk elő a Jones G. és Moffat, *J. Org. Chem.* (1968), Waszkuc W és munkatársai, *Synthesis* 1025 (1984) közleményekben leírt eljárásával (4) általános képletű aldehidek alkalmazásával.

Például a megfelelő (4) általános képletű aldehidet 1 molekvivalenshez számított kis feleslegű tetraeetilén-bisz-foszfónát lítium-sóval reagáltatjuk aprotikus oldószerben, amely lehet például tetrahidrofurán. A reaktánsokat általában 10-24 órán át elegyítjük keverés közben kb.  $-78^{\circ}\text{C}$  hőmérsékleten. A megfelelő (5) általános képletű alkenil-foszfónátot a reakcióelegyből extrahálással szakirodalomban ismert eljárások szerint izoláljuk. A b reakciólépésben a  $\text{Pg}_1$  hidroxilcsoport védőcsoportot szelektíven lehasítjuk, és így a (6) általános képletű alkoholt nyerjük.

### III. reakcióvázlat

(9) általános képletű közbenső termék előállítás

(T jelentése oxigéntartalmú-csoport)



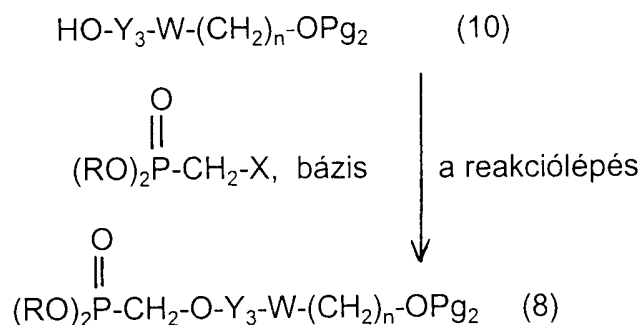
$\text{Y}_3 = \text{CH}_2$ -csoport vagy  $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OPg}_2)$  általános képletű csoport

$\text{W} =$  az A reakcióvázlatban megadott

X = hasadócsoport, mint például mezilát-csoport, tozilát-csoport, triflát-csoport vagy halogénatom (Cl, Br, I)

R = jelentése 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport.

### IIIa reakcióvázlat



X = tozilát-csoport vagy mezilát-csoport;

X, Pg és Y<sub>3</sub> = a fent megadott;

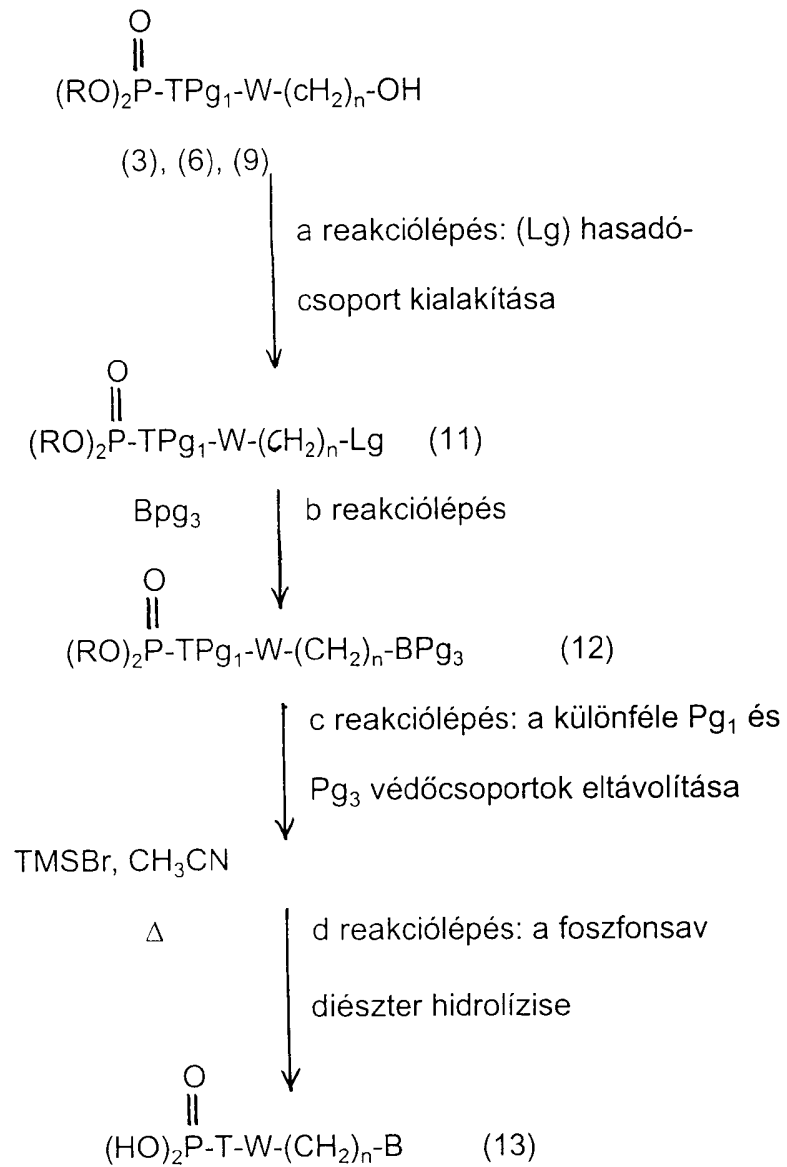
R = 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport.

A III. reakcióvázlat szerinti eljárással a (8) általános képletű vegyületet állítjuk elő úgy, hogy a (7) általános képletű allil-, propargil- vagy allén-halogenidet nukleofil szubsztitúciós reakcióban reagáltatjuk egy hidroximetil-foszfonsav diészter alkoxi-anionjával. A reakciót aprotikus oldószerben, mint például tetrahidrofurábanban vagy dimetil-formamidban -10°C - 50°C hőmérsékleten 6-24 óra időtartamon át hajtjuk végre. A b reakciólépésben a Pg<sub>1</sub> képletű hidroxilcsoport védőcsoportot szelektíven hasítjuk, és így a (9) általános képletű alkoholt állítjuk elő.

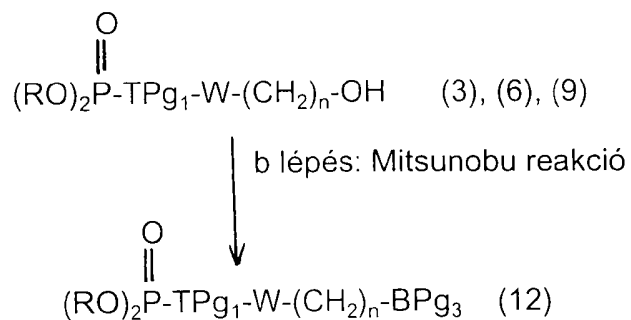
Más eljárás szerint a IIIa reakcióvázlatnak megfelelően a (8) általános képletű vegyületeket úgy állíthatjuk elő, hogy a toziloxi-metil-foszfonsav diésztert nukleofil szubsztitúciós reakcióban reagáltatjuk a (10) általános képletű alkohol alkoxi-anionjával a fent leírt reakciókörülmények között.

#### IV. reakcióvázlat

Az I. II. és III. reakcióvázlatokban nyert (3), (6) vagy (9) általános képletű kiindulási anyagok alkalmazásával



#### IVa reakcióvázlat



Lg = tozilát-csoport, mezilát-csoport, triflát-csoport, Cl, Br, vagy I.

Pg, B és W = a korábban megadott.

R = 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport.

A IV, V és VI reakcióvázlatok szerinti eljárásokban a megfelelő (3), (6) vagy (9) általános képletű vegyületekkel a megfelelő purin vagy pirimidin-bázisokat reagáltatjuk, és így sorrendben a (13), (16) és (19) általános képletű vegyületeket nyerjük.

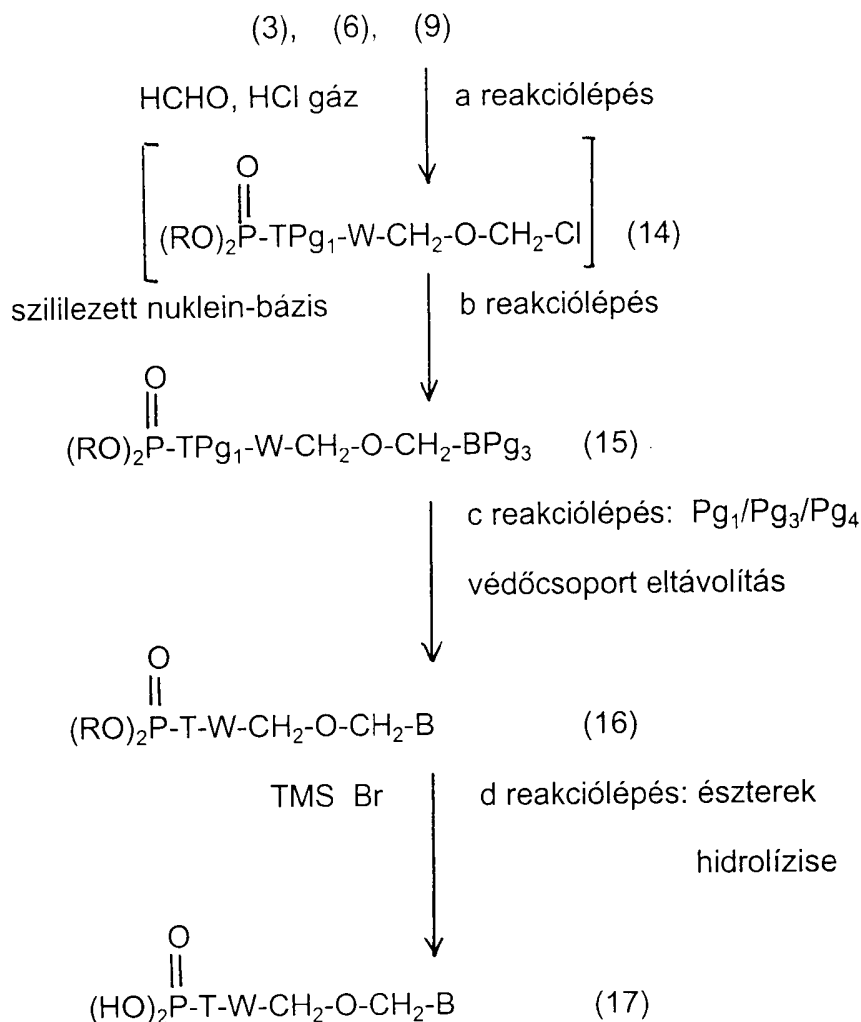
A IV. reakcióvázlatnak megfelelő eljárásban a (3), (6) vagy (9) általános képletű vegyületekben a hidroxilcsoportot valamely nuklein-bázissal helyettesítjük, a helyettesítési reakciót úgy végezzük, hogy az alkoholt hasadócsoporthá (a reakciólépés) alakítjuk, és így a (11) általános képletű vegyületet nyerjük, majd ezt 1 mol ekvivalens megfelelő (B) általános képletű nuklein-bázissal reagáltatjuk Bpg<sub>3</sub> védett formában. Amennyiben szükséges, a reakciót bázis, mint például kálium-karbonát jelenlétében valamely szerves oldószerben, mint például vizes dimetil-formamidban hajtjuk végre (b reakciólépés). A reaktánsokat 10-48 órán át kb. 0°C - szobahőmérséklet közötti hőmérsékleten keverjük, és így a (12) általános képletű vegyületet nyerjük. Ezt közvetően sorrendben a bázisból a védőcsoportot eltávolítjuk, majd a foszfonsav diésztert trimetil-szilil-bromiddal hidrolizáljuk, és így különféle utakon a (13) általános képletű vegyületet nyerjük [Bronson J. és munkatársai, *J. Med. Chem.* 32: 1457 (1989) és Kim C. és munkatársai, *J. Med. Chem.* 33: 1207 (1990)]. Az észter hidrolízis és a védőcsoport eltávolítás lépések sorrendjét felcserélhetjük.

Más eljárás szerint a (3), (6) és (9) általános képletű vegyületek hidroxilcsoportjának nuklein-bázissal történő helyettesítését Mitsunobu reakció segítségével is végezhetjük [Jenny T. *Tet. Lett.* 32:7029 (1991)]. Ennek során a (12) általános képletű közbenső terméket nyerjük, amelyet a fentiek szerint reagáltatunk és a (13) általános képletű vegyületté alakítunk.

### V. reakcióvázlat

A (3), (6) vagy (9) általános képletű közbenső termékekből,

ahol Z jelentése CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport kiindulva



B, Pg, W és T = a korábban megadott.

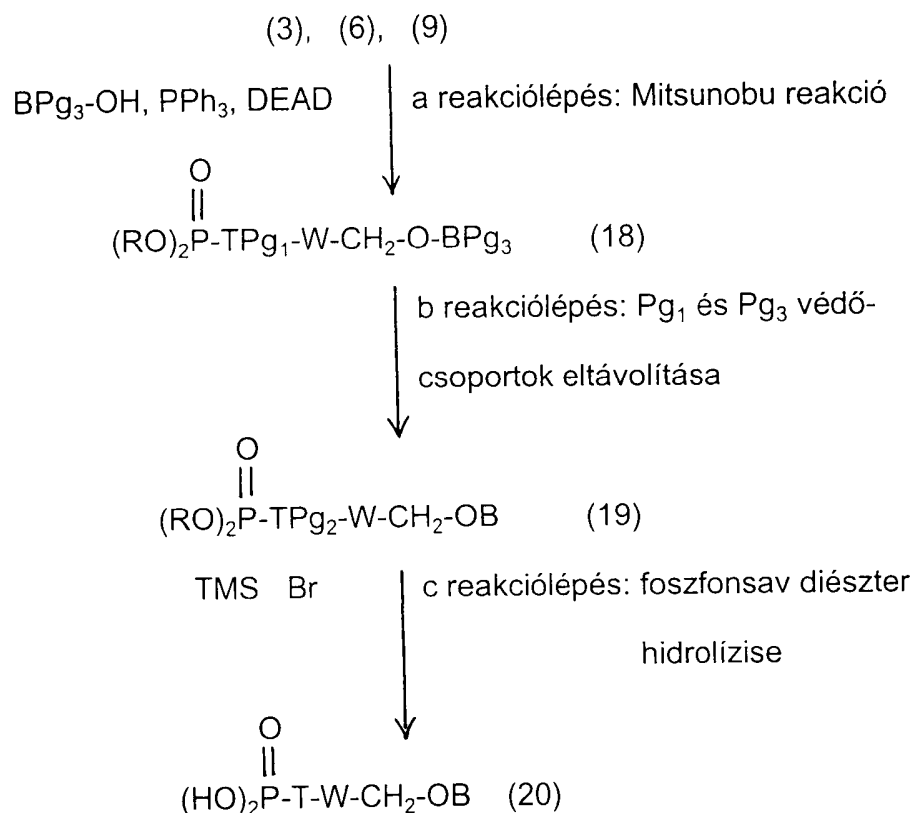
R = 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport.

A V. reakcióvázlat szerinti eljárásban egy (17) általános képletű vegyületet állítunk elő, amely vegyületben a nuklein-bázishoz kötött metoxi-metilészter (Z jelentése CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport) csoport kötését alakítjuk ki. A reakciót úgy végezzük, hogy a (3), (6) vagy (9) általános képletű vegyületeket (ahol az általános képletben n jelentése 1) és paraformaldehidet elegyítünk, majd sósvagázzal 1,2-diklór-etán oldószer-

ben reagáltatjuk. Így a (14) általános képletű (a reakciólépés) közbenső termék klórmetil-étert állítjuk elő. Ezt követően a felesleg savkloridot eltávolítjuk, majd a kapott terméket a nuklein-bázis szililezett-formájával reagáltatjuk (BTMS). A reagenst a megfelelő nuklein-bázis és felesleg bisz-trimetil-szilil-acetamid (b reakciólépés) reakciójával nyerjük. Ezt követően a védőcsoportot a nuklein-bázisról eltávolítjuk, majd a foszfonsav diésztert az I. reakcióvázlat szerinti eljárással hidrolizáljuk (c és d reakciólépések) és a (17) általános képletű vegyületeket nyerjük [Ogilvie K. és munkatársai, *Can. J. Chem.* 60: 3005 (1982) és Ogilvie K. és munkatársai, *Nucleosides and Nucleotides* 2: 147 (1983)].

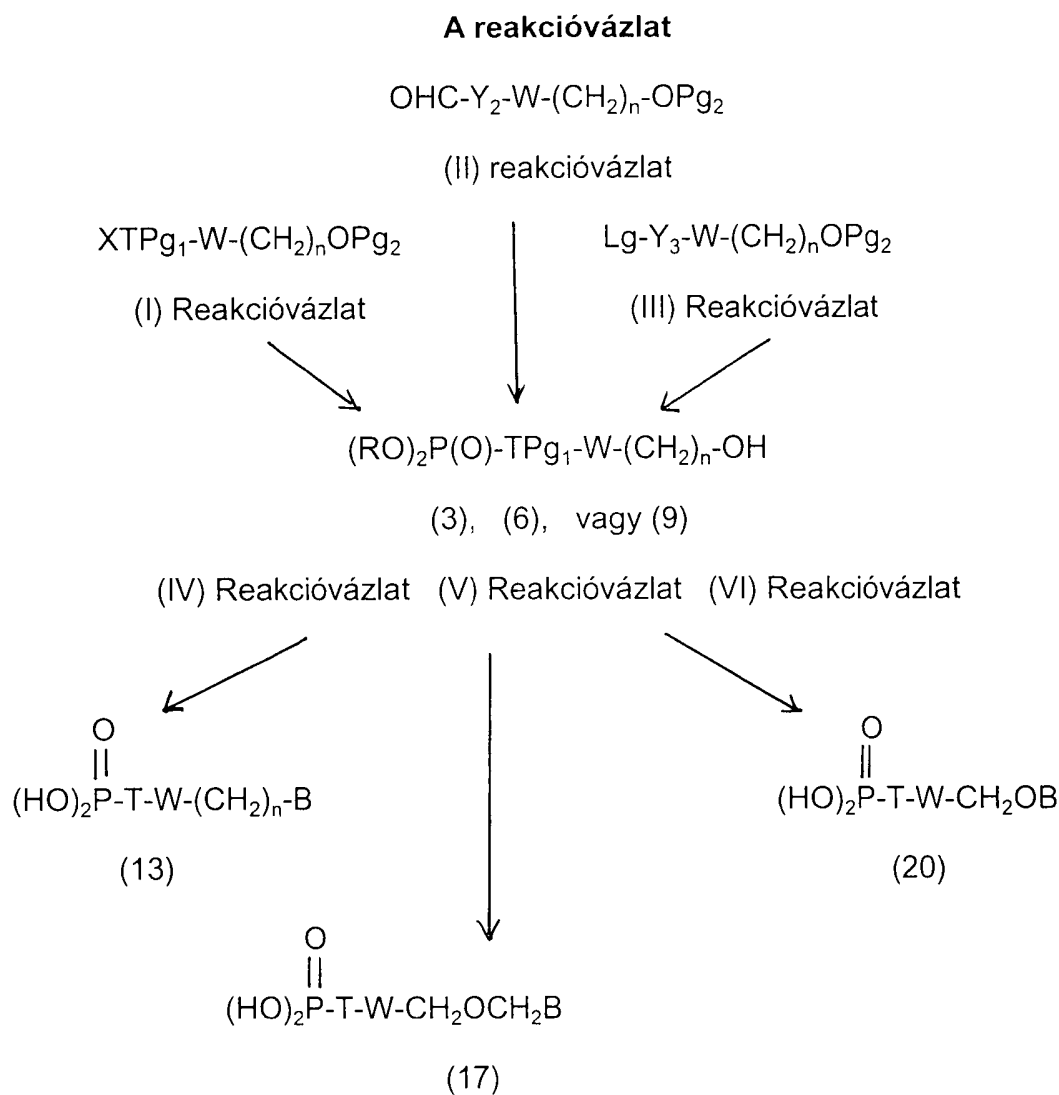
### VI. reakcióvázlat

(3), (6) vagy (9) általános képletű közbenső termékekből, ahol az általános képletben Z jelentése CH<sub>2</sub>O-csoport kiindulva





A VI. reakcióvázlat szerinti eljárásban a (20) általános képletű vegyületeket állítjuk elő, amelyek oxigén-kapcsolt nuklein-bázist tartalmaznak. A vegyületeket a megfelelően funkcionáliszt (3), (6) vagy (9) általános képletű alkoholok Mitsunobu típusú kapcsolási reakciójával állítjuk elő, amely kapcsolási reakciót 1-hidroxi-pirimidin vagy 9-hidroxi-purin vegyületekkel hajtunk végre [Parkin A., *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 2983 (1991)]. A kapcsolási reakcióban az a. reakciólépésben trifenil-foszfint, dietil-azodikarboxilátot alkalmazunk dimetil-formamid oldószerben. A nuklein-bázis védőcsoportjának eltávolítását és a foszfonsav diészter hidrolízisét a IV. reakcióvázlatban leírtaknak megfelelően hajtjuk végre.



Lg = hasadócsoport, mint például tozilát-csoport, mezilát-csoport, triflát-csoport,

Cl, Br vagy I.

B, W és T = a korábban megadott.

X = halogénatom.

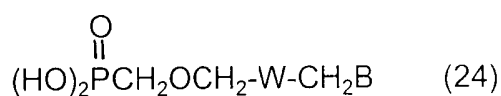
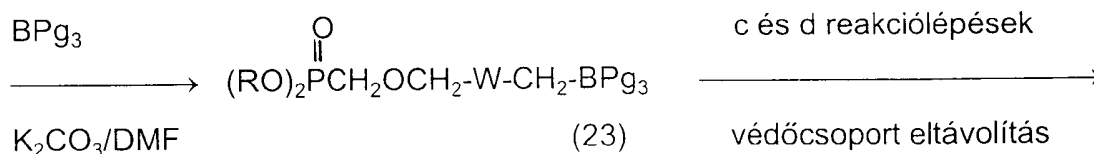
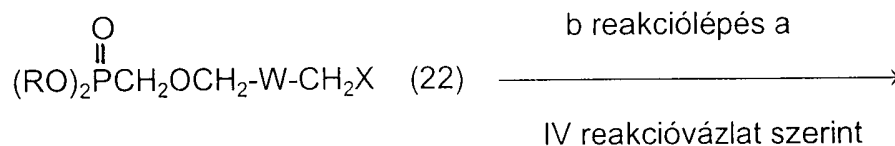
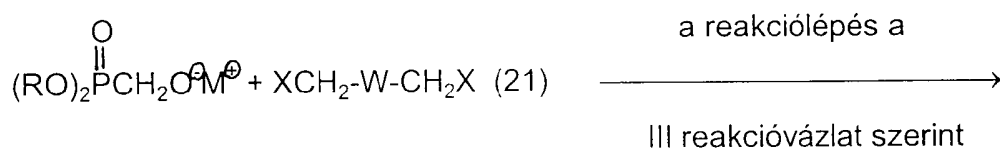
R = 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport.

Az olyan vegyületek esetében, ahol a foszforatomhoz kapcsolódóan metilén-oxi-metil-csoport található (T jelentése CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport), a szimmetrikus dihalogénid (klorid) sorrendi alkilezése az alábbi eljárással valósítható meg.

### B reakcióvázlat

A reakcióvázlat alternatív szintetikus eljárása, amennyiben

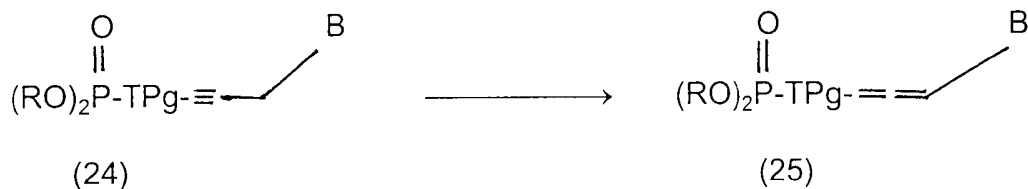
T jelentése CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport és Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport



Az adott esetben a (21) általános képletű szimmetrikus-csoport bevezetése a B reakcióvázlatban úgy történhet, hogy a III. reakcióvázlat a reakciólépése szerinti szubsztitúciós reakciót és a IV. reakcióvázlat b reakciólépése szerinti szubsztitúciós reakciót sorrendben hajtjuk végre az ott leírt körülmények alkalmazásával. A III. reakcióvázlat a reakciólépése során a metoxi-foszfonsav diészter csoportot vezetjük be, és így a (22) általános képletű vegyületet állítjuk elő, majd a IV. reakcióvázlat b reakciólépésében leírt körülmények között a védett nuklein-bázist vezetjük be a molekulába, és így a (23) általános képletű vegyületet kapjuk. A nuklein-bázis védőcsoportját eltávolítjuk, majd sorrendben a foszfonsav diésztert hidrolizáljuk, és így a kívánt (24) általános képletű vegyületet nyerjük.

### C reakcióvázlat

Az A reakcióvázlat kiegészítése, amennyiben W jelentése CH=CH=CH-csoport

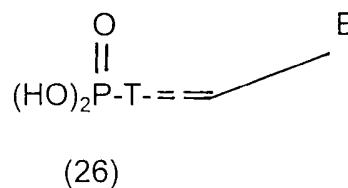


a (IV) reakcióvázlat szerint

előállított (12) általános képletű

vegyület, ahol az általános képletben

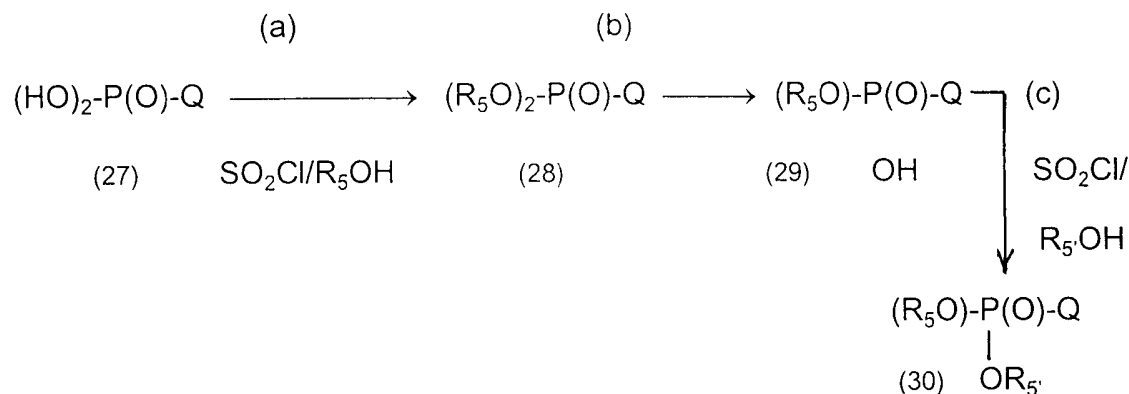
$n = 1$ ;  $W = -\text{C}\equiv\text{C}-$



Amennyiben az általános képletben Z jelentése törölt, W jelentése minden esetben a (26) általános képletű vegyületekre megadott allenil-csoport. Ezt a csoportot úgy nyerhetjük, hogy a (24) általános képletű etinil-származékot (amelyet a fent leírt eljárásokkal állíthatunk elő T jelentésétől függően) bázikus reagenssel kezeljük,

és így az etinil-csoportot allenil-csoporttá alakítjuk Phadtar S. és munkatársai *J. Am. Chem. Soc.* 111: 5925 (1989) közleményben leírt eljárásnak megfelelően

### D reakcióvázlat

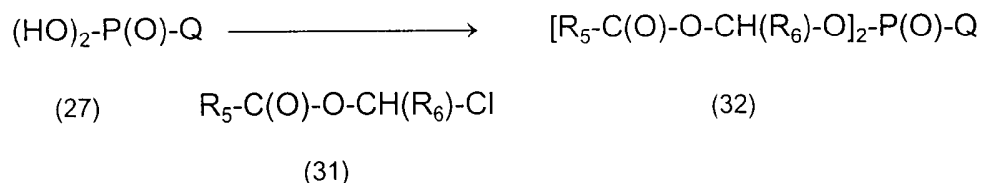


Y = -T-W-Z-BASE, ahol T, W és Z jelentése az (I) és (II) általános képletekre megadott és BASE jelentése a fent megadott nuklein bázis.

R<sub>5</sub> és R<sub>5'</sub> jelentése a korábban megadott.

A D reakcióvázlat a reakciólépésében a (27) általános képletű dihidroxi-foszfónátot tionil-kloriddal reagáltatjuk, és így diklór-foszfónátot állítunk elő, ezt a vegyületet ezt követően R<sub>5</sub>OH általános képletű alkohollal reagáltatjuk, és így a (28) általános képletű diszubsztituált-foszfónátot nyerjük. A b reakciólépésben a (28) általános képletű diszubsztituált-foszfónátot hidrolizáljuk és (29) általános képletű vegyületet nyerünk. A c reakciólépésben a (29) általános képletű monoaciloxi-alkil-monoalkil-foszfónátot tionil-kloriddal reagáltatjuk a korábbi reakciólépésnek megfelelő eljárásban, majd ezt követően a terméket R<sub>5</sub>OH általános képletű alkohollal reagáltatjuk. Így az aszimmetrikusan diszubsztituált foszfónátot nyerjük, amelyben R<sub>5</sub> és R<sub>5'</sub> jelentése eltérő.

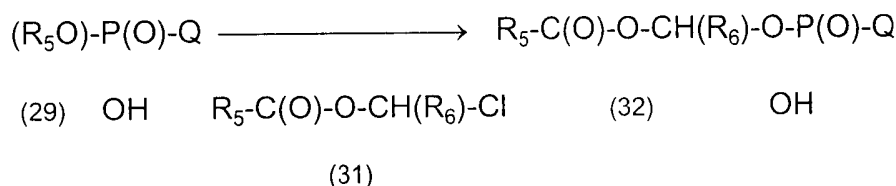
### E reakcióvázlat



Az egyes csoportok jelentése a D. reakcióvázlatban megadott.

Az E reakcióvázlat szerinti eljárásban a (27) általános képletű dihidroxi-foszfónátot a (31) általános képletű szubsztituált-klór-metil-éterrel reagáltatjuk szerves bázis, mint például szubsztituált-morfolin jelenlétében, és így a (32) általános képletű diszubsztituált-foszfónátot állítjuk elő.

### F reakcióvázlat



A csoportok jelentése a D reakcióvázlatban megadott.

Az F reakcióvázlat szerinti eljárásban a (29) általános képletű monoaciloxi-alkil-monoalkil-foszfónátot a (31) általános képletű klór-metil-éterrel reagáltatjuk a korábban leírt eljárásnak megfelelően, és így a (32) általános képletű monoaciloxi-alkil-foszfónátot állítjuk elő.

A találmány szerinti eljárást az alábbi példákon részletesen bemutatjuk.

#### 1. példa

#### E-9-[5-(Dihidroxi-foszfóril)-3-metilidén-4-pentenil]-guanin (IV)

(Ahol az általános képletben  $X_1$  jelentése aminocsoport,  $X_2$  jelentése hidroxil-csoport, Z jelentése  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport, W jelentése  $W_a$  általános képletű csoport, ahol

R<sub>1</sub> és R<sub>2</sub> jelentése egyenként hidrogénatom és T jelentése T' általános képletű csoport, amely CH=CH-csoport).

A reakciólépés:

4-(terc-butil-dimetiloxi)-2-metilidén-butanal

14 g (50 mmol) 4-terc-butil-dimetiloxi-2-acetiloxi-1-butanol, molekulaszita por, 9,9 g (75 mmol) N-metil-morfolin-N-oxid és 0,34 g (2,5 mmol) tetrapropil-ammónium-perrutenát (TPAP) 250 ml vízmentes diklórometánban készült elegyét éjszakán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet celite szűrési segédanyagon leszűrjük, majd vákuumban bepároljuk. A címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen tisztítjuk. 8,25 g, (77% termelés) terméket nyerünk.

B reakciólépés:

E-5-(terc-butil-dimetil-szililoxi)-3-metilidén-1-pentenil-foszfonsav dietil-észter

2,14 g (7,45 mmol) tetraetil-metilén-bifoszfónát 70 ml vízmentes tetrahidrofuránban készült elegyéhez -78°C hőmérsékleten argon atmoszférában 4,7 ml (7,45 mmol) 1,6m n-butillítium hexános oldatot adagolunk. A reakcióelegyet 1 órán át keverjük, majd az elegyhez 1,14 g (5,3 mmol) 4-terc-butil-dimetoxi-2-metilidén-butanal 10 ml vízmentes tetrahidrofuránban készült oldatát csepegtetjük. A reakcióelegyet 3 órán át -78°C hőmérsékleten, majd éjszakán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően az elegyet ammónium-klorid telített oldat adagolásával hidrolizáljuk, majd a keveréket dietil-éterrel extraháljuk. A címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk. 1,7 g (91% termelés) terméket nyerünk.

C reakciólépés:

E-5-Hidroxi-3-metilidén-1-pentenil-foszfonsav dietil-észter

1,7 g (4,86 mmol) E-5-terc-butil-dimetil-szililoxi-3-metilidén-1-pentenil-foszfonsav dietil-észter és 1m tetrabutill-ammónium-fluorid tetrahidrofurános oldat (8 ml, 8 mmol) elegyét 2 órán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően a reakcióele-

gyet vákuumban bepároljuk, majd a címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen tisztítjuk. 1,1 g (94% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

D reakciólépés:

E-5-Toziloxi-3-metilidén-1-pentenil-foszfonsav dietil-észter

1,07 g (4,6 mmol) E-5-hidroxi-3-metilidén-1-pentenil-foszfonsav dietil-észter, 0,7 ml (5 mmol) trietilamin, 0,96 g (5 mmol) tozil-klorid és 0,005 g (0,04 mmol) dimetil-amino-piridin vízmentes diklórmétánban készült elegyét 4 órán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezután az elegyet vákuumban bepároljuk, majd a címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen tisztítjuk. 1,55 g (87% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

E reakciólépés:

E-9-[5-(Dietoxi-foszfoni)-3-metilidén-4-pentenil]-6-klór-2-amino-purin

0,74 g (4,3 mmol) 6-klór-2-amino-purin, 0,175 g (4,3 mmol, 60%-os olajos szuszpenzió) nátrium-hidrid 10 ml vízmentes dimetil-formamidban készült elegyét 20°C hőmérsékleten 30 percen át keverjük. Ezt követően az elegyhez 1,5 g (3,9 mmol) E-5-toziloxi-3-metilidén-1-pentenil-foszfonsav dietil-észter 5 ml vízmentes dimetil-formamidban készült oldatát adagoljuk. A kapott reakcióelegyet 20°C hőmérsékleten éjszakán át keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, majd a maradékot gyorskromatográfia segítségével szilikagélen tisztítjuk. 1,1 g (73% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

F reakciólépés:

E-9-[5-(Dihidroxi-foszfoni)-3-metilidén-4-pentenil]-6-klór-2-amino-purin

0,96 g (2,5 mmol) E-9-[5-(dietoxi-foszfoni)-3-metilidén-4-pentenil]-6-klór-2-amino-purin és 1,3 ml (10 mmol) trimetil-szilil-bromid 5 ml vízmentes acetonitrilben készült elegyét 20°C hőmérsékleten éjszakán át keverjük. Ezt követően a reakció-



elegyet 5 ml metanollal elegyítjük, majd vákuumban bepároljuk. 0,8 g nyersterméket kapunk, amelyet a következő reakciólépésben tisztítás nélkül alkalmazunk.

G reakciólépés:

E-9-[5-(Dihidroxi-foszfoni)-3-metilidén-4-pentenil]-guanin

0,8 g (kb. 0,245 mmol) E-9-[5-(dihidroxi-foszfoni)-3-metilidén-4-pentenil]-6-klór-2-amino-purin 5 ml 1n sósavban készült elegyét 20°C hőmérsékleten éjszakán át keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, a maradékot vízmentes etanollal higítjuk, és így, amennyiben a reakcióelegyet lehűtjük 0,46 g (60% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

2. példa

E-9-{{4-(Dihidroxi-foszfoni)-2-metilidén-3-buteniloxi}-metil}-guanin (V)

(Ahol az általános képletben  $X_1$  jelentése aminocsoport,  $X_2$  jelentése hidroxilcsoport, Z jelentése  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ -csoport, W jelentése  $W_a$  általános képletű csoport, ahol  $R_1$  és  $R_2$  jelentése egyaránt hidrogénatom és T jelentése T', amely  $\text{CH}=\text{CH}$ -csoport).

A reakciólépés:

2-(terc-Butil-difenil-szililoxi-metil)-2-propén-1-ol

45 g (165 mmol) terc-butil-difenil-szilil-klorid 60 ml vízmentes diklórometánban készült oldatát keverés közben hozzácsepegtetjük 12 g (165 mmol) 2-(hidroxil-metil)-2-propén-1-ol, 27,5 ml trietilamin és 2 g 4-(dimetil-amino)-piridin 300 ml vízmentes diklórometánban készült oldatához. A becsepegtetést 0°C hőmérsékleten végezzük, majd a reakcióelegyet éjszakán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Az elegyet ezután telített ammónium-klorid oldattal, majd telített sóoldattal mossuk. A címbeli vegyület gyorskromatográfia segítségével nyerjük. 19,4 g (40% termelés) címbeli vegyületet kapunk.

B reakciólépés:

2-(terc-Butil-difenil-szililoxi-metil)-2-propenal

25,5 g (86,7 mmol) 2-(terc-butil-difenil-szililoxi-metil)-2-propén-1-ol, 26 g molekulaszita por, 15,3 g (130 mmol) N-metil-morfolin-N-oxid és 1,5 g (4 mmol) tetrapropil-ammónium-perrutenát 400 ml vízmentes diklórmétánban készült elegyét 20°C hőmérsékleten éjszakán át keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, majd a maradékot gyorskromatográfia segítségével szilikagélen tisztítjuk. 21 g (83% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

C reakciólépés:

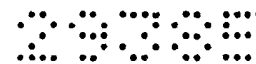
E-4-(terc-Butil-difenil-szililoxi)-1,3-butadienil-foszfonsav dietil-észter

34,5 g (120 mmol) tetraetil-metilén-bifoszfónát 150 ml vízmentes tetrahidrofuranban készült oldatához -78°C hőmérsékleten 70 ml (120 mmol) 1,6m n-butil-lítium hexános oldatot adagolunk. 30 perc elteltével 2-(terc-butil-difenil-szililoxi-metil)-2-propenal 21 g (71,5 mmol) vízmentes tetrahidrofuranban készült oldatát adagoljuk a reakcióelegyhez. Az adagolást becsepegtetéssel végezzük, majd a reakcióelegyet 4 órán át -78°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően az elegyet 20°C hőmérsékleten éjszakán át elegyítjük, majd telített ammónium-klorid oldat adagolásával a reakcióelegyet hidrolizáljuk. Az elegyet dietil-éterrel extraháljuk, majd a címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk. 20 g (55% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

D reakciólépés:

E-4-Hidroxi-1,3-butadienil-foszfonsav dietil-észter

11 g (26,4 mmol) E-4-(terc-butil-difenil-szililoxi)-1,3-butadienil-foszfonsav dietil-észter és 10 g (31 mmol) tetrabutil-ammónium-fluorid-trihidrát 100 ml tetrahidrofuranban készült oldatát 2 órán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, majd a reakcióelegyet etilacetáttal hígítjuk. A ka-



pott elegyet telített sóoldattal mossuk, majd a címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk. 4,6 g (80% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

E reakciólépés:

E-9-{{4-(Dietoxi-foszforil)-2-metilidén-3-buteniloxi}-metil}-6-[2-(trimetilszilil)-etiloxi]-2-amino-purin

0,17 g (5,0 mmol) paraformaldehid és 0,9 g (4,5 mmol) E-5-hidroxi-1,3-butadienil-foszfonsav dietil-észter 5 ml 1,2-diklórmétán vízmentes oldatába vízmentes sósavgázt buborékoltatunk 0°C hőmérsékleten. A buborékoltatást 15 percen át végezzük, majd a reakcióelegyet 2 órán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően az elegyet vákuumban bepároljuk, majd 10 ml 1,2-diklór-metánnal hígítjuk. Ezt követően bisz-(trimetil-szilil)-6-[2-(trimetil-szilil)-etiloxi]-2-amino-purin oldatát adagoljuk a keverékhez, amely oldatot úgy nyerünk, hogy 1,3 g (5 mmol) 6-[2-(trimetil-szilil)-etiloxi]-2-amino-purint és 2,5 g bisz-trimetil-szilil-acetamidot 5 ml 1,2-diklór-etánban 1 órán át elegyítünk, majd 0,19 g (0,5 mmol) tetrabutil-ammónium-jodidot adunk a reakcióelegyhez. A reakcióelegyet 3 órán át 20°C hőmérsékleten keverjük, majd 4 órán át visszafolyatás melletti hőmérsékleten forraljuk. Ezután az elegyet telített ammónium-klorid vizes oldattal hidrolizáljuk, és végül kloroformmal extraháljuk. A címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk (0,37 g, 96% termelés).

F reakciólépés:

E-9-{{4-(Dihidroxi-foszfoni)-2-metilidén-3-butenil-oxi}-metil}-guanin

0,24 g (0,5 mmol) E-9-{{4-(dietoxi-foszfoni)-2-metilidén-3-buteniloxi}-metil}-6-[2-(trimetil-szilil)-etiloxi]-2-amino-purin és 0,26 ml (2 mmol) trimetil-szilil-bromid 3 ml vízmentes acetonitrilben készült elegyét 20°C hőmérsékleten éjszakán át keverjük. A reakcióelegyet 2 ml metanollal elegyítjük, majd vákuumban bepároljuk. A címbeli

vegyületet etanol:víz oldószerkelegyből történő kristályosítással izoláljuk. 0,12 g (65% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

### 3. példa

#### 9-[3-(Dihidroxi-foszforil-metoxi)-2-metilidén-propil]-guanin (VI)

(Ahol az általános képletben  $X_1$  jelenetése aminocsoport,  $X_2$  jelentése hidroxil-csoport, Z jelentése  $CH_2$ -csoport, W jelentése  $W_a$  általános képletű csoport, ahol  $R_1$  és  $R_2$  mindegyikének jelentése hidrogénatom és T jelentése T'' általános képletű csoport, amely  $CH_2OCH_2$ -csoport.)

#### A reakciólépés:

#### 2-(Klór-metil)-2-(propeniloxi-metil)-foszfonsav dietil-észter

0,84 g (5 mmol) hidroxil-metil-foszfonsav dietil-észter, 0,95 g (7,6 mmol) 1-klór-2-(klór-metil)-2-propén és 0,18 g (0,5 mmol) tetrabutil-ammónium-jodid 10 ml vízmentes tetrahidrofurában készült elegyéhez 0°C hőmérsékleten 0,24 g (6 mmol, 60%-os olajos szuszpenzió) nátrium-hidridet adagolunk. A reakcióelegyet 20°C hőmérsékleten éjszakán át keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet telített ammónium-klorid oldattal hidrolizáljuk, majd etilacetát segítségével extraháljuk. A címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk. 0,35 g (27% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

#### B reakciólépés:

#### 9-[3-(Dietoxi-foszforil-metoxi)-2-metilidén-propil]-6-klór-2-amino-purin

0,285 g (1,1 mmol) [2-(klór-metil)-2-propeniloxi-metil]-foszfonsav dietil-észter, 0,25 g (1,5 mmol) 6-klór-2-amino-purin és 0,24 g (1,5 mmol) kálium-karbonát vízmentes dimetil-formamidban készült elegyét 2 napon át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, majd a címbeli vegyületet

gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk. 0,22 g (51% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

C reakciólépés:

9-[3-(Dihidroxi-foszfoniil-metoxi)-2-metilidén-propil]-guanin

0,22 g (0,56 mmol) 9-[3-(diétoxi-foszfoniil-metoxi)-2-metilidén-propil]-6-klór-2-amino-purin, 0,43 g (2,8 mmol) trimetil-szilil-bromid és 2 ml acetonitril elegyét argon atmoszférában 24 órán át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, majd a maradékot 10 ml 1M nátrium-hidroxiddal elegyítjük és a keveréket 2 napon át 20°C hőmérsékleten tartjuk. A címbeli vegyületet etanol oldószerből történő csapadék leválasztással izoláljuk. 0,11 g (61% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

4. példa

Z-9-[4-(Dihidroxi-foszfoniil-metoxi)-2-butenil]-guanin (VII)

(Ahol az általános képletben  $X_1$  jelentése aminocsoport,  $X_2$  jelentése hidroxilcsoport, Z jelentése  $CH_2$ -csoport, W jelentése  $W_c$  általános képletű csoport, ahol  $R_1$  és  $R_2$  jelentése egyaránt hidrogénatom és T jelentése T" általános képletű csoport, amely a  $CH_2OCH_2$ -csoport.)

A reakciólépés:

Z-(4-Klór-2-buteniloxi)-metil-foszfonsav dietil-észter

1,68 g (10 mmol) hidroxil-metil-foszfonsav dietil-észter, 1,9 g (15 mmol) Z-1,4-diklór-2-butén és 0,36 g (1 mmol) tetra-n-butil-ammónium-jodid 15 ml vízmentes tetrahidrofuránban készült elegyéhez 0°C hőmérsékleten 0,48 g (12 mmol, 60%-os olajos szuszpenzió) nátrium-hidridet adagolunk. A kapott reakcióelegyet éjszakán át 20°C hőmérsékleten keverjük, majd telített ammónium-klorid oldat adagolásával hidrolizáljuk. Ezt követően az elegyet dietil-éterrel extraháljuk. A címbeli vegyületet

gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk. 1,2 g (45% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

B reakciólépés:

Z-9-[4-(Dietoxi-foszforil-metoxi)-2-butenil]-6-klór-2-amino-purin

1,05 g (4 mmol) Z-(4-klór-2-butenil-oxi)-metil-foszfonsav dietil-észter, 1 g (6 mmol) 6-klór-2-amino-purin és 0,92 g (6 mmol) kálium-karbonát 10 ml vízmentes dimetil-formamidban készült elegyét 2 napon át 20°C hőmérsékleten keverjük. Ezt követően a reakcióelegyet vákuumban bepároljuk, majd a maradékot gyorskromatográfia segítségével szilikagélen tisztítjuk. 0,85 g (55% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

C reakciólépés:

Z-9-[4-Dihiroxi-foszforil-metoxi)-2-butenil]-guanin

0,78 g (2 mmol) Z-9-[4-(dietoxi-foszforil-metoxi)-2-butenil]-6-klór-2-amino-purin, 1,5 g (10 mmol) trimetil-szilil-bromid és 2,15 g (20 mmol) 2,6-lutidin 10 ml vízmentes acetonitrilben készült elegyét argon atmoszférában 20°C hőmérsékleten 24 órán át keverjük. A reakcióelegyet ezután vákuumban bepároljuk, majd a maradékot 15 ml 1M nátrium-hidroxid oldattal elegyítjük, és a keveréket 20°C hőmérsékleten két napon át keverjük. A címbeli vegyület nátrium-sóját ezt követően etanol:víz oldószerrelegyből csapadékként leválasztjuk. 0,55 g (75% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

5. példa

9-[4-(Dihidroxi-foszforil-metoxi)-2-butenil]-guanin (VIII)

(Ahol az általános képletben  $X_1$  jelentése aminocsoport,  $X_2$  jelentése hidroxilcsoport, Z jelentése  $CH_2$ -csoport, W jelentése  $W_d$  általános képletű csoport és T jelentése  $T''$  képletű csoport, amely  $CH_2OCH_2$ -csoport.)

A reakciólépés:

(4-Klór-2-butiniloxi)-metil-foszfonsav dietil-észter

3,35 g (20 mmol) hidroximetil-foszfonsav dietil-észter 3,8 g (30 mmol) 1,4-diklór-2-butin és 0,75 g (2 mmol) tetra-n-butil-ammónium-jodid 100 ml vízmentes tetrahidrofuránban készület elegyéhez 0°C hőmérsékletben részletekben 0,95 g (24 mmol, 60%-os olajos szuszpenzió) nátrium-hidridet adagolunk. A kapott reakcióelegyet 0°C hőmérsékleten éjszakán át keverjük. Ezután az elegyet éjszakán át 20°C hőmérsékleten elegyítjük, majd telített ammónium-klorid oldat adagolásával hidrolizáljuk. A kapott keveréket dietil-éterrel extraháljuk. A címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen izoláljuk. 2,3 g (30% termelés) címbeli anyagot nyerünk.

B reakciólépés:

9-[4-(Dietoxi-foszforil-metoxi)-2-butinil]-6-klór-2-amino-purin

2,03 g (8 mmol) (4-klór-2-butiniloxi)-metil-foszfonsav dietil-észter, 2 g (12 mmol) 6-klór-2-amino-purin és 1,85 g (12 mmol) kálium-karbonát 15 ml vízmentes dimetil-formamidban készült elegyét 2 napon át argon atmoszférában 20°C hőmérsékleten keverjük. A reakcióelegyet ezután vákuumban bepároljuk, majd a maradékot gyorskromatográfia segítségével szilikagélen tisztítjuk, így 1,7 g (65% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

C reakciólépés:

9-[4-(Dihidroxi-foszforil-metoxi)-2-butinil]-guanin

1,5 g (4 mmol) 9-[4-(dietoxi-foszforil-metoxi)-2-butinil]-6-klór-2-amino-purin, 3 g (20 mmol) trimetil-szilil-bromid és 4,3 g (40 mmol) 2,6-lutidin 20 ml vízmentes acetonitrilben készült elegyét argon atmoszférában 1 napon át 20°C hőmérsékleten keverjük. A reakcióelegyet ezután vákuumban bepároljuk és a maradékot 20 ml 1M nátrium-hidroxid oldattal elegyítjük. A keveréket 2 napon át 20°C hőmérsékleten elegyít-

jük, majd a címbeli vegyület nátrium-sóját etanol:víz oldószerkelegyből történő csapadék leválasztással izoláljuk. 1,05 g (70% termelés) címbeli vegyületet nyerünk.

### 6. példa

#### 9- [3-(Dipivaloil-metoxi-foszfoniil-metoxi)-2-metilidén-propil]-guanin (IX)

(Ahol az általános képletben  $X_1$  jelentése aminocsoport,  $X_2$  jelentése hidroxilcsoport, Z jelentése  $CH_2$ -csoport, W jelentése  $W_a$  általános képletű csoport, ahol  $R_1$  és  $R_2$  jelentése egyaránt hidrogénatom és T jelentése T" képletű csoport, amely  $CH_2OCH_2$  csoport és  $R_3$ , valamint  $R_4$  mindegyikének jelentése  $-O-CH(R_6)-O-C(O)R_5$  általános képletű csoport, ahol  $R_6$  jelentése hidrogénatom.

630 mg (2 mmol) 9-[3-(dihidroxi-foszforil-metoxi)-2-metilidén-propil]-guanin 10 ml vízmentes dimetil-formamidban készült oldatához 1,13 g (0,4 mmol) N,N'-diciklohexil-karbodiimidet és 1,8 g (12 mmol) klór-metil-pivalátot adagolunk. A reakcióelegyet éjszakán át  $20^\circ C$  hőmérsékleten keverjük, majd az oldhatatlan anyagot leszűrjük és a kapott folyadékot vákuumban bepároljuk. A maradékot toluollal higítjuk, majd az oldatot vízzel mossuk. A címbeli vegyületet gyorskromatográfia segítségével szilikagélen 5% metanol tartalmú diklórmétán eluens alkalmazásával tisztítjuk.

### 7. példa

#### Nuklein-bázis módosítás

##### Adenin-származékok

Valamennyi kísérletben, amelyben 6-klór-2-amino-purint alkalmaztunk, ehelyett adenint alkalmazhatunk, és így a megfelelő 9-szubsztituált-adenin-származékot állítjuk elő, amelyből a foszfonsav diészter védőcsoportjának eltávolítását trimetil-szilil-bromid segítségével végezzük.



### Citozin-származékok

Valamennyi kísérletben a 6-klór-2-amino-purin helyett 4-N-acetil-citozint alkalmazhatunk. A védőcsoport eltávolítását két lépésben hajtjuk végre:

- a) a vegyületet etanolos ammóniával reagáltatjuk, és így az N-acetil-csoportot eltávolítjuk, és
- b) a kapott terméket trimetil-szilil-bromiddal reagáltatjuk, és így a foszfonsav diésztert hidrolizáljuk.

### Timin-származékok

Valamennyi kísérletben 6-klór-2-amino-purin helyett timint alkalmazhatunk. A foszfonsav diészter hidrolízisét trimetil-szilil-bromid reakciójával végezzük.

### 2,6-diamino-purin

A diamino-purin-analóg vegyületeket állíthatjuk elő trimetil-szilil-bromid kezeléssel vagy 2,6-diamino-purin alkalmazásával a 6-klór-2-amino-purin helyett a megfelelő kísérletekben.

A találmány szerinti vegyületek alkalmasak gyógyszerészeti terápiában történő felhasználásra, különösen vírusos fertőzések megelőző vagy klinikai kezelésében, amely vírusos fertőzésekben való alkalmazás lehet, mint vírusellenes szer, amely DNS vírusokkal szemben aktív (1 és 2 herpesz vírusok, citomegalovírus, varicella-zoster vírus, Epstein-Barr vírus), retrovírusokkal szemben (humán immunhiány vírusok 1 és 2 típusok, valamint visna vírus) és hasonló klinikai körülmények között, mint például AIDS-kapcsolatos komplex betegség (ARC), illetve a rák képződésében szerepet játszó vírusokkal szemben. A találmány szerinti vegyületek monoterápiában alkalmazhatók, de alkalmazhatók egyéb vírusellenes szerekkel kombinált terápiában, mint például retrovírusos fertőzésekkel szembeni kombinált terápiában is. Ilyen vírusok különösen embereknél a humán immunhiány vírus. Különösen előnyös kombinált terápiában alkalmazható szerek, a 2',3'-dideoxi-purin-

-nukleozidok, mint például a 2',3'-dideoxi-adenozin, a 2',3'-dideoxi-guanozin, a 2',3'-di-deoxi-tioinozin és a 2',3'-dideoxi-inozin. Egyéb kombinált terápiában alkalmazható hatóanyagok például a vírusos fertőzések kezelésében vagy megelőzésében vagy ilyen betegségekkel kapcsolatos állapotok kezelésében például a 3'-azido-3'-deoxi-timidin (zidovudine); a 2',3'-dideoxi-nukleozidok, mint például a 2',3'-dideoxi-inozin; az aciklusos nukleozidok, mint például az acyclovir; az interferonok, mint például az  $\alpha$ -interferon; a renális exkréció inhibitorok, mint például a probenecid; a nukleozid transzport inhibitorok, mint például a dipyridamole, valamint az immuno-modulátor hatóanyagok, mint például az interleukin(II) és a granulocita makrofág kolónia stimuláló faktorok. Az ilyen kombinációs terápia során az egyes vegyületeket adagolhatjuk párhuzamosan, amely adagolás lehet együttes vagy szeparált adagolás vagy adagolhatjuk eltérő időpontban, például egymást követően, abból a célból, hogy a kombinált hatást kifejtsük.

A találmány szerinti vegyületek vírusellenes hatásosságát megfelelő eljárásokkal a szakirodalomban ismert bármely eljárás alkalmazásával meghatározhatjuk. Néhány eljárást az alábbiakban bemutatunk, amelyek a hatékonyság tesztvizsgálataira alkalmasak.

#### Humán immunhiány vírus (HIV) esetében az MTT sejt élőképesség tesztvizsgálata

Az MTT sejt élőképesség tesztvizsgálatot eredetileg a (Pauwels és munkatársai, J. Virol. Methods, 1988: 20, 309-321) közleményben írták le. A vizsgálat kolorimetriás tesztvizsgálat, amely azon alapul, hogy az élőképes nem elhalt sejtek redukálják a sárga színű 3-(4,5-dimetil-2-il)-2,5-difenil-tetrazólium-bromidot (MTT) (Sigma Chemical Co. Ltd.) és kék formazan terméket hoznak létre. A tesztvizsgálatot és a redukciós reakciót metabolitikusan aktív sejtek mitochondrium dehidrogenáza segítségével hajtottuk végre. A tesztvizsgálat lehetővé tette, hogy az anti-HIV aktivitást az



adott vírusellenes szerekre gyorsan és pontosan meghatározzuk és párhuzamosan meghatároztuk a citotoxicitást, amely a szelektivitási indexet adja (S.I.).

Az MT-4 sejtek igen nagymértékben érzékenyek HIV fertőzésre, ilyen sejteket alkalmaztunk a kísérletben, amelyekben HIV-1 fertőzött törzseket RF törzseket használtunk. A 96 üreges sík aljú mikrotitráló tálca középső 60 üregét (Sterilin Ltd.) 100  $\mu$ l táptalajjal töltöttük meg, amely a tesztvizsgálati vegyület hígítási sorozatát tartalmazta két párhuzamos sorozatban. A külső üregeket steril desztillált vízzel töltöttük meg, abból a célból, hogy az inkubálás időtartama alatt a párolgást megakadályozzuk. A találmány szerinti vegyületek mindenegyes koncentrációja esetében két sorozat triplikált üreget alkalmaztunk abból a célból, hogy a fertőzött és nem fertőzött sejtek esetében is párhuzamosan meghatározhassuk a vegyület hatását. Bizonyos üregeket hatóanyag nélkül alkalmaztunk, és ezeket nem kezelt kontrollként használtuk a vírus és a vírus által nem fertőzött sejtek esetében. Az exponenciálisan növekvő MT-4 sejteket számláltuk és a sejtek számát üregenként  $5 \times 10^4$  sejt értékre állítottuk be. Ezt követően a sejteket centrifugálással labdaccsá alakítottuk, majd két részre osztottuk. A sejtek felét (100TCID<sub>50</sub> per  $5 \times 10^4$  sejt) vírussal fertőztük, a többi sejtet pedig nem fertőztük. A vírus adszorpció szobahőmérsékleten 1 óra időtartamon át történt. Ezt követően a sejteket labdaccsá alakítottuk, majd RPMI oldatban mostuk, mielőtt adott mennyiségű táptalajban újraszuszpendáltuk és a szuszpenzióból 100  $\mu$ l-t adagoltunk a mikrotitráló lemez mindenegyes üregébe. A tenyésztő lemezeket 37°C hőmérsékleten inkubátorban 5% CO<sub>2</sub> tartalmú levegőben inkubáltuk.

6 nap inkubálás elteltével az egyes üregekbe 10  $\mu$ l MTT (7,5 mg/ml) PBS-ben készült oldatot adagoltunk. A lemezeket ezután további 1 órán át 37°C hőmérsékleten inkubáltuk. A formazan kristályokat 100  $\mu$ l 10 térf./térf.%-os Triton X-100 savanyított izopropanolban (2 ml tömény sósav 500 ml oldószerre számítva) oldatban ol-



dottuk. Ezután az oldatot elkevertük, végül az abszorpciót 540 nm értéknél Multiskan MCC spektrofotométer alkalmazásával (Flow Laboratories) mértük. Mindenegyedű esetben az átlagos optikai sűrűséget (O.D.) határoztuk meg a nem fertőzött és a vírushatározott sejtek esetében, és ezt a hatóanyagkoncentráció függvényében ábrázoltuk. Az 50%-os pontot képviselő O.D. értéket, amelyben az 50%-os citotoxikus dózis (CD50) és az 50%-os inhibitor koncentrációt (IC50) a tesztvizsgálati vegyület esetében, az alábbi képlettel számoltuk:

$$\frac{\text{O.D. nem fertőzött átlag} - \text{O.D. vírushatározott átlag}}{2}$$

#### A találmány szerinti vegyületek HIV-ellenes aktivitásának meghatározása

##### C-8166 alkalmazásával

96 üreges sík aljú mikrotiter tálcák központi 60 üregét 100 µl táptalajjal töltöttük, amely a tesztvizsgálati vegyületek hígítási szériáját tartalmazta a végső koncentráció kétszeres értékében. A külső üregekbe steril desztillált vizet töltöttünk abból a célból, hogy az inkubálás során a párolgást megakadályozzuk. A találmány szerinti vegyületek mindenegyedű koncentrációja esetében három üreget alkalmaztunk. Egyes üregeket szabadon hagytunk és ezek nem kezelt kontrollként szerepeltek. Az exponenciálisan növekvő C-8166 sejteket számláltuk, és a sejtek számát  $1 \times 10^5$  sejt per üreg értékre állítottuk be. Ezt követően a sejteket labdaccsá alakítottuk, majd HIV vírussal fertőztük, és így 0,001 és 0,0001 fertőző egység per sejt multiplicitású fertőzést állítottunk elő.

A vírus adszorpciót 1 órán át szobahőmérsékleten végeztük. Ezt követően a sejteket labdaccsá alakítottuk, majd háromszor RPMI oldattal mostuk. Ezt követően a sejteket megfelelő térfogatú táptalajban újraszuszpendáltuk úgy, hogy ebből 100 µl-t adagolhattunk a mikrotitráló lemez mindenegyedű üregébe. A tenyésztő lemeze-

ket 37°C hőmérsékleten, 5% CO<sub>2</sub> tartalmú levegőben inkubáltuk. 3 nap inkubálás után a fertőzött sejteket megfigyeltük és az syncytia jelenlét mennyisége szempontjából osztályoztuk: +++ = 50%-100% cpe; ++ = 10%-50% cpe; + = <10% cpe és 0 = nem tapasztalható syncytia. Ezt követően mindenegyes üregből 100 µl felúszó mintát vettünk és a p24 vírusos mag antigén koncentrációt meghatároztuk ELISA módszerrel.

### p24 ELISA

96 üreges „U” aljú mikrotitráló lemezeket (Falcon, Becton Dickinson) a 60 központi üregben 100 µl affinitás-tisztított birka anti-HIV-1-p24 segítségével borítottunk (Aalto Bioreagents, Rathfarnham, Dublin, Ireland, kód D7320). A borítás koncentrációja 10 µg/ml a pufferben (100 mmol NaHCO<sub>3</sub>, pH 8,5). A terméket úgy állítottuk elő, hogy birkákat immunizáltunk 3 különféle szintetikus peptiddel, amely megfelel a p24 gag HIV-1 BH-10 törzs fehérje alábbi aminosavainak: 283-297 (LDIRQGPKEPFRDYV); 173-188 (SALSEGATPQDLNML) és 226-237 (GQMREPRGSDIA). A lemezeket +4°C hőmérsékleten tároltuk, hogy az antitestek kapcsolódását biztosítsuk. Ezt követően a lemezeket kétszer Tris pufferelt fiziológiás sóoldattal (TBS) (0,144 mol NaCl, 25 mmol Tris pH 7,5) mostuk. A mosás céljára mikrotitráló lemezmosót (Luminar Technologies) alkalmaztunk. Ezt követően a lemezt 2% fölözött tejjel blokkoltuk (Dadburys Marvel), amelyet TBS oldatban 1 órán át szobahőmérsékleten készítettünk. Ebből az anyagból 200 µl/üreg mennyiséget adagoltunk. Az elegyet TBS segítségével kétszer mostuk, majd 100 µl térfogat sejtmentes táptalaj folyadékot adagoltunk az üregekbe párhuzamosan 10 µl 1 térf./térf.%-os ikerionos detergens Empigen (Calbiochem) adagolásával. A p24 koncentráció várt értékétől függően a tenyészet folyadékot önmagában vagy 1:10, illetve 1:100 hígításban szkríneltük. A mintákat éjszakán át szobahőmérsékleten inkubáltuk,



majd az üregeket háromszor mostuk és 100 µl második anti-p24 antitest EH12E1-AP jelenlétében inkubáltuk, amely alkálikus foszfatázhoz (ADP 452) közvetlen konjugált és amelynek koncentrációja TBS-ben 1:3000, amely oldat 20%-os birka vérsavót (Seralab), 2% fölözött tejet (Cadburys Marvel) és 0,5% Tween 20 vegyületet (Sigma Chemical Co.) tartalmazott. Ez az antitest a HIV-1 CB1-1 izolátummal szemben mutat aktivitást, amelyet Bridget Ferns mutatott ki. Richard Tedder és munkatársai a Middlessex Hospital Medical School intézményben egy komplex epitop molekulában meghatározták szerkezetét, amely két elkülönülő peptid szekvenciát tartalmaz. Ezek a GHQAAMQMLKETINEEAAEWDRVHPVHAGPIAPGQ (aa 193-227) és a NPPIGVGEIYKRWII (aa 253-267). A két szekvencia HIV-1 törzsek között tárolt. Az EH12E1 (EH12E1-AP) alkálikus foszfatáz konjugátot a Novo BioLabs, Cambridge, U.K. állította elő. Ezt a konjugált antitestet az ADP reagens bankon keresztül nyertük. A lemezeket 37°C hőmérsékleten 1 órán át inkubátor/rázógép (Luminar Technologies) segítségével inkubáltuk. Ezt követően az üregeket háromszor TBS oldattal mostuk. Az üregeket végső mosásnak vetettük alá egy pufferben, amely kereskedelemben rendelkezésre álló alkálikus foszfatáz detektálásra alkalmas és az ún. felnagyító készletben az AMPAK [IQ (Bio) Ltd.] található. Az üregekhez 50 µl AMPAK szubsztrátot adagoltunk a gyártó előírásai szerint. Az elegyet 30 percen át szobahőmérsékleten tartottuk, majd 50 µl AMPAK sokszorosítót adagoltunk és ezt követően a reakció savval történő leállítását után a bíborszín intenzitást 492 nm értéknél Multiskan MCC/340 spektrofotométer (Flow Laboratories) segítségével mértük. A mérést kb. 10 perc elteltével hajtottuk végre.

Az immun tesztvizsgálatot rekombinációs HIV-1p24 (American Biotechnologies Inc.) alkalmazásával kalibráltuk. Ezt a vegyületet ADP segítségével szereztük be és a vegyületet kétszeres hígítás 100 ng/ml értéktől induló értékkel hajtottuk vég-

re. Ez a tesztvizsgálat általában lineáris választ eredményez 300 - 10000 pg/ml értékhatáron belül, azonban napi változás is tapasztalható.

A találmány szerinti vegyületek herpes-ellenes (HSV-1 és HSV-2) aktivitásának meghatározása

A tesztvizsgálat céljából HeLa (humán méhnyak karcinoma) sejteket ( $0,8 \times 10^5/0,1$  ml) vagy Vero (afrikai szürke majom vese) sejteket ( $1,0 \times 10^5/0,1$  ml) megfelelő táptalajban síkaljú 96 üreges (0,1 ml sejt/üreg) mikrotitráló lemezre vittünk (Falcon). A lemezeket  $37^\circ\text{C}$  hőmérsékleten nedvesített széndioxid tartalmú (5%  $\text{CO}_2$ , 95% levegő) légkörben 24 óra időtartamon át inkubáltuk. Ezt követően az inkubált táptalaj felhasználásra készen állt.

Mindenegyed tesztvizsgálatban a táptalajt a mikrotitráló lemez tenyészetéről kiszívtuk és 100  $\mu\text{l}$  fenntartó táptalajjal (sejt és vírus kontroll) vagy találmány szerinti vegyület a tesztvizsgálati koncentráció kétszeres térfogatára hígított oldatával helyettesítettük, amely oldatot a fenntartó táptalajban képeztünk (toxicitás kontroll, tesztvizsgálati üregek). Az elegyeket  $37^\circ\text{C}$  hőmérsékleten nedvesített széndioxid tartalmú levegőben 3 órán át inkubáltuk és mindenegyed tenyészethez 100  $\mu\text{l}$  fenntartó táptalajt (sejt és toxicitás kontroll) vagy vírust [Herpes simplex vírus 1 típus (HSV-1; HF törzs, ATCC VR-260) vagy Herpes simplex vírust, 2 típus (HSV-2; G törzs, ATCC VR-734)] adagoltunk, amely vírust fenntartó táptalajjal hígítottunk (vírus kontroll, vizsgált tesztvizsgálati vegyület üregek). Valamennyi tenyészetet  $37^\circ\text{C}$  hőmérsékleten inkubáltuk, majd az inkubálás 48. és 72. órájában mikroszkóposan vizsgáltuk (Herpes) vagy a 7., 10. és 14. napokon (CMV) vírus- és tesztvizsgálati vegyület-indukált sejtkórtan hatás szempontjából (CPE) vizsgáltuk. A CPE hatást 0 (nincs), 1+ (25%), 3+ (73%) vagy 4+ (100%) sejt monoréteg lebomlással jellemeztük. Ezeket az adatokat arra használtuk, hogy kiszámítsuk az 50%-os vegyület által kifejtett inhibitor koncentrációt ( $\text{IC}_{50}$ ).



### A találmány szerinti vegyületek citomegalovírus ellenes aktivitásának meghatározása

A tesztvizsgálat céljára MRC-5 sejtek ( $1,2 \times 10^5/0,1$  ml) megfelelő növekedési táptalajban készült elegyét vittük 0,1 ml sejt/üreg mennyiségben sík aljú 96 üreges titráló lemezekre (Falcon). Az elegyeket 24 órán át  $37^\circ\text{C}$  hőmérsékleten nedvesített széndioxid tartalmú (5%  $\text{CO}_2$ , 95% levegő) levegőben inkubáltuk. Ebben az időpontban a tenyészetek felhasználásra készen álltak.

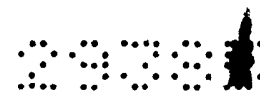
Valamennyi tesztvizsgálat esetében a növekedési táptalajt a mikrotitráló lemez tenyészetekből kiszívtuk és 100  $\mu\text{l}$  fenntartó táptalajjal (sejt és vírus kontroll) helyettesítettük vagy fenntartó táptalajban hígított, a tesztvizsgálati koncentráció kétszeresét tartalmazó tesztvizsgálat elegyekkel (toxicitás kontroll, tesztvizsgálati üregek) helyettesítettük. Az elegyeket 3 órán át  $37^\circ\text{C}$  hőmérsékleten nedvesített széndioxid tartalmú inkubátorban inkubáltuk, majd mindenegyik tenyészethez 100  $\mu\text{l}$  fenntartó táptalajt (sejt és toxicitás kontroll) vagy fenntartó táptalajban található vírust [humán citomegalovírus (CMV, AD-169 törzs, ATCC VR-538)] (vírus kontroll) tesztvizsgálati vegyület üregek) adagoltunk. A tenyészeteket  $37^\circ\text{C}$  hőmérsékleten inkubáltuk és 48, valamint 72 óra elteltével mikroszkóposan vizsgáltuk (Herpes) vagy 7., 10. és 14. nap elteltével (CMV) vírus- és vegyület-indukált citopatológias hatást (CPE) vizsgáltunk. A CPE hatást az alábbiak szerint osztályoztuk: 0 (nincs), 1+ (25%), 3+ (75%) vagy 4+ (100%) sejt monoréteg lebomlás. Ezekből az adatokból ezután kiszámítottuk a vegyület 50% inhibíciós koncentrációját ( $\text{IC}_{50}$ ).

Az acilo-nukleotid guanin-származékok foszforilezési hatásosságát ( $V_{\text{max}}/K_m$  arány) guanilát kináz segítségével összehasonlítottuk a GMP referencia szubsztrát hatásával. A  $V_{\text{max}}$  és a  $K_m$  paraméterek meghatározását a Navé és munkatársai, Arch. Biochem. Biophys. (1992), 295, 253-257 szakirodalomban leírt eljárással végeztük.

A találmány szerinti aktív hatóanyag adagolandó mennyisége igen széles értékhatárok között változhat, amelyek függenek az alkalmazott egységdózis formától, a kezelés időtartamától, a kezelt korától és nemétől, valamint a kezelendő betegség súlyosságától és természetétől. A találmány szerinti aktív hatóanyag vírusellenes hatásos összes mennyisége általában kb. 1 mg/kg - 100 mg/kg és előnyösen 3 mg/kg - 25 mg/kg közötti. Egy egységdózis forma 25-500 mg aktív hatóanyagot tartalmazhat és ez naponta egy vagy több alkalommal adagolható. Az (I) vagy (II) általános képletű aktív hatóanyag adagolható gyógyszerészeti hordozóanyaggal együtt szokásos dózisegység formában és az adagolás lehet orális, parenterális, helyi vagy transzdermális adagolás.

A leírásban a „beteg” elnevezés alatt emlősöket, mint például egeret, patkányt, macskát, kutyát, szarvasmarhát, birkát, sertést és főemlősöket, az embert is beleértve, értünk.

Orális adagolás céljára a találmány szerinti vegyületeket szilárd vagy folyékony készítménnyé alakíthatjuk, amelyek lehetnek például kapszula, pilula, tablettá, pirula, labdacs, olvadék, por, oldat, szuszpenzió vagy emulzió formák. A szilárd egységdózis forma lehet kapszula, amely például lehet szokásos kemény- vagy lágy-bevonatú zselatin kapszula, és amely például tartalmazhat felületaktív anyagokat, kenőanyagokat és inert töltőanyagokat, mint például laktózt, szukrózt, kalcium-foszfátot és kukoricakeményítőt. Más eljárás szerint a találmány szerinti vegyületek tablettá formává alakíthatók szokásos tablettá alapanyagok, mint például laktóz, szukróz és kukoricakeményítő alkalmazásával. A tablettá formában alkalmazhatunk kötőanyagot, mint például akáciát, kukoricakeményítőt vagy zselatint, dezintegráló szereket, amelyek a tablettá adagolás utáni feloldódását és felszívódását elősegítik, és amelyek lehetnek például kukoricakeményítő, alginsav, burgonyakeményítő és guar gumi, kenőanyagokat, amelyek javítják a tablettá granulátum folyóképességét



és mekadakályozzák a tablettá anyag tablettaprés felülethez történő tapadását, és amelyek lehetnek például talkum, sztearinsav vagy magnézium-kalcium- vagy cink-sztearát, továbbá festőanyagokat, színezőanyagokat és ízesítőanyagokat, amelyek a tablettá esztétikus megjelenését javítják és ezt elfogadhatóvá teszik a beteg számára. Alkalmas orális folyadék formájú készítményben használható kiegészítőanyagok például a hígítóanyagok, mint például a víz és alkoholok, például etanol, benzil-alkohol és polietilén-alkoholok, továbbá ezek a készítmények kívánt esetben tartalmazhatnak gyógyszerészetileg elfogadható felületaktív anyagokat, szuszpendálószereket vagy emulzifikáló szereket.

A találmány szerinti vegyületek továbbá adagolhatók parenterális úton, amely lehet szubkután, intravénás, intramuszkuláris vagy intraperitoneális adagolás. Ilyen adagolás céljára a találmány szerinti vegyület injektálható dózisát állítjuk elő, fiziológiailag elfogadható hígítóanyagokkal, amelyek megfelelő gyógyszerészeti hordozóanyagok és lehetnek például steril folyadékok vagy folyadék keverékek, mint például víz, fiziológiás sóoldat, vizes dextróz oldat és hasonló cukor oldatok, valamely alkohol, mint például etanol, izopropanol vagy hexadecil-alkohol, glikolok, mint például propilén-glikol vagy polietilén-glikol, glicerol-ketálok, mint például 2,2-dimetil-1,3-dioxolán-4-metanol, éterek, mint például polietilén-glikol 400, valamely olaj, valamely zsírsav, valamely zsírsav észter vagy glicerid, vagy valamely acetilezett-zsírsav-glicerid, továbbá ezek a készítmények kívánt esetben tartalmazhatnak gyógyszerészetileg elfogadható felületaktív anyagokat, mint például szappant vagy detergenst, szuszpendálószerkeket, mint például pektint, karbomereket, metil-cellulózt, hidroxil-propil-metil-cellulózt vagy karboxi-metil-cellulózt vagy emulzifikáló szereket és egyéb gyógyszerészetileg elfogadható adalékanyagokat. A parenterális adagolású készítményekben alkalmazható olajok a találmány szerint lehetnek például a petróleum, az állati-, növényi- vagy szintetikus eredetű olajok, mint például a mogyoróolaj,



a szójaolaj, a szezámolaj, a gyapotmag olaj, a kukoricaolaj, az olivaolaj, a petrolátum és az ásványi olaj. Alkalmas zsírsavak, amelyek a készítményben felhasználhatók, az olajsav, a sztearinsav és az izosztearinsav. A készítményben alkalmazható zsírsav-észterek például az etil-oleát és az izopropil-mirisztát. Az alkalmazható szappanok például zsírsav-alkáli-fém-, ammónium és -trietanol-amin sók, az alkalmazható detergenszek pedig lehetnek például kationos detergenszek, mint például dimetil-dialkil-ammónium-halogenidek, alkil-piridinium-halogenidek és alkil-amin-acetátok; továbbá anionos detergenszek, mint például alkil-, aril- és olefin-szulfonátok, alkil-, olefin-, éter- és mono-glicerid-szulfátok és szulfuszukcinátok; nem-ionos detergenszek, mint például zsírsav-amin-oxidok, zsírsav-alkanol-amidok és polioxi-etilén-poli-propilén-kopolimerek; és végül lehetnek amfoter detergenszek, mint például alkil- $\beta$ -amino-propionátok és 2-alkil-imidazolin-kvaterner ammónium-sók. Ezen túlmenően alkalmazhatjuk ezek keverékét is. A találmány szerinti parenterális készítmények jellemzően oldatban kb. 0,5 - kb. 25% aktív hatóanyagot tartalmaznak. A készítményekben továbbá alkalmazhatunk előnyösen tartósítóanyagokat és puffereket. Abból a célból, hogy az injektálás helyén az irritációt elkerüljük vagy csökkentjük, az ilyen készítmények tartalmazhatnak valamely nem-ionos felületaktív anyagot, amelynek hidrofil-lipofil egyensúlyi állandója (HLB) kb. 12 - kb. 17 közötti. Az ilyen készítményben alkalmazott felületaktív anyag mennyiség kb. 5 - kb. 15 tömeg% közötti. A felületaktív anyag lehet egyetlen komponens, amely a fenti HLB értékkel rendelkezik vagy lehet két vagy több komponens keveréke, amely együttesen a kívánt HLB értéket szolgáltatja. Alkalmazható parenterális készítményben felhasználható felületaktív anyagok például a polietilén-szorbitán-zsírsav-észterek, mint például a szorbitán-monooleát és a nagy molekulatömegű etilén-oxid, valamint hidrofób-bázis adduktok, amelyeket propilén-oxid és propilén-glikol kondenzációs reakciójával állítunk elő.



A találmány szerinti vegyületek továbbá adagolhatók helyi úton. Az adagolást úgy végezhetjük, hogy például egyszerűen az adagolandó vegyület oldatát képezük, előnyösen olyan oldószerben, amely elősegíti a transzdermális abszorpciót, mint például etanolban vagy dimetil-szulfoxidban (DMSO), egyéb segédanyagokkal vagy ezek nélkül. Előnyösen alkalmazható helyi adagolási forma a tapasz, amely lehet tartály és porózus membrán típusú vagy szilárd mátrix típusú. A helyi adagolás lehet ezen túlmenően a találmány szerinti vegyület oldatba vagy szuszpenzióba történő foglalása, amely oldatot vagy szuszpenziót ezután a szemekre vagy fülekre alkalmazhatunk.

Alkalmas transzdermális eszközöket írtak le a 3,742,951 számú, a 3,797,494 számú, a 3,996,934 számú és a 4,031,894 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésekben. Ezek az eszközök általában egy háttámlát tartalmaznak, amely az egyik felületet meghatározza, továbbá egy aktív anyag számára permeábilis tapadó réteget tartalmaznak, amely az eszköz másik felületét határozza meg. A két felületet meghatározó réteg között pedig legalább egy tartályt tartalmaznak, amely az aktív hatóanyagot hordozza. Más megvalósítás szerint az aktív hatóanyagot mikrokapszulák sokaságába foglalhatjuk, amely mikrokapszulák a permeábilis tapadó rétegben találhatóak. Mindkét esetben az aktív hatóanyag folyamatosan kerül ki a tartályból vagy a mikrokapszulákból egy membránon keresztül az aktív hatóanyag számára permeábilis tapadó rétegbe, amely tapadó réteg a bőrrel vagy a befogadó nyálkahártyával érintkezik. Az adagolás során az aktív hatóanyag a bőrbe szabályozott és meghatározott sebességgel abszorbeálódik és ilyen történik adagolása a betegnek. Amennyiben mikrokapszula formát alkalmazunk, a kapszulázó anyag egyben membránként is szolgálhat.

Transzdermális adagolás esetében a találmány szerinti vegyületek másik adagolási eszköze lehet egy mátrix forma, amelyben a gyógyszerészetileg aktív hatóanyag mátrixban található és kívánt, fokozatos, állandó és szabályozott sebességgel szolgáltatott a beteg számára. A mátrix permeábilis és átengedi a hatóanyagot a diffúzió vagy mikropórusos áram segítségével. A kibocsátás sebességszabályozott. Ilyen membránt nem tartalmazó eszközt írtak le a 3,921,636 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi bejelentésben. Ezekben a rendszerekben legalább két típusú hatóanyagkibocsátás lehetséges. A diffúzió által történő kibocsátás akkor történik, amennyiben az alkalmazott mátrix nem porózus szerkezetű. A gyógyszerészetileg hatásos vegyület oldódik és a mátrixban diffundál. A mikropórusos áram segítségével történő hatóanyagkibocsátás olyan esetben megy végbe, amennyiben a gyógyszerészetileg hatásos vegyületet valamely folyadékfázison keresztül a mátrix pórusaiban szállítjuk.

Az alábbi táblázatban bemutatjuk a találmány szerinti vegyületek előnyös csoportját, amely vegyületekben az általános képletben  $R_1$  és  $R_2$  jelentése hidrogénatom és  $R_3$  valamint  $R_4$  jelentése hidroxilcsoport.

$X_1$ és $X_2$	$X_3$ és $X_4$	Z	W	T
NH <sub>2</sub> , OH		CH <sub>2</sub>	W <sub>a</sub>	CH=CH
NH <sub>2</sub> , OH		CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>	W <sub>a</sub>	CH=CH
NH <sub>2</sub> , OH		CH <sub>2</sub>	W <sub>a</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
NH <sub>2</sub> , OH		CH <sub>2</sub>	W <sub>c</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
NH <sub>2</sub> , OH		CH <sub>2</sub>	W <sub>d</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
NH <sub>2</sub> , NH <sub>2</sub>		CH <sub>2</sub>	W <sub>a</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
NH <sub>2</sub> , NH <sub>2</sub>		CH <sub>2</sub>	W <sub>c</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
	H, NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	W <sub>a</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
	H, NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	W <sub>c</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
	H, NH <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub>	W <sub>d</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
NH <sub>2</sub> , NH <sub>2</sub>		CH <sub>2</sub>	W <sub>d</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
H, NH <sub>2</sub>		CH <sub>2</sub>	W <sub>d</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
H, NH <sub>2</sub>		CH <sub>2</sub>	W <sub>a</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
H, NH <sub>2</sub>		CH <sub>2</sub>	W <sub>b</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>
H, NH <sub>2</sub>		CH <sub>2</sub>	W <sub>c</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub>

Az alábbi táblázatban bemutatjuk a találmány szerinti előnyös vegyületek csoportját, ahol az általános képletben  $X_1$  és  $X_2$  jelentése sorrendben aminocsoport, illetve hidroxilcsoport, Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport, W jelentése W<sub>a</sub> általános képletű csoport és T jelentése CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport, R<sub>5</sub> és R<sub>5</sub>' jelentése metilcsoport, etilcsoport, izopropil-csoport, terc-butil-csoport vagy benzilcsoport, azonban R<sub>5</sub> és R<sub>5</sub>' jelentése nem azonos.

$R_3$	$R_4$
OH	$OR_5$
$OR_5$	$OR_5'$
$OR_5$	$OR_5$
$OR_5$	$OCH_2OC(O)R_5^*$
$OCH_2OC(O)R_5^*$	$OCH_2OC(O)R_5'^*$

és  $R_5$ , valamint  $R_5'$  jelentése továbbá lehet terc-butil-csoport.

## SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Új (I) és (II) általános képletű vegyületek, ezek sztereo-izomer formái, tautomer formái, valamint gyógyszerészetileg elfogadható sói, ahol az általános képletben

$X_1$  jelentése hidrogénatom vagy aminocsoport;

$X_2$  jelentése hidroxilcsoport vagy aminocsoport;

$X_3$  jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport; és

$X_4$  jelentése aminocsoport vagy hidroxilcsoport;

$Z$  jelentése  $\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{O}$ -csoport vagy  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ -csoport vagy  $Z$ -nen nincs jelentése;

$W$  jelentése  $W_a$  általános képletű csoport,  $W_b$  általános képletű csoport,  $W_c$  általános képletű csoport,  $W_d$  általános képletű csoport vagy  $W_e$  általános képletű csoport, ahol

$R_1$  és  $R_2$  jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, fluoratom vagy  $\text{CH}_2\text{OH}$ -csoport;

$T$  jelentése elhagyott vagy  $T'$  vagy  $T''$  általános képletű csoport, ahol

$T'$  jelentése  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}=\text{CH}$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})$ -csoport, vagy  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{F})$ -csoport és

$T''$  jelentése  $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{OH})$ -csoport,  $\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_2\text{OH})$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})$ -csoport vagy  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{F})$ -csoport és

$R_3$  és  $R_4$  jelentése egymástól függetlenül hidroxilcsoport,  $\text{OR}_5$  általános képletű csoport,  $\text{OR}_5$  általános képletű csoport vagy  $-\text{O}-\text{CH}(\text{R}_6)-\text{O}-\text{C}(\text{O})\text{R}_5$  általános képletű csoport, azzal a feltétellel, hogy amennyiben  $R_3$  vagy

$R_4$  valamelyikének jelentése hidroxilcsoport, a másik jelentése nem lehet  $-O-CH(R_6)-OC(O)R_5$  általános képletű csoport, továbbá ahol  $R_5$  és  $R_6$  jelentése egymástól függetlenül 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport és  $R_6$  jelentése hidrogénatom vagy 1-10 szénatomszámú alkilcsoport,

azzal a feltétellel, hogy amennyiben T jelentése  $CH=CH$  képletű csoport vagy  $CH_2CH_2$ -csoport, W jelentése  $W_c$  általános képletű csoport és Z jelentése  $CH_2$ -csoport, akkor egyidejűleg  $X_1$  jelentése nem aminocsoport és  $X_2$  jelentése nem hidroxilcsoport;

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben W jelentése  $W_e$  általános képletű csoport, akkor Z jelentése  $CH_2$ -csoport vagy Z-nek nincs jelentése,

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben T-nek nincs jelentése, abban az esetben W jelentése  $W_c$  általános képletű csoporttól eltérő,

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben Z jelentése  $CH_2$ -csoport és W jelentése  $W_a$  általános képletű csoport, akkor T jelentése nem lehet  $CH=CH$ -csoport; és

azzal a feltétellel, hogy amennyiben Z-nek nincs jelentése és W jelentése  $W_c$  általános képletű csoport, akkor T jelentése nem lehet  $CH=CH$ -csoport.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben amennyiben W jelentése  $W_a$  vagy  $W_b$  általános képletű csoport és T jelentése T" általános képletű csoport, akkor Z jelentése nem  $CH_2OCH_2$ -csoport; amennyiben W jelentése  $W_c$  vagy  $W_d$  általános képletű csoport és T jelentése T" általános képletű csoport, akkor Z jelentése nem  $CH_2OCH_2$ -csoport; vagy amennyiben W jelentése  $W_c$  vagy  $W_d$  általános képletű csoport és T jelentése T" általános képletű csoport, akkor Z jelentése  $CH_2$ -csoport.

3. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben W jelentése  $W_a$  vagy  $W_c$  általános képletű csoport.

4. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben T jelentése T' és T' jelentése CH=CH csoport.
5. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben T jelentése T'' képletű csoport és T'' jelentése CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport.
6. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport vagy CH<sub>2</sub>O-csoport.
7. Az 1. igénypont szerinti E-9-[5-(dihidroxi-foszforil)-3-metilidén-4-pentenil]-guanin.
8. Az 1. igénypont szerinti E-9-[4-(dihidroxi-foszforil)-2-metilidén-3-buteniloxi]-metil]-guanin.
9. Az 1. igénypont szerinti E-9-[3-(dihidroxi-foszforil-metoxi)-2-metilidén-propil]-guanin.
10. Az 1. igénypont szerinti Z-9-[4-(dihidroxi-foszforil)-2-butenil]-guanin.
11. Az 1. igénypont szerinti 9-[4-(dihidroxi-foszforil)-2-butenil]-guanin.
12. Az 1. igénypont szerinti 9-[3-(dipivaloil-metoxi-foszforil-metoxi)-2-metilidén-propil]-guanin.
13. Az 1. igénypont szerinti vegyület, ahol az általános képletben X<sub>1</sub> jelentése aminocsoport és X<sub>2</sub> jelentése hidroxilcsoport.
14. Az 1. igénypont szerinti vegyület, amely csak az (I) általános képletű vegyület.
15. Gyógyszerkészítmény, azzal jellemezve, hogy az 1. igénypont szerinti vegyületet gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyaggal kombinációban tartalmazza.
16. Az 1. igénypont szerinti vegyület alkalmazása DNS vírusok által okozott vírusos fertőzés kezelésére, továbbá retrovírus vagy tumor képződésben szerepet játszó vírusfertőzés kezelésére.

17. Az 1. igénypont szerinti vegyület alkalmazása gyógyszerészetileg aktív vegyületként.

18. Az 1. igénypont szerinti vegyület alkalmazása kívánt esetben gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyaggal kombinációban gyógyszerkészítmény előállítására, amely alkalmas DNS vírusok által okozott vírusos fertőzés, retrovírusok által okozott vírusfertőzés vagy tumorképzősédsben szerepet játszó vírusok által okozott vírusfertőzés kezelésére.

19. Eljárás az (I) vagy (II) általános képletű vegyületek, sztereoizomer formáik és ezek keverékei, tautomer formái vagy gyógyszerészetileg elfogadható sóik előállítására, ahol az általános képletben

$X_1$  jelentése hidrogénatom vagy aminocsoport;

$X_2$  jelentése hidroxilcsoport vagy aminocsoport;

$X_3$  jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport; és

$X_4$  jelentése aminocsoport vagy hidroxilcsoport;

$Z$  jelentése elhagyott vagy  $\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{O}$ -csoport vagy  $\text{CH}_2\text{OCH}_2$ -csoport;

$W$  jelentése  $W_a$  általános képletű csoport,  $W_b$  általános képletű csoport,  $W_c$  általános képletű csoport,  $W_d$  általános képletű csoport vagy  $W_e$  általános képletű csoport, ahol

$R_1$  és  $R_2$  jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom, fluoratom vagy  $\text{CH}_2\text{OH}$ -csoport;

$T$  jelentése elhagyott vagy  $T'$  vagy  $T''$  általános képletű csoport, ahol

$T'$  jelentése  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ -csoport,  $\text{CH}=\text{CH}$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})$ -csoport,  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})$ -csoport, vagy  $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{F})$ -csoport és



T'' jelentése CH=CH-CH(OH)-csoport, CH=CH-CH(CH<sub>2</sub>OH)-csoport, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>-csoport, CH<sub>2</sub>OCH(CH<sub>2</sub>OH)-csoport, CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>-csoport, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OH)-csoport, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>OH)-csoport vagy CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>2</sub>F)-csoport és

R<sub>3</sub> és R<sub>4</sub> jelentése egymástól függetlenül hidroxilcsoport, OR<sub>5</sub> általános képletű csoport, OR<sub>5</sub> általános képletű csoport vagy -O-CH(R<sub>6</sub>)-O-C(O)R<sub>5</sub> általános képletű csoport, azzal a feltétellel, hogy amennyiben R<sub>3</sub> vagy R<sub>4</sub> valamelyikének jelentése hidroxilcsoport, a másik jelentése nem lehet -O-CH(R<sub>6</sub>)-OC(O)R<sub>5</sub> általános képletű csoport, továbbá ahol R<sub>5</sub> és R<sub>5</sub> jelentése egymástól függetlenül 1-15 szénatomszámú alkilcsoport vagy benzilcsoport és R<sub>6</sub> jelentése hidrogénatom vagy 1-10 szénatomszámú alkilcsoport,

azzal a feltétellel, hogy amennyiben T jelentése CH=CH képletű csoport vagy CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-csoport, W jelentése W<sub>c</sub> általános képletű csoport és Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport, akkor egyidejűleg X<sub>1</sub> jelentése nem aminocsoport és X<sub>2</sub> jelentése nem hidroxilcsoport;

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben W jelentése W<sub>e</sub> általános képletű csoport, akkor Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport vagy Z-nek nincs jelentése,

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben T-nek nincs jelentése, abban az esetben W jelentése W<sub>c</sub> általános képletű csoporttól eltérő,

továbbá azzal a feltétellel, hogy amennyiben Z jelentése CH<sub>2</sub>-csoport és W jelentése W<sub>a</sub> általános képletű csoport, akkor T jelentése nem lehet CH=CH-csoport; és

azzal a feltétellel, hogy amennyiben Z-nek nincs jelentése és W jelentése W<sub>c</sub> általános képletű csoport, akkor T jelentése nem lehet CH=CH-csoport,

azzal jellemezve, hogy

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ (\text{RO})_2\text{-P-TPg-W-Z-Base} \end{array}$$
 általános képletű vegyületből, ahol az általános képletben R jelentése  $\text{R}_5$ ,  $\text{R}_5'$  vagy  $\text{CH}_2\text{-(R}_6\text{)-O-C(O)R}_5$  általános képletű csoport, a fent megadott szerint, Pg jelentése védőcsoport és Base jelentése (33) általános képletű vagy (34) általános képletű csoport, a védőcsoportot eltávolítjuk és kívánt esetben a terméket hidrolizáljuk, így a

$$\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ (\text{HO})_2\text{-P-TPg-W-Z-Base} \end{array}$$
 általános képletű vegyületet állítjuk elő.

A meghatalmazott

**Somlai Mária**

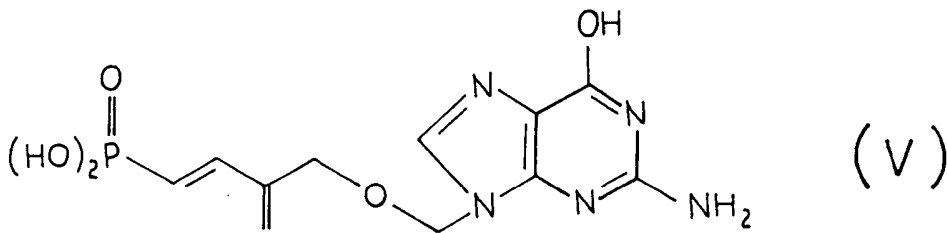
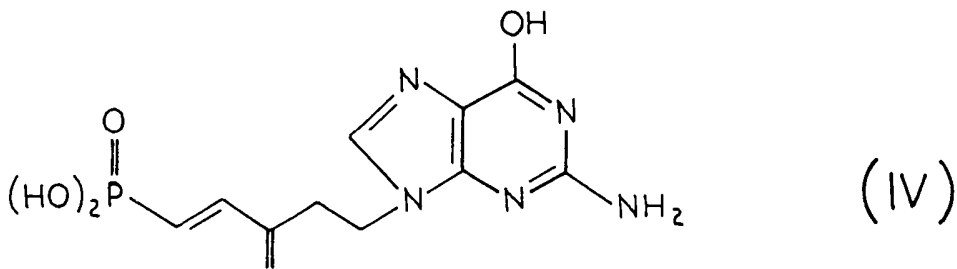
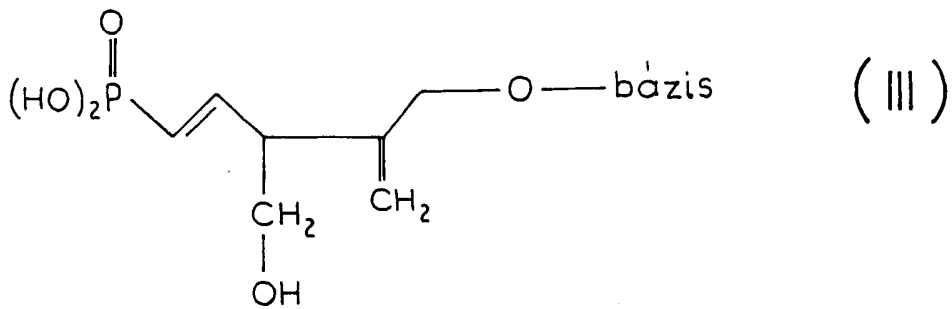
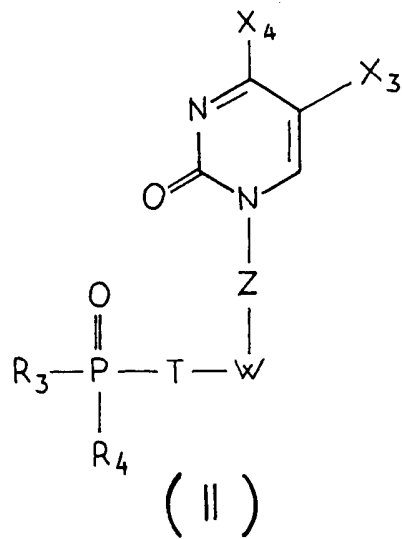
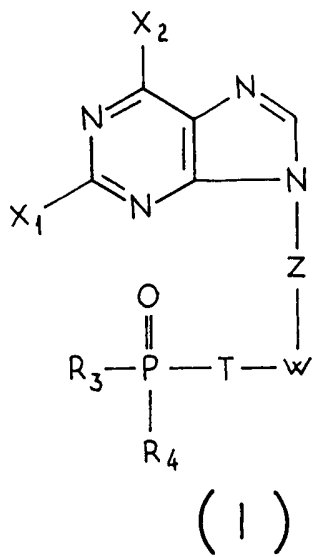
szabadalmi ügyvivő  
 az S.B.G. & K. Nemzetközi  
 Szabadalmi Iroda tagja  
 H-1062 Budapest, Andrássy út 113.  
 Telefon: 34-24-930, Fax: 34-24-222

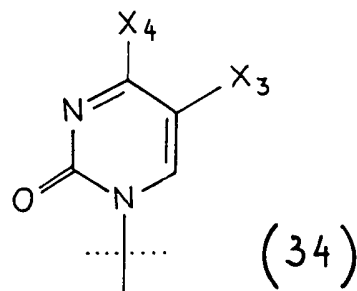
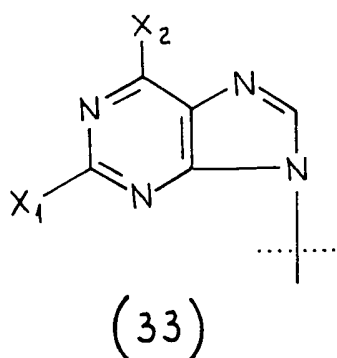
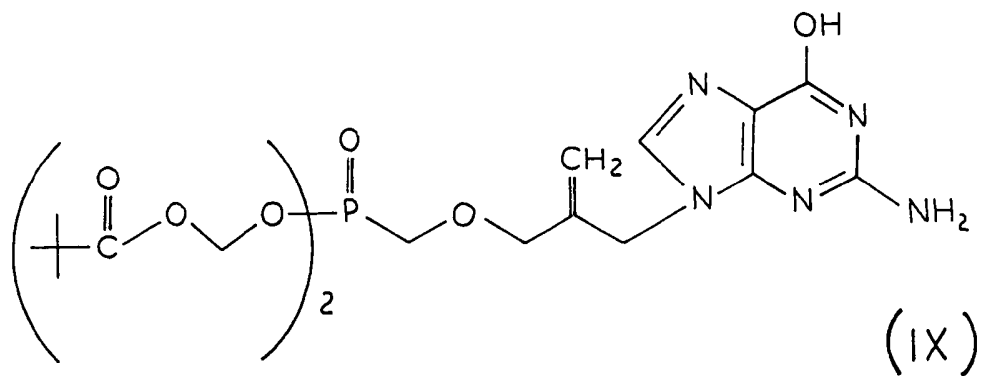
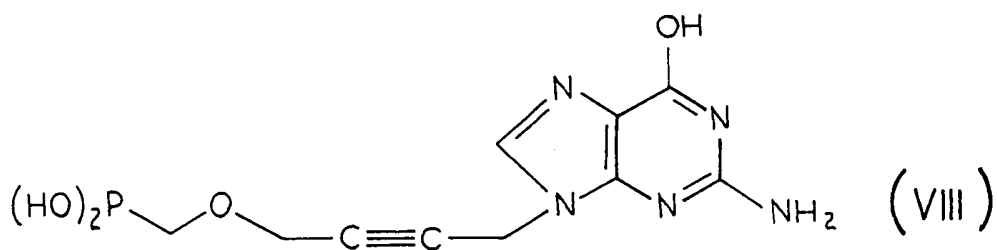
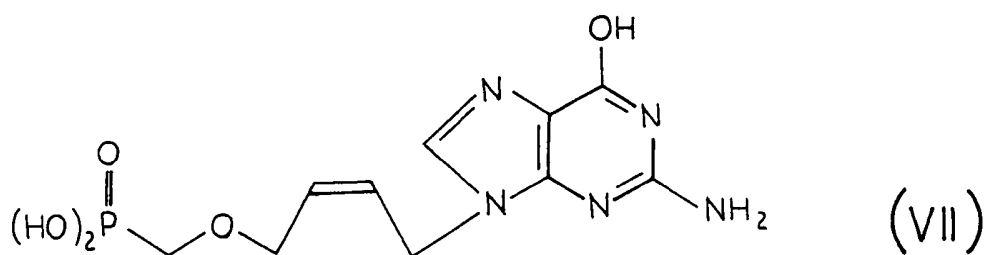
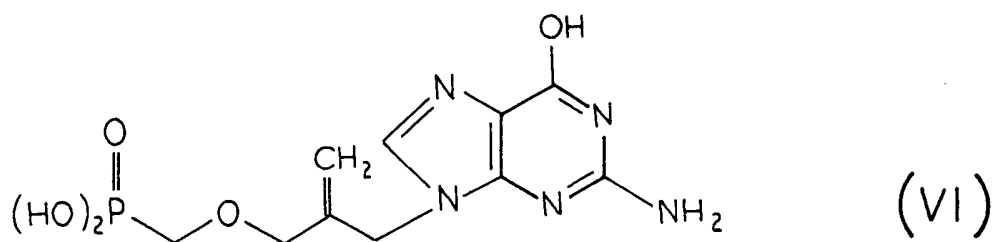
2854/95

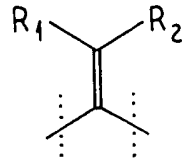
KÖZZÉTÉTELI  
PÉLDÁNY

72459

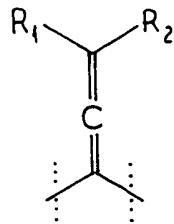
3/1







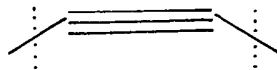
(wa)



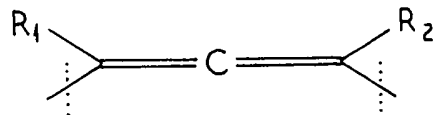
(wb)



(wc)



(wd)



(we)