

(19) Országkód:

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG
ORSZÁGOS
TALÁLMÁNYI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

211 547 A9

(21) A kérelem ügyszám: P/P 00134
(22) A bejelentés napja: 1995. 05. 12.
(30) Elsőbbségi adatok:
87/01605 1987. 04. 16. SE

Az alapul szolgáló szabadalom
száma: 0 309 560 országkódja: EP
Az alapul szolgáló külföldi szabadalomnak
az oltalmi idő számítása szempontjából
figyelembe veendő kezdő napja: 1988. 04. 06.
Az oltalom e naptól számított 20 évig tartható fenn.

A hazai oltalom kezdete: 1994. 07. 01.

(51) Int. Cl.⁶

C 07 H 19/06
C 07 H 19/073
C 07 D 239/46
C 07 D 405/04
C 07 D 409/04
A 61 K 31/70

(72) Feltalálók:

Johansson, Karl Nils Gunnar, Enhörna (SE)
Lindborg, Björn Gunnar, Älvsjö (SE)
Stening, Göran Bertil, Södertälje (SE)
Datema, Roelf, Södertälje (SE)
Kovacs, Zsuzsanna Mária Ilona, Pietra Ligure (IT)
Öberg, Bo Fredrik, Uppsala (SE)

(73) Szabadalmas:

Medivir Aktiebolag, Huddinge (SE)

(74) Képvisező:

S.B.G. & K. Budapesti Nemzetközi Szabadalmi
Iroda, Budapest

(54) **Nukleozidok és nukleozidszármazékok, gyógyászati készítmények
és eljárás a vegyületek előállítására**

Az átmeneti oltalom az 1–4. igénypontokra vonatkozik.

A találmány olyan kémiai vegyületekkel és azok gyógyászati szempontból alkalmazható sóikkal foglalkozik, melyek alkalmasak a szerzett immunhiánybetegség (AIDS), a HIV vírus (Human Immunodeficiency Virus), a hepatitis B vírus, valamint retrovírus okozta fertőzések megelőző és gyógyító kezelésére és legyőzésére, továbbá olyan eljárásokkal, melyekkel az említett betegségek embernél és állatnál kezelhetők és legyőzhetőek.

A hetvenes évek végén egy új betegséget írtak le szerzett immunhiánybetegség (Acquired Immuno Deficiency Syndrome, AIDS) néven. Ma már általánosan elfogadott, hogy az AIDS etiológiájában a HIV vírusnak nevezett retrovírus lényeges szerepet játszik [a vírus előzőleg humán T sejt limfotrop vírusként (HTLV-III) vagy nyirokcsomó-megbetegedéssel kapcsolatos vírusként (LAV) volt ismert].

Az AIDS betegséget súlyos immunitáshiány jellemzi, amit a HIV fertőzés támadási pontjaként szolgáló limfocita T-helper sejtek alacsony száma okoz. A súlyos immunitáshiány miatt az AIDS betegek igen fogékonyak a baktériumok, gombák, protozoák vagy vírusok okozta alkalmi fertőzésekre. Az alkalmi vírusfertőzések kórokozói között gyakoriak a herpes vírusok csoportjába tartozók, mint amilyen a Herpes simplex (HSV), a Varicella zoster (VZV), az Epstein-Bar vírus (EBV) és különösen a cytomegalo vírus (CMV). További humán retrovírus a HTLV-I és HTLV-II; állatokra ható retrovírusra példaként említjük a macskafélék leukémia vírusát és a lovak fertőző anaemia vírusát.

A hepatitis B vírus jelentős számú személynél okoz súlyos betegséget, például akut hepatitist, krónikus hepatitist, heveny lefutású hepatitist. A földön 200 millió beteg szenved krónikus hepatitisben. A krónikus esetek jelentős számánál májcirrosis és májdaganatok fejlődnek ki. A hepatitis fertőzések bizonyos eseteiben gyors és heveny lefutású hepatitis B alakul ki, melyek kb. 90%-ban halálos kimenetelűek. Jelenleg nem ismert a hepatitis B fertőzés elleni hatékony gyógymód.

A nukleozidanalógok nagy száma mutat antimetabolikus aktivitást azáltal, hogy helyettesítik a természetes nukleozidokat vagy kompetitív viszonyban állnak velük. Jelenleg már leírtak néhány olyan nukleozidanalógot, melyek sejtkultúrákban az AIDS vagy AIDS-sel rokon betegségkomplex (ARC) okozati tényezőjeként ismert HIV vírus szaporodását gátolják. Ilyen vegyület például az azodotimidin, dideoxicitidin és a dideoxiadenozin. Ezeknél és más, a HIV vírussal (másnéven HTLV-II, LAV) szembeni antimetabolikus nukleozidanalógnál a nukleozid bázis és a glikozid rész közötti geometrikus viszony olyan, mint a természetes nukleozidoknál, vagyis β -anomerek.

Meglepő módon úgy találtuk, hogy néhány ellenkező geometriai konfigurációjú α -anomer nukleozid és nukleozidanalóg hatásosan gátolja a HIV szaporodását, de a sejtosztódást nem.

HIV ellenes aktivitást mutatnak az olyan geometriai izomerek, melyek nukleozid bázisát, glikozid részét vagy mindkettőt módosították. A találmány foglalkozik az ilyen vegyületek szerkezetével.

Az alábbiakban az (I) általános képletű vegyületekhez hasonló szerkezetű, ismert vegyületeket sorolunk fel:

- 5 1) A (II) általános képletű vegyületek, ahol R^3 jelentése hidroxilcsoport és R^1 jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport [T. Nishimura, B. Shinizu, I. Iwai, Chem. Pharm. Bull. (Tokió), 12:1471 (1964)]; R^1 jelentése etilcsoport [M. Swierkowski, D. Dhugar, J. Med. Chem., 12:533 (1969)];
- 10 R^1 jelentése n-propilcsoport [A. Szabó, J. Sági, L. Ötvös, J. Chemistry, 54:1085 (1980)]; R^1 jelentése izopropilcsoport [M. Draminski, A. Zgit-Wroblecka, Polish J. Chemistry, 54:1085 (1980)];
- 15 R^1 jelentése etinilcsoport [P. J. Barr, A. S. Jones, P. Sherafinowski, R. Walker, J. Chem. Soc. Perkin I. (1978) 1263–1267] és ahol R^3 jelentése azidocsoport és R^1 jelentése metilcsoport [M. Imezawa, F. Eckstein, J. Org. Chem. 43:3044–3048 (1978)].
- 20 2) A (III) általános képletű vegyületek, ahol R^1 jelentése etinilcsoport [P. J. Barr, A. S. Jones, P. Serafinowski, R. Walker, J. Chem. Soc. Perkin I (1978) 1263–1267]; R^1 jelentése hidrogénatom [J. J. Fox, N. C. Yung, J. Wempen és M. Hoffer, J. Am. Chem. Soc., 83:4066–4070 (1961)].
- 25 Mindkét fenti csoportba csak olyan vegyületek tartoznak, melyeknél a 3'-as helyű csoport és a 4'-es helyen lévő hidroxil-metil-csoport transz konfigurációban van egymáshoz viszonyítva.
- 30 További (III) általános képletű és (II) általános képletű – ahol R^3 jelentése hidroxilcsoport – vegyületek ismertek még az alábbi irodalmakból:
- 35 J. Med. Chem. 17:269–273 (1974), DE-A-3 002 197, DE-A-3 229 169, US-A-3 116 282, Chem. Pharm. Bull., 32: 1441–50 (1984) (Chem. Abst. 102:7013q), Vopr. Virusol 1979 (6) 603–6 (Chem. Abst. 92:208 903d), DE-A-2 930 904, DE-A-2 918 260, DE-A-3 045 375, US 4 247 544, US 4 267 171,
- 40 J. Carbohydr. Nucleos. Nucleot., 5:187–224 (1978), FR-A-2 040 177.
- 45 3) A (IV) általános képletű vegyületek, ahol B jelentése purin vagy citozin bázis [EP-0 206 497 és US 3 812 982].
- 4) Az (V) általános képletű vegyület, ahol A jelentése purin vagy pirimidin bázis [EP 0 217 580, EP 0 196 185 és EP 0 199 451].
- 5) A (VI) általános képletű vegyület, ahol R^1 jelentése hidrogénatom, metilcsoport vagy etilcsoport és a (VII) képletű vegyület [EP 0 277 151, US 3 775 397, EP 0 254 268, DD 75 084, GB 1 189 973].
- 50 6) A (VIII) általános képletű vegyületek, ahol B jelentése timin vagy citozin [Yamauchi és munkatársai, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. (1980) 2787–2792].
- 7) A (IX) általános képletű, ahol X, Y és Z jelentése hidrogénatom vagy metilcsoport, citozin-glikozidok [Darzynkiewicz és munkatársai, Biochem. Bi-
- 60

ophys. Res. Comm., 46:1734 (1972);
Remin és Shugar, JACS, 95:8146 (1973)].

- 8) A (X) képletű 2',3'-dideoxi-3'-(R)-hidroxi-metil-uridin [Japanes Laying Open Print No. 57-146 798; Nucleosides et Nucleotides 1263-273 (1982)].

A találmány tárgya a HIV vírus szaporodását gátló (I) általános képletű α - vagy β -anomer, ahol A jelentése a (XI) képletű csoport és R jelentése hidroxi-metil-csoport, és az R csoport cisz- vagy transz konfigurációban állhat a 4'-es helyen lévő hidroxi-metil-csoporttal, valamint e vegyületek gyógyászati szempontból alkalmazható sói. Az (I) általános képletű vegyületek alkalmasak az ember és az emlősök HIV vírus okozta fertőzésének megelőzésére és/vagy kezelésére.

Általánosságban fogalmazva, az (I) általános képletű vegyületek alkalmasak gyógyászati és/vagy megelőző ágensként való alkalmazásra embernél és emlősök-nél a retrovírusok és a hepatitis B vírus okozta fertőzések kezelésére és gyógyítására.

A szaporodás természetes ciklusában valamennyi retrovírusnak, így a HIV vírusnak is, szükséges van reverz transzkriptáz enzimre.

A hepatitis B vírus (HBV) egy DNS vírus, melynek sajátos kettős szálú körkörös DNS genomja egyes részeken egyszálú. Egy specifikus DNS-polimerázt tartalmaz, mely a vírus szaporodásához szükséges. Ez a DNS-polimeráz reverz transzkriptázként is működik a HBV DNS replikációja alatt, amiben egy RNS köztes-termék vesz részt.

Az (I) általános képletű vegyület gátolja a HIV vírust is magában foglaló retrovírusok reverz transzkriptázát, valamint a hepatitis B vírus DNS-polimerázát.

A jelen találmány foglalkozik:

- 1) új, (I) általános képletű vegyületekkel;
- 2) gyógyszerkészítményekkel, melyek hatóanyagként az (I) általános képletű vegyületet tartalmazzák;
- 3) az (I) általános képletű vegyület gyógyászati célú alkalmazásával;
- 4) az (I) általános képletű vegyület felhasználásával a retrovírus – beleértve a HIV vírust – vagy a hepatitis B vírus okozta fertőzések gyógyítására és/vagy megelőzésére szolgáló gyógyszerkészítmény ipari méretű előállításánál. Az emlősök és az ember retrovírus – beleértve a HIV vírus – vagy hepatitis B vírus okozta fertőzése oly módon kezelhető vagy előzhető meg, hogy a szervezetbe az (I) általános képletű vegyület e kezeléshez szükséges hatásos mennyiségét juttatjuk be.

A találmány előnyös kivitelezési módja az ember HIV vírus okozta fertőzésének a leküzdése.

Előnyös vegyület például a (XII) általános képletű vegyület, ahol R jelentése hidroxi-metil-csoport.

Az előnyös vegyület példájánál a 3'-as helyen lévő R csoport és a 4'-es helyen lévő hidroxi-metil-csoport transz-konfigurációban áll.

A klinikai gyakorlatban az (I) általános képletű nukleozidokat általában szájon át, injekcióval vagy infúzióval juttatjuk be gyógyszerkészítmény alakjában. A gyógyszerkészítmény hatóanyaga vagy az eredeti vegyület állapotában van vagy annak gyógyászati szem-

pontból alkalmazható sójaként szerepel. A gyógyszerkészítmény a hatóanyagot gyógyászati szempontból alkalmazható vívmólyanyagok kíséretében tartalmazza, melyek lehetnek szilárdak, félfolyékonyak vagy folyékonyak; vagy a hatóanyag bevehető kapszulába zártan. Gyógyszerkészítmény példajaként említhetjük a tablettát, drázsét, kapszulát, granulátumot, szuszpenziót, elixírt; szirupot, oldatot, stb. A hatóanyag az injektálható készítményben általában 0,05–20%-ban, a szájon keresztül adandó készítményekben 10–90%-ban szerepel.

A retrovírus – különösen HIV vírus – vagy hepatitis B vírus fertőzésben szenvedő beteg kezelésekor a hatóanyag bejuttatása bármely alkalmas módon történhet, nevezetesen szájon át, parenterálisan, végbélen keresztül, orron át, helyileg alkalmazva vagy a hüvelyen keresztül. A parenterális bevitel történhet szubkután, intramuszkulárisan, intravénásan vagy nyelv alatt. A helyi bevitel történhet szájban, nyelv alatt. A bevivendő hatóanyag dózisa széles tartományban változhat, és különböző tényezőktől függ, például a fertőzés súlyosságától, a beteg korától, stb. A dózist egyedileg állapítjuk meg. A találmány szerinti vegyületnek vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sójának lehetséges napi dózisa 10 és 10 000 mg között változhat, intravénás bevitelnél előnyösen 100–500 mg, szájon át történő adagolásnál előnyösen 100–3000 mg naponta.

Az (I) általános képletű vegyület gyógyászati szempontból alkalmazható sóját képezhetjük szerves savval, például ecetsavval, tejsavval, glükonsavval, citromsavval, borostyánkőssavval, maleinsavval, almasavval, pantoténsavval, izotionsavval, borkőssavval, oxálsavval, laktobionsavval, szerves szulfonsavakkal, mint amilyen a metánszulfonsav, etánszulfonsav, benzolszulfonsav, p-klór-benzolszulfonsav vagy p-toluolszulfonsav; és szerves savakkal, például klór-hidrogén-savval, jód-hidrogén-savval, kénsavval, foszforsavval és szulfaminsavval.

A bevitt vegyületet a kezelésnél alkalmazhatjuk más gyógyszerekkel együtt, például 9-[(2-hidroxi-1-(hidroxi-metil)-etoxi)-metil]-guaninnal, 9-(2-hidroxi-etoxi-metil)-guaninnal (acyclovir), 2-amino-9-(2-hidroxi-etoxi-metil)-purinnal, interferonnal – például α -interferonnal, interleukin II-vel és foszfonoforimiáttal; vagy az immunitást módosító kezelés kíséretében, például csontvelő vagy limfocita transzplantációval vagy gyógyszeres kezeléssel, ami lehet például levamisol vagy thymosin, ami a szükségletnek megfelelően növeli a limfociták számát és/vagy fokozza az aktivitásukat.

A találmány szerinti vegyületek előállíthatók a találmány tárgyát képező általános eljárások valamelyikével.

A) Az irodalomban leírt ismert módszerek szerint az (I) általános képlettel leírt glükozidot – ahol a hidroxilcsoport adott esetben védett – az A csoportnak megfelelő pirimidin származék N-1-es helyén történő kondenzációval állítjuk elő, majd ezt követően elválasztjuk az α -anomert és eltávolítjuk – ha volt – a védőcsoportot(ka)t. Az előállításra alkalmas módszereket találunk például az alábbi munkákban: „Basic principles in nucleic acid chemistry”, 1. kötet (Academic Press, 1974,

szerk. P. O. P. Ts'o); „Nucleosid analogues, chemistry, biology and medical applications” (Pharma Press, 1979, szerk.: R. T. Walker, E. De Clercq és F. Eckstein); „Nucleic acid research”, 12. köt. 1984, 6827–6837 old. (A. J. Hubbard, A. S. Jones és R. T. Walker).

Az 1. ábrán egy példát adunk meg a módszerre, mely példában egy uracilbázis analóg szerepel, ahol az általános képletben R jelentése $-\text{CH}_2\text{OR}'$ általános képletű csoport és R' jelentése a nagyszámú ismert védőcsoport valamelyike, például p-toluoil-, acetyl-, trityl- vagy benzilcsoport.

B) A (XIII) általános képletű – ahol A jelentése a fentiekben meghatározott, R jelentése $-\text{CH}_2\text{OR}'$ általános képletű csoport, R' jelentése hidrogénatom vagy hidroxilcsoportot védő csoport – β -anomert anomerizáljuk α - és β -anomerek elegyév, majd az α -anomert elválasztjuk és a védőcsoportokat eltávolítjuk. Az anomerizálás ismert módszerrel történhet, például egy szililezett nukleozidból kiindulva, katalizátor, például trimetil-szilil-trifluor-metánszulfonát felhasználásával a 2. ábrán bemutatott folyamat szerint. Az általános képletekben R és R' jelentése azonos a fentebb tett meghatározásokkal.

C) Transzglykozilálási reakcióval, ahol egy nukleozid bázishoz α - vagy β -kötéssel kapcsolódó cukorrészt átviszünk a kívánt pirimidin bázisra. A reakcióhoz használt katalizátor például trimetil-szilil-trifluor-metánszulfonát lehet. Ezt követően a termékeket elválasztjuk és a védőcsoportokat eltávolítjuk. A reakciót a 3. ábrán szemléltetjük, ahol az általános képletekben R és R' jelentése azonos a fentebb tett meghatározásokkal; B jelentése pirimidin vagy purin bázis, melynek megválasztása nem döntő.

D) Az α -anomer nukleozidra az alkalmas R'' leváló csoport helyettesítésével felvisszük az R* funkciós csoportot vagy annak előanyagát, majd eltávolítjuk a védőcsoportokat. A reakciókat a 4. ábrán mutatjuk be. Az általános képletekben R' jelentése azonos a fentebb tett meghatározásokkal, R'' jelentése kedvező leváló csoport, például trifluor-metánszulfonil-oxi-csoport, R* jelentése a hidroxil-metil-csoport szintonja, például (XIV) képletű csoport; R* jelentése védőcsoport.

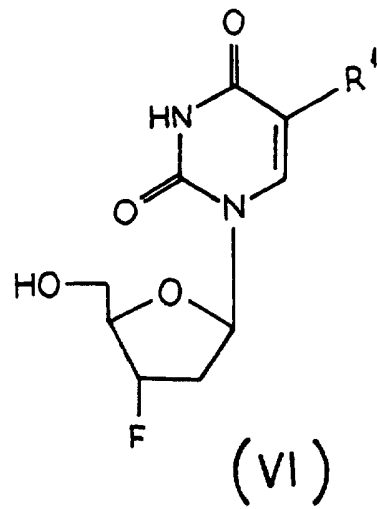
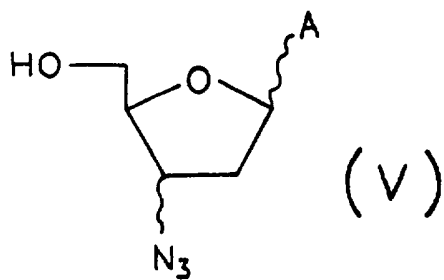
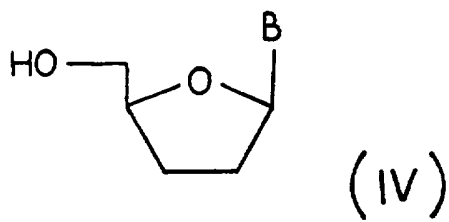
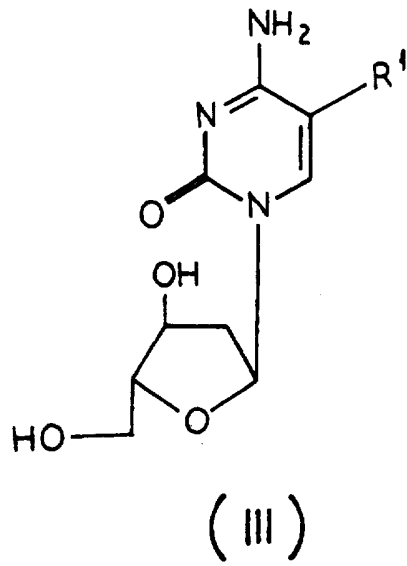
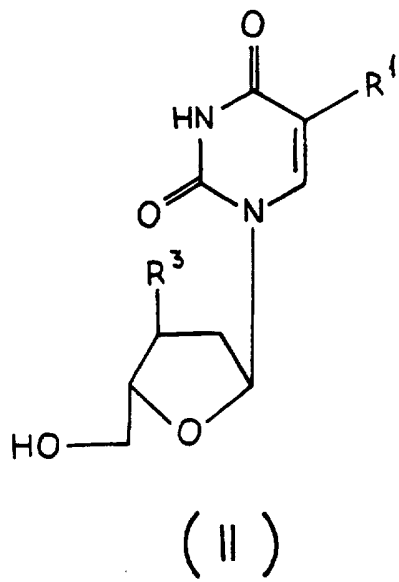
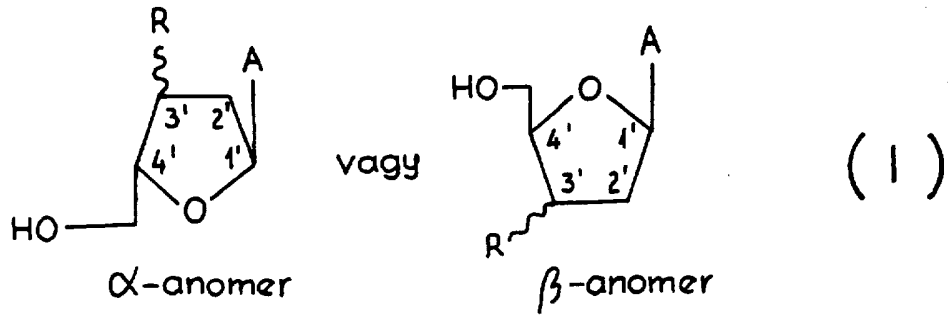
Az R* funkciós csoport bevitelének egy alternatív módját mutatjuk be az 5. ábrán, ahol egy 2,3'-anhidro- α -anomert reagáltatunk. Az általános képletben R' és R* jelentése azonos a fentebb tett meghatározásokkal.

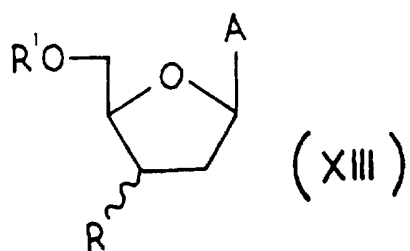
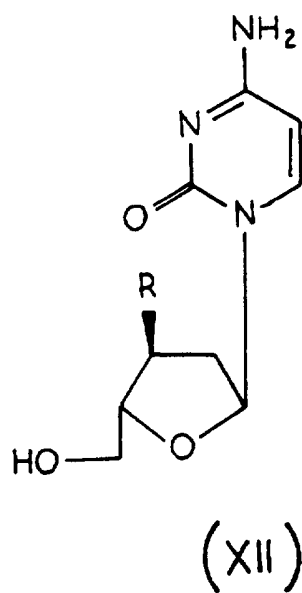
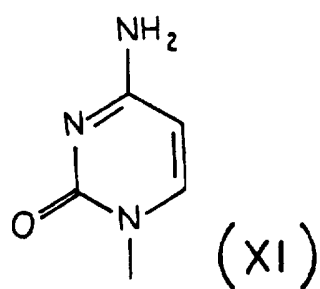
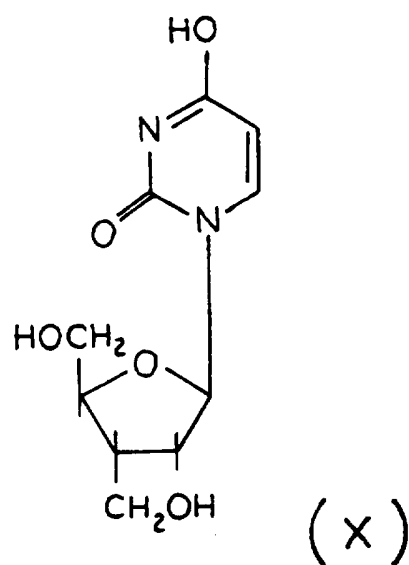
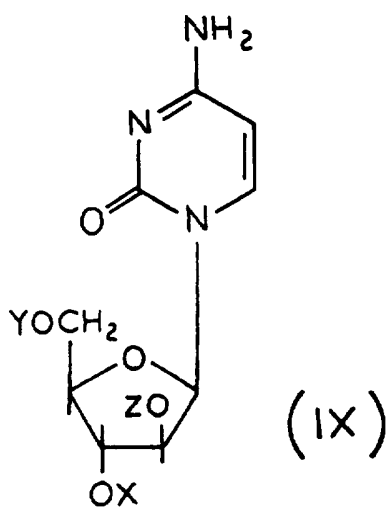
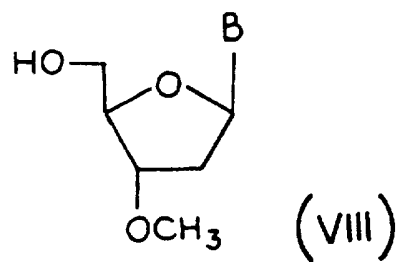
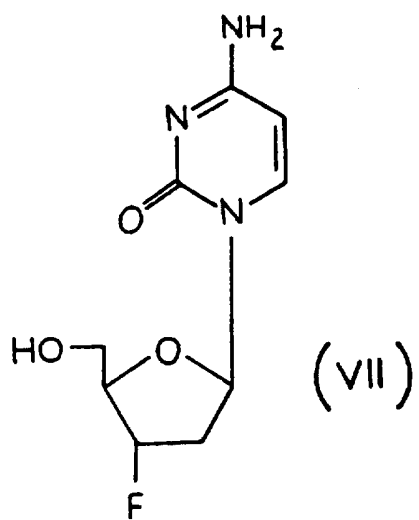
A fenti A–D) eljárásokban ugyan uridinalógok szerepelnek, de ugyanígy alkalmazhatók az (I) általános képletű citidinalógok előállítására is.

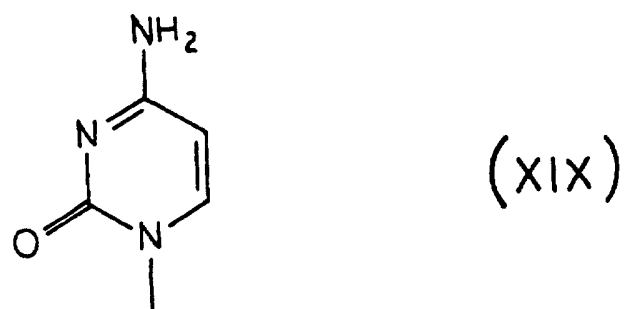
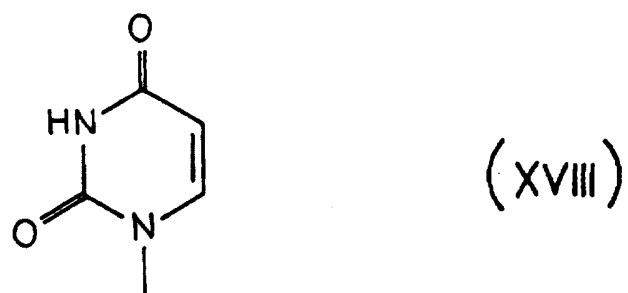
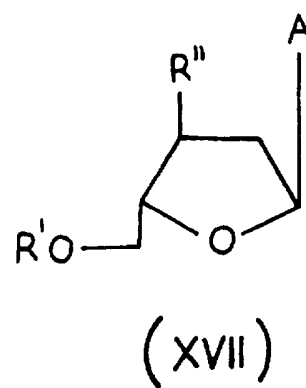
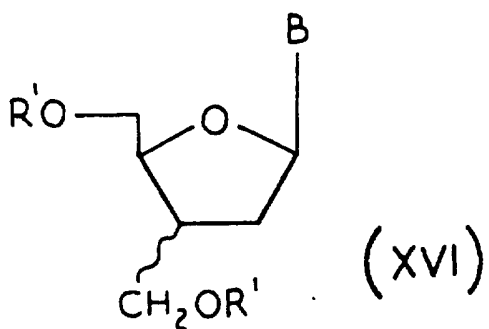
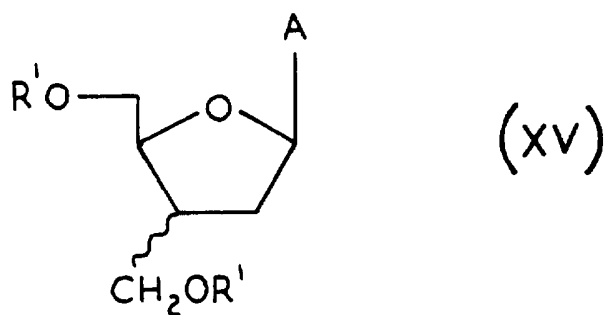
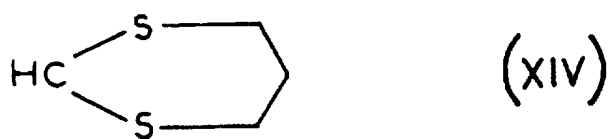
E) Az 5-ös helyen szubsztituált vagy nem szubsztituált α -uridin vegyület uracil részét citozinná alakítjuk a megfelelő α -citidin analógot nyerve. Az átalakítási eljárásra példát találunk W. L. Sung [J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1981, 1089. old., és J. Org. Chem., 47:3623–3628 (1982)] és P. Herdewijn és munkatársai [J. Med. Chem. 28:550–555 (1985)] cikkeiben.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

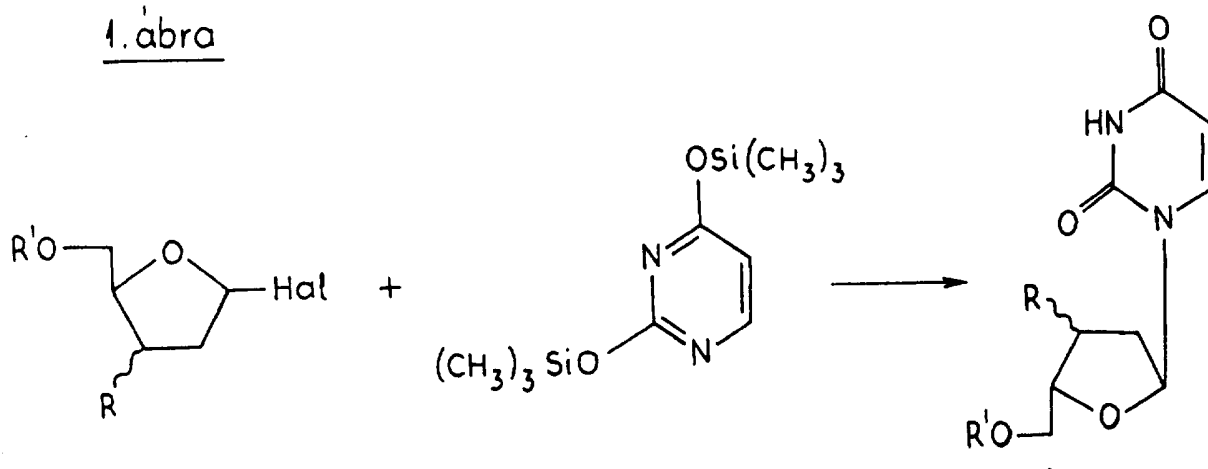
1. (I) általános képletű vegyületek – ahol A jelentése (XI) képletű csoport; és
- 5 R jelentése hidroxil-metil-csoport ($-\text{CH}_2\text{OH}$); és R cisz- vagy transz konfigurációban lehet a 4'-es helyen lévő hidroxil-metil-csoporttal és gyógyászati szempontból alkalmazható sóik.
2. Az 1. igénypont szerinti vegyületek, ahol a 3'-as helyen lévő R csoport és a 4'-es helyen lévő hidroxil-metil-csoport transz-konfigurációban van egymással.
3. Az 1. és 2. igénypontok szerinti vegyületek és gyógyászati szempontból felhasználható sóik alkalmazása gyógyító eljáráshoz.
4. Gyógyszerkészítmény, mely hatóanyagként az 1. vagy 2. igénypont szerinti vegyületet vagy annak gyógyászati szempontból alkalmazható sóját tartalmazza.
5. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti vegyületnek vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sójának felhasználása retrovírus, mint amilyen a HIV vagy hepatitis B vírus (HBV) okozta fertőzés kezelésére és/vagy megelőzésére szolgáló gyógyszerkészítmény ipari méretű előállítására.
6. Az 5. igénypont szerinti felhasználás olyan gyógyszerkészítmény előállítására, mely az ember HIV által okozott fertőzésének kezelésére szolgál.
7. Az 5. igénypont szerinti felhasználás olyan gyógyszerkészítmény előállítására, mely az ember HBV által okozott fertőzésének kezelésére szolgál.
8. Eljárás az 1. vagy 2. igénypont szerinti vegyületnek vagy gyógyászati szempontból alkalmazható sójának előállítására, mely abból áll, hogy
 - A) a citozin N-1-es helyén kondenzálva előállítjuk az (I) általános képletű glikozidot, majd elválasztjuk az α -anomert és eltávolítjuk a védőcsoportot; vagy
 - B) anomerizáljuk a (XV) általános képletű – ahol R' jelentése hidroxilcsoportot védő csoport – β -anomert α - és β -anomerek elegyév, majd az α -anomert elválasztjuk és a védőcsoportot eltávolítjuk; vagy
 - C) transzglykolizáljuk a (XVI) általános képletű – ahol R' jelentése azonos a fentiekben megadott meghatározásokkal, B jelentése pirimidin vagy purin bázis – vegyületet egy nukleozidot nyerve, ahol A jelentése citozinzsír, majd az α -anomert elválasztjuk és a védőcsoportot eltávolítjuk; vagy
 - D) a (XVII) általános képletű vegyület – ahol A és R' jelentése azonos a fentiekben tett meghatározásokkal és R'' jelentése leváló csoport – R'' csoportját kicseréljük hidroxil-metil-csoportra, mint R csoportra, majd eltávolítjuk a védőcsoportot; vagy
 - E) az 1. igénypont szerinti vegyület uracil részét ((XVIII) képletű csoport) átalakítjuk citozinná (XIX) képletű csoport), majd az így kapott citozinszármazékot, ha szükséges, gyógyászati szempontból alkalmazható sóvá alakítjuk.



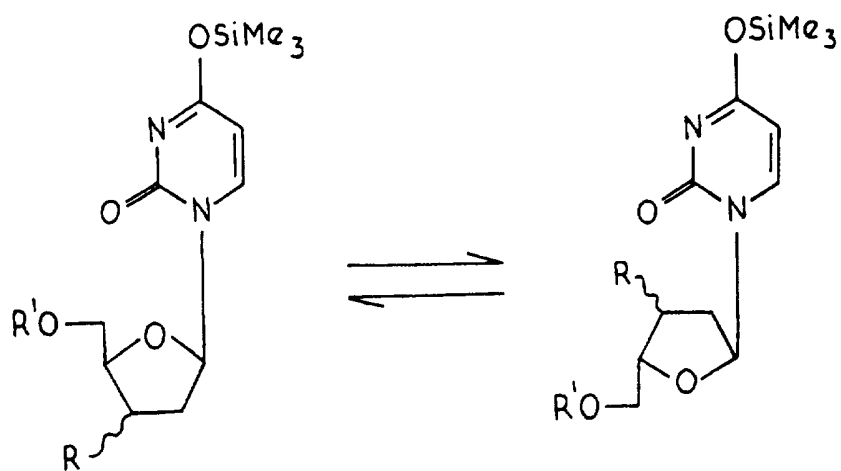




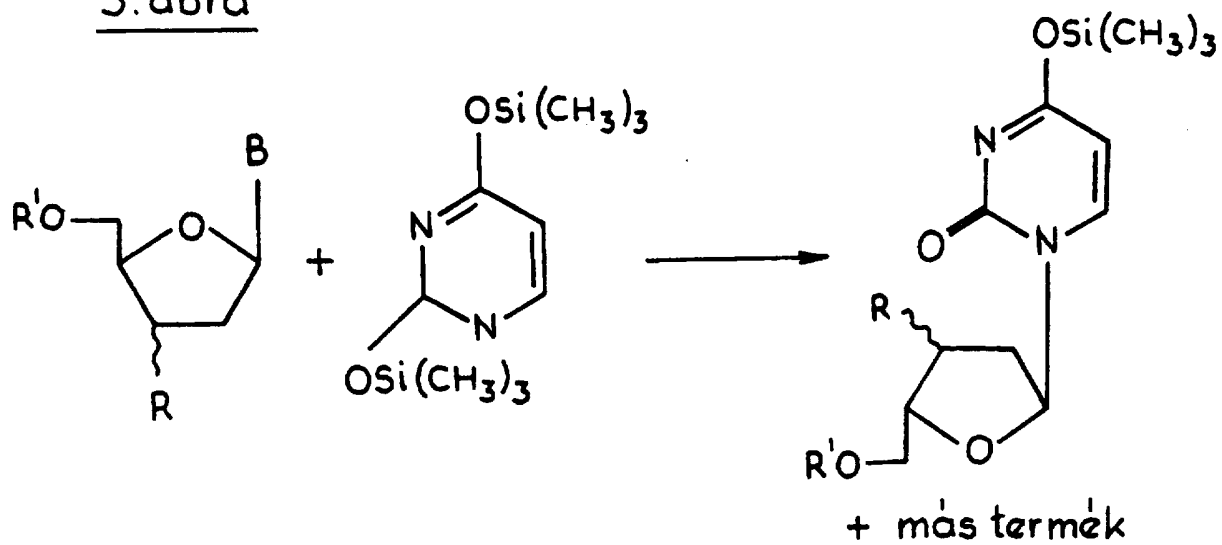
1. ábra



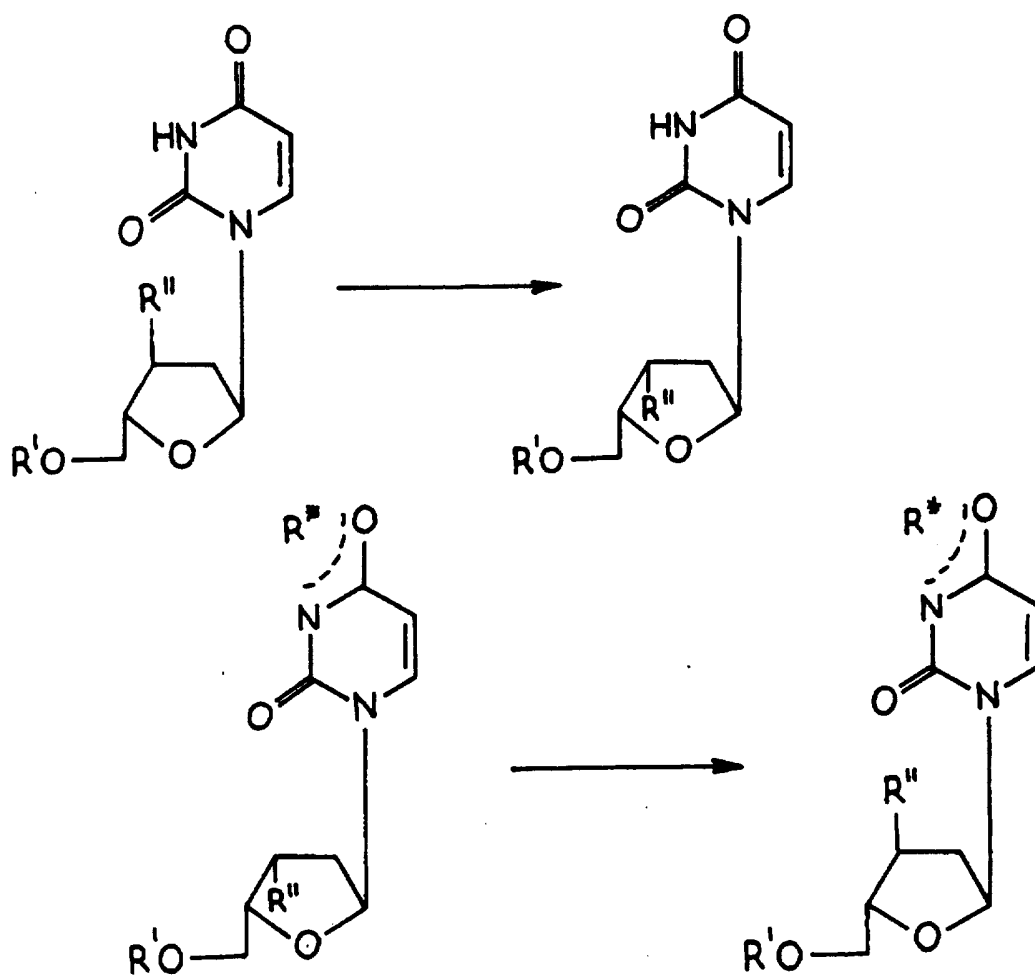
2. ábra



3. ábra



4. ábra



5. ábra

