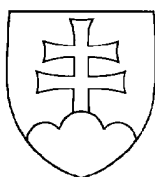


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

279 130

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl. 6:

C 07D 405/04

C 07H 19/06

A 61K 31/505

(21) Číslo prihlášky: 2372-90

(22) Dátum podania: 15.05.90

(31) Číslo prioritnej prihlášky: 352 065

(32) Dátum priority: 15.05.89

(33) Krajina priority: US

(40) Dátum zverejnenia: 08.07.98

(45) Dátum zverejnenia udelenia vo Vestníku: 08.07.98

(86) Číslo PCT:

(73) Majiteľ patentu: Bristol-Myers Squibb Company, New York, NY, US;

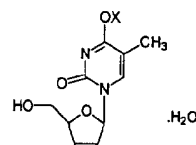
(72) Pôvodca vynálezu: Kaplan Murray Arthur, Syracuse, NY, US;
Perrone Robert Kevin, Liverpool, NY, US;
Bogardus Joseph Ballard, Syracuse, NY, US;

(54) Názov vynálezu: **Vo vode vysoko rozpustná, stabilná kryštalická soľ 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu, spôsob jej výroby a farmaceutický prostriedok s jej obsahom**

(22)

(57) Anotácia:

Opísaná je soľ všeobecného vzorca (I), kde X je anorganický alebo organický kation, spôsob jej výroby a farmaceutický prostriedok s jej obsahom. Takáto soľ sa pripraví reakciou 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu so zodpovedajúcou bázou v inertnom vodnom roztoku a vzniknutá soľ sa nechá z roztoku vykryštalizovať. Opísaná soľ má antivírusový účinok.



Oblasť techniky

Vynález sa týka vo vode vysoko rozpustnej a stálej soli 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu s antivírusovým účinkom vrátane účinku proti retrovírusom. Hlavné možno uviesť sodnú soľ.

Doterajší stav techniky

Infekčné vírusové ochorenia sú vážnym zdravotným problémom. Pokrok v liečení infekčných vírusových ochorení vyžaduje predovšetkým vývoj selektívnych antivírusových prostriedkov, ktoré pochopiteľne nemajú škodiť normálnym bunkovým líniam. V súčasnosti sú vykonávané pokusy s radom protivírusových látok, ktoré zrejme majú určitú selektivitu. Ide o analóg nukleozidov, všeobecne o štruktúrny analóg prírodných nukleozidov. Štruktúrne modifikácie ako v časti purínovej alebo pyrimidinovej báze a/alebo sacharidickej zložky môžu viesť k synteticky modifikovaným derivátom, ktoré po včlenení do vírusovej nukleovej kyseliny v priebehu jej tvorby prerušia ďalšie stupne syntézy takejto vírusovej nukleovej kyseliny.

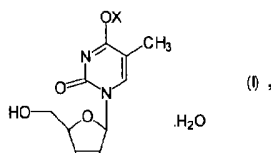
Účinnosť týchto antivírusových látok závisí od selektívnej premeny enzýmov vírusu, ale nie enzýmu hostiteľa od zodpovedajúceho nukleotidového analóga, ktoré sú potom prevádzané na trifosfáty s následným včlenením do vírusovej nukleovej kyseliny. Značným problémom je v tomto prípade vznik určitých vírusových kmeňov, ktorých enzýmy vyvolávajú iba v malej miere fosforyláciu nukleových kyselín a analógov. Aby bolo možné tento problém obísť, bude zrejme možné použiť intaktné nukleotidové analógy ako antivírusové látky na včlenenie do nukleových kyselín vírusu.

V európskom patentovom spise 273 277 (Lin a Prusoff) sa opisuje použitie 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu na liečenie chorých s retrovírusovou infekciou.

Erik de Clercq opisuje, pozri Potential Drugs for the Treatment of AIDS, Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 23, doplnok A, str. 35 - 46 (1989) použitie dideoxy-nukleozidových analógov na inhibovanie infekčnosti a cytopatického účinku vírusu ľudskej imunodeficiencie HIV.

Podstata vynálezu

Podstatou vynálezu sú vo vode rozpustné, stabilné kryštalické soli 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu vzorca (I), pozri tiež "D4T"



kde X znamená kation, napríklad sodný, draselný či horečnatý.

Do rozsahu vynálezu patria rovnako farmaceutické prípravky, ktoré obsahujú ako účinnú zložku protivírusové účinné množstvo týchto solí spolu s pevným, kvapalným alebo i plyným nosičom, či z fyziologického hľadiska prijateľným riedidlom.

Takéto prostriedky je možné použiť na liečenie teplokrvných jedincov, napríklad i ľudí.

Ako tu už bolo uvedené, vynález sa týka hlavne kationových solí uvedenej látky, vhodných z farmaceutického hľadiska, teda napríklad soli sodné, litné, draselné, vápenaté a horečnaté, soli môžu obsahovať tiež organické kationy, kovy alkalických zemin, amóniové alebo kvartérne amóniové ióny. Výhodnou soľou je soľ sodná.

Soli kovov je možné pripraviť tak, že sa pôsobí hydroxidom kovu na 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidín. Menej rozpustná soľ sa z roztoku vyzráža, v roztoku zostáva rozpustnejšia soľ.

Zlúčenina podľa tohto vynálezu má požadovaný antivírusový účinok, ako príklady možno uviesť vírusy Herpes simplex I, Herpes simplex II, cytomegalovírus, vírus pásového oparu, chripky, vakcínie, detskej obrny, ružienky, ovčích kiahní, kravských kiahní, vírusu Epstein-Barr, vírusu spalničiek, ďalej bol pozorovaný účinok proti vírusom spôsobujúcim ochorenia dýchacích ciest u ľudí, proti papillomavírusu a vírusu Sinbis; bola tým vymenovaná iba časť vírusov, proti ktorým je sodná soľ účinná. Je účinná okrem toho proti retrovírusom, napríklad proti vírusu ľudskej imunodeficiencie, t.j. HIV.

Ako tu už bolo uvedené, je táto sodná soľ vhodnou a účinnou zložkou farmaceutických prípravkov v ľudskom lekárstve i veterinárstve pri liečení i profylaxii ochorení, spôsobených retrovírusmi. Príklady indikácií v lekárstve sú tieto:

1. Liečenie alebo profylaxia infekcie retrovírusov u ľudí.
2. Liečenie alebo profylaxia ochorení, spôsobených HIV, skôr označovaný HTLV/LAV alebo AIDS, ďalej štádiá, spojené s infekciou týmto vírusom, ako sú ARC, t.j. komplex, spojený s AIDS a tiež Las, t.j. syndróm lymfatickej adenopatie a tiež nedostatočnosť činnosti imunologického systému a encefalopatie, spôsobenej týmito retrovírusmi.
3. Liečenie alebo profylaxia infekcií HTLV I alebo HTLV II.
4. Liečenie alebo profylaxia v prípade nosičov AIDS, keď je choroba už prenosná.
5. Liečenie a profylaxia ochorení, spôsobených vírusom hepatitídy B.

Príkladom indikácií použitia uvedených solí vo veterinárstve môžu byť tieto nasledujúce prípady:

1. Maedivisna oviec a kôz.
2. Vírus progresívnej pneumónie oviec a kôz.
3. Vírus zápalu kĺbov a encefalitídy oviec a kôz.
4. Vírus Zwoegerziekte oviec.
5. Vírus infekčnej anémie koní.
6. Infekcia vírusom leukémie mačiek.

Pri použití proti vírusovým ochoreniam je možné zlúčeninu podľa tohto vynálezu spracovať do formy farmaceutického prípravku či prostriedku. Tie môžu obsahovať okrem účinnej zložky tiež nosiče, vhodné z farmaceutického hľadiska. Typické nosiče a spôsoby výroby prípravkov sú opísané v Remington's Pharmaceutical Sciences, 17. vydanie, A. R. Cennaro, vydavateľ Mack Publishing Company, 1985.

Účinnú zložku podľa tohto vynálezu možno podávať teplokrvným jedincom, teda i ľuďom, a to systemicky. Môže to byť podávanie perorálne, rektálne alebo parenterálne, v tomto prípade vnútrošalové, vnútrožilné, podkožné alebo možno látku podať nosnou sliznicou. Zvyčajne je potrebné v prípade perorálneho podávania zvýšiť množstvo zlúčeniny na dosiahnutie toho istého účinku, ako pri parenterálnom podaní. V súlade s klinickou praxou je vhodné

podávať účinnú látku v množstve, ktoré vyvolá požadovaný protívírusový účinok bez toho, aby pritom prišlo k nežiaducim vedľajším prejavom.

Pri liečení i profylaxii sa látka podľa tohto vynálezu podáva zvyčajne vo forme farmaceutického prípravku, obsahujúceho účinnú látku a nosič, prípadne pomocné látky. Farmaceutické prípravky obsahujú zlúčeninu podľa tohto vynálezu v množstve 100 až 0,5 % v kombinácii s farmaceutickým nosičom, a tým môže byť jedna či viacero látok, pevných, polotuhých alebo kvapalných, teda riedidiel, plnidiel a môžu tu byť látky pomocné. Všetky musia byť netoxické, inertné, teda z farmaceutického hľadiska prijateľné.

Farmaceutický prípravok má výhodne formu jednotlivej dávky, to znamená fyzikálne oddelenej jednotky, a každá z nich obsahuje vopred stanovené množstvo účinnej látky, ktoré zodpovedá zlomku alebo násobku vypočítanej dávky, ktorá je nutná na vyvolanie požadovaného účinku. Prostriedok môže obsahovať tiež ďalšie účinné zložky.

Výhodne obsahujú farmaceutické prostriedky a prípravky 50 mg až 2 g účinnej zložky v jednotlivej dávke a môžu to byť tabletky, i také, ktoré sú určené na rozpustenie pod jazykom, ďalej kapsule, prášky, granule, suspenzie vo vode alebo v oleji, sirupy, elixíry a vodné roztoky. Výhodnou liekovou formou na perorálne podávanie sú tabletky a kapsule, ktoré môžu obsahovať ďalšie pomocné látky, napríklad spojivá, ako sirupy, akáciová guma, želatína, sorbitol, tragant alebo polyvinylpyrrolidón, ďalej plnidlá, ako je laktóza, cukor, kukuričný škrob, fosforečnan vápenatý, sorbitol alebo glycin, ďalej klzné látky, ako je horečnatá soľ kyseliny stearovej, mastenec, polyetylén glykol alebo oxid kremičitý, činidlá, ktoré napomáhajú rozpadu tabletky, ako je škrob, ďalej potom anorganické či organické pufry a zmáčadlá, ako je sodná soľ kyseliny laurylsírovej.

Roztoky alebo suspenzie takýchto zlúčenín v bežnom nosnom prostredí je možné použiť na parenterálne podávanie. Pre vnútrožilné injekcie ide o vodné roztoky, pre vnútrošalové injekcie o suspenzie v oleji. Prostriedky s požadovanou čírosťou a stálosťou pre parenterálne použitie je možné získať tak, že sa rozpustí 0,1 až 35 % hmotnostných účinnej zložky vo vode alebo v nosnom prostredí, ktoré obsahuje viacsýtny alifatický alkohol, ako je glycerol, propylén glykol a polyetylén glykol alebo v zmesi týchto látok. Polyetylén glykoly sú zmesi neprchavých, zvyčajne kvapalných polyetylén glykolov, rozpustných vo vode i v organických kvapalinách, s molekulovou hmotnosťou 200 až 1 500.

Zlúčeniny sa v kyslom prostredí hydrolyzujú. Kvôli optimálnej biologickej dostupnosti majú byť tabletky, kapsule a granule na perorálne podávanie opatrené enterosolventným povlakom alebo majú obsahovať silný pufor proti pôsobeniu žalúdočnej šťavy, je možné tiež použiť obidve tieto opatrenia.

Soľ podľa tohto vynálezu je stála, kryštalická s vysokou rozpustnosťou vo vode, nad 300 mg/ml, takže je ideálne vhodná na prípravu injekčných roztokov na parenterálne podávanie s použitím malého objemu. Vysoká alkalita s pH 9,5 až 11 tejto soli zaisťuje ich vlastnú pufrovaciu schopnosť pri pôsobení žalúdočnej kyseliny. Je teda možné pri spracovaní na perorálne formy použiť menšie množstvo pufra.

Soľ podľa tohto vynálezu a soli podobné sú reverzibilne "imobilizované" v enolovej forme a je teda možno ich pokladať za medziprodukty na syntézu rôznych potenciálne

biologických derivátov ako enolesterov a enoléterov. Tieto esterové a éterové skupiny môžu rovnako mať úlohu ochranných skupín a umožniť tak syntetickú prácu na iných častiach alebo funkčných skupinách molekuly.

Z hľadiska biologickej účinnosti majú tieto látky protívírusový účinok, obzvlášť vhodný na ich použitie na liečenie vírusových infekcií. Ide hlavne o vírusové infekcie cicavcov vrátane retrovírusových infekcií.

Účinná dávka sa pohybuje v rozmedzí 0,1 až 5 mg, výhodne 1 až 4 mg/kg hmotnosti. Na klinické účely je možné zlúčeniny podľa tohto vynálezu podávať podobným spôsobom ako porovnávaciu látku azidovudín (AZT). Pri klinickom použití je potrebné dávkovanie starostlivo upraviť pre každý jednotlivý prípad, pričom dávky sa budú meniť v závislosti od zvyčajných faktorov, ako sú vek, hmotnosť, celkový stav chorého, spôsob podávania a povaha i závažnosť liečeného ochorenia. Zvyčajne sa bude pri perorálnom podávaní pohybovať dávka v rozmedzí 150 mg až 5 g, výhodne 50 až 1 500 mg danej zlúčeniny raz až trikrát denne. V niektorých prípadoch bude zrejme možné dosiahnuť dostatočný liečebný účinok i pri podaní dávok nižších, i nokia však môže byť nutné i podanie vyšších dávok než ako bolo uvedené.

Látka, ktorá je podstatou tohto vynálezu, bude bližšie opísaná formou príkladu, ale iba kvôli objasneniu vynálezu, v žiadnom prípade nie na jeho obmedzenie.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Vynález bude ďalej podrobnejšie opísaný v súvislosti s priloženými výkresmi:

Na výkrese č. 1 je IČ-spektrum sodnej soli 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu.

Na výkrese č. 2 je priebeh termálnej analýzy TGA pre tú istú sodnú soľ.

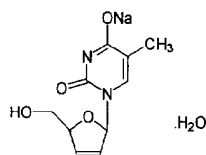
Na výkrese č. 3 je priebeh termálnej analýzy DSC pre tú istú sodnú soľ.

Na výkrese č. 4 sú údaje difrakcie röntgenových lúčov pre tú istú sodnú soľ.

Na výkrese č. 5 je NMR - spektrum tej istej sodnej soli.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Spôsob prípravy hydrátu sodnej soli D4T



mol. hmotnosť D4T = 224,2

mol. hmotnosť NaOH = 40

1 g D4T/224,21 = X/40 = 170,4 mg NaOH/40

To znamená, že 4,46 ml 1 N roztoku hydroxidu sodného je ekvivalentné 1 g D4T tak, že molárny pomer obidvoch látok je 1 : 1.

1. 1 g D4T sa pridá k 4,7 ml 1 N vodného roztoku hydroxidu sodného (1,5 mol. ekvivalentu) a reakčná zmes sa opatrne mieša 5 minút za teploty 15 až 25 °C. Získa sa tým roztok s pH 9,5 až 11.

2. V prípade potreby možno roztok vyčeriť priechodom filtrom s veľkosťou otvorov 0,2 až 0,45 mikrometra, napríklad Celman HT-Tuffryn. Tieto dva stupne trvajú zvyčajne 90 minút.

3. Roztok sodnej soli sa v priebehu 10 až 15 minút vnesie do 50 až 75 ml energicky miešaného izopropylalkoholu alebo acetónu. Vylúčia sa kryštálky a zmes sa v uzatvorenej nádobe energicky mieša ešte 2 hodiny.

4. Kryštálky sa odsajú s tým, že je vhodné podiel na filtri príliš nevysušiť, a podiel na filtri sa upraví tak, aby neobsahoval ani trhliny ani štrbiny. Ale súčasne nemá týmto podielom prechádzať príliš veľké množstvo vzduchu.

5. Podiel na filtri sa premyje s použitím troch dávok po 15 ml izopropylalkoholu alebo acetónu a potom ešte tromi podielmi po 20 ml acetónu. Medzi premývaním nemá byť priechod vzduchu príliš veľký a opäť sa podiel na filtri upraví tak, aby v ňom neboli trhliny ani štrbiny.

6. Kryštálky sa sušia 24 hodín za vysokého vákuu pri teplote 24 až 35 °C.

7. V prípade potreby je možné nahradiť inak výhodný izopropylalkohol acetónom, postup pridávania je možné tiež podľa potreby obrátiť a rozpúšťadlo pridávať k miešanému roztoku D4T v polhodinových intervaloch.

Výťažok hydrátu D4T = 1 g až 1,1 g

Chemické a fyzikálne parametre pre hydrát sodnej soli D4T.

1. Rozpustnosť vo vode pri pH 9,5 až 11 nad 300 mg/ml,

2. Stálosť vodného roztoku:

1 týždeň pri 50 °C,

zostatok 20 %.

3. Stálosť v pevnom stave: 1 týždeň pri 70 °C, strata 0

4. Elementárna analýza

pre $C_{10}H_{11}N_2O_4 \cdot H_2O$

vypočítané: 45,5 % C, 5,0 % H, 10,6 % N, 8,7 Na

H_2O pre monohydrát: 6,8 %

nájdene: 45,05 % C, 4,89 % H, 10,37 % N, 8,43 Na

H_2O pre monohydrát: 6,9 %

Mol. hmotnosť: 264,22

5. IČ - spektrum, pozri obr. 1

6. DSC, pozri obr. 2

7. TGA, pozri obr. 3

8. Difrakcia rtg: pozri obr. 4

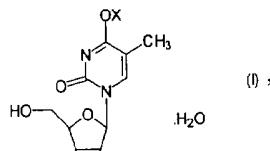
Pomery pri vysokotlakovej kvapalinovej chromatografii sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

Tabuľka

Stĺpec:	IBM fenyl, 5 μ m, 4,5 x 150 nm
Mobilná fáza:	98 % 0,015 M roztoku $NH_4H_2PO_4$ pH 7,1 sa upraví koncentrovaným roztokom amoniaku v 2 % acetonitrilu
Rýchlosť prietoku:	0,1 mg/ml
Vstreknutý objem:	25 mikrolitrov
Čas analýzy:	20 minút
Vlnová dĺžka:	254 nm
Teplota:	20 - 30 °C
Koncentrácia vzorky:	0,1 mg/ml (voda)
Čas retencie:	D4T 8 min., tymín 3 min.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Vo vode vysoko rozpustná, stabilná kryštalická soľ 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu všeobecného vzorca (I)



kde X znamená organický alebo anorganický kation.

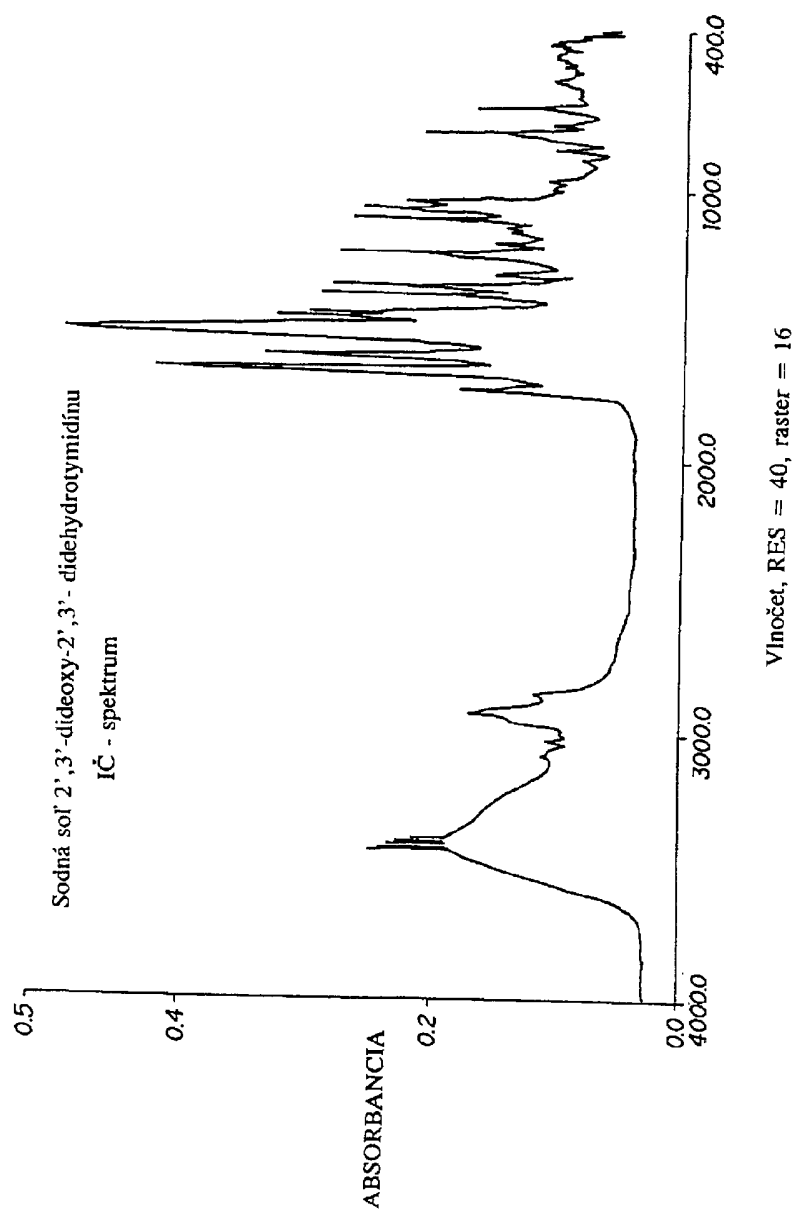
2. Vo vode vysoko rozpustná, stabilná kryštalická soľ 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu podľa nároku 1, **v y z n a ě u j ú c a s a t ý m**, že X znamená sodík.

3. Farmaceutický prostriedok s antivírusovým účinkom, **v y z n a ě u j ú c i s a t ý m**, že obsahuje ako účinnú zložku protívírusovo účinné množstvo soli podľa nároku 1 a riedidlo, pevné alebo kvapalné, vhodné z fyziologického hľadiska.

4. Spôsob výroby vo vode vysoko rozpustnej, stálej kryštalickej soli zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde X znamená organický alebo anorganický kation, **v y z n a ě u j ú c i s a t ý m**, že sa pôsobí na 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidín v inertnom vodnom roztoku zodpovedajúcou bázou, a potom sa nechá požadovaná soľ z roztoku vykryštalizovať.

5 výkresov

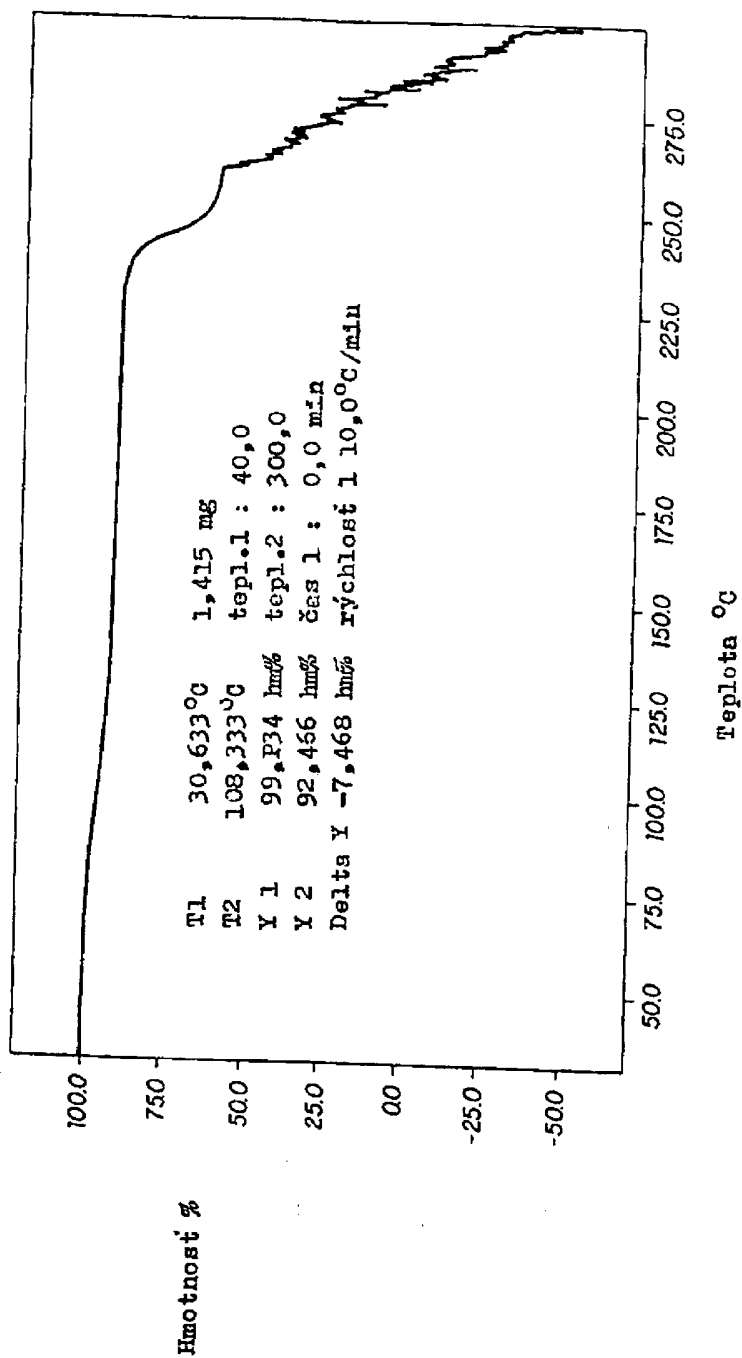
obr. 1



obr. 2

Sodná soľ 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotyrimidínu

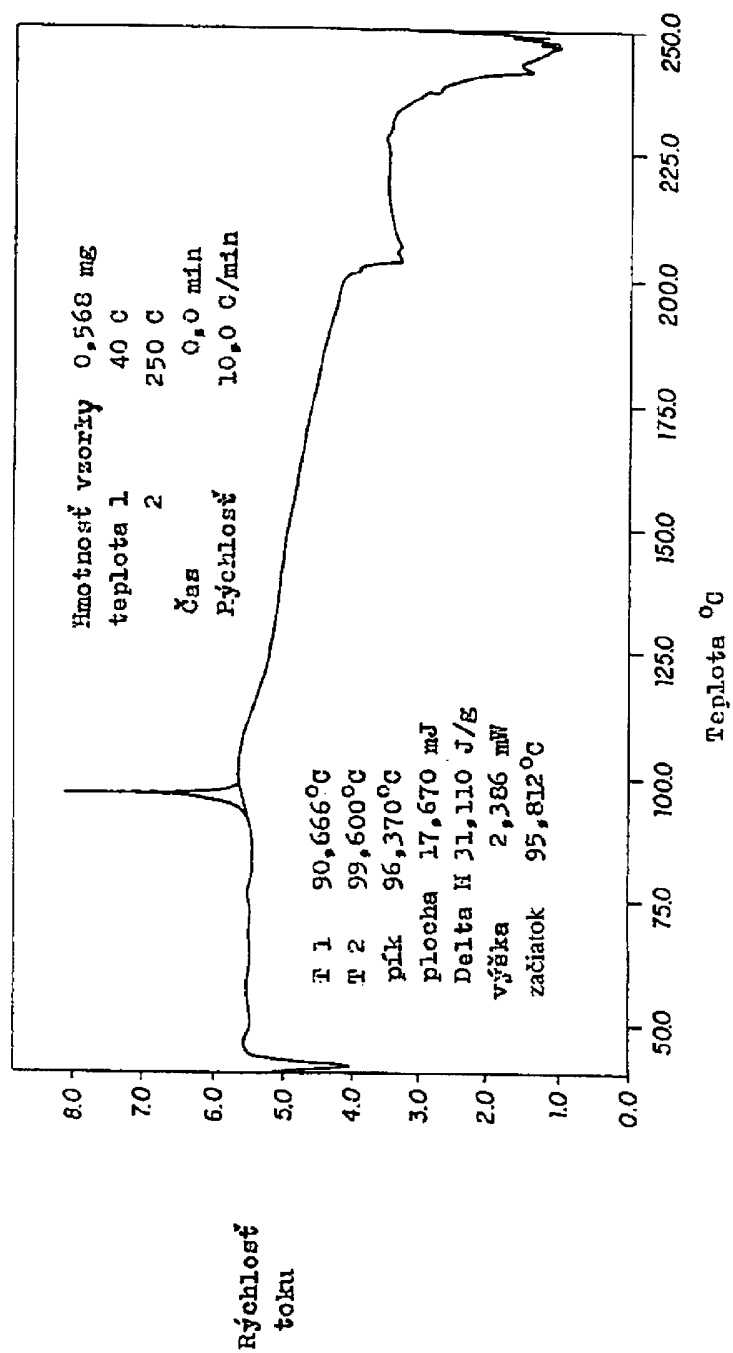
Termálna analýza TGA, systém série 7



obr. 3

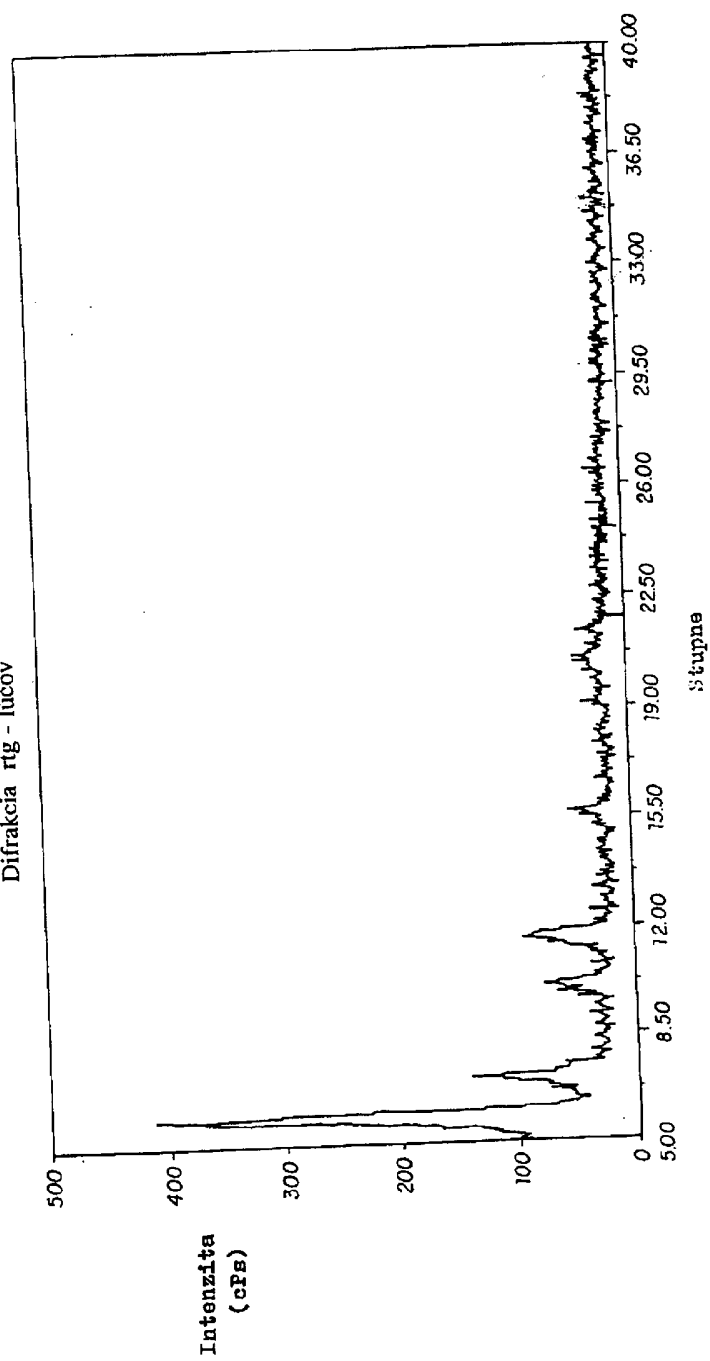
Sodná soľ 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu

Termálna analýza DSC, systém série 7



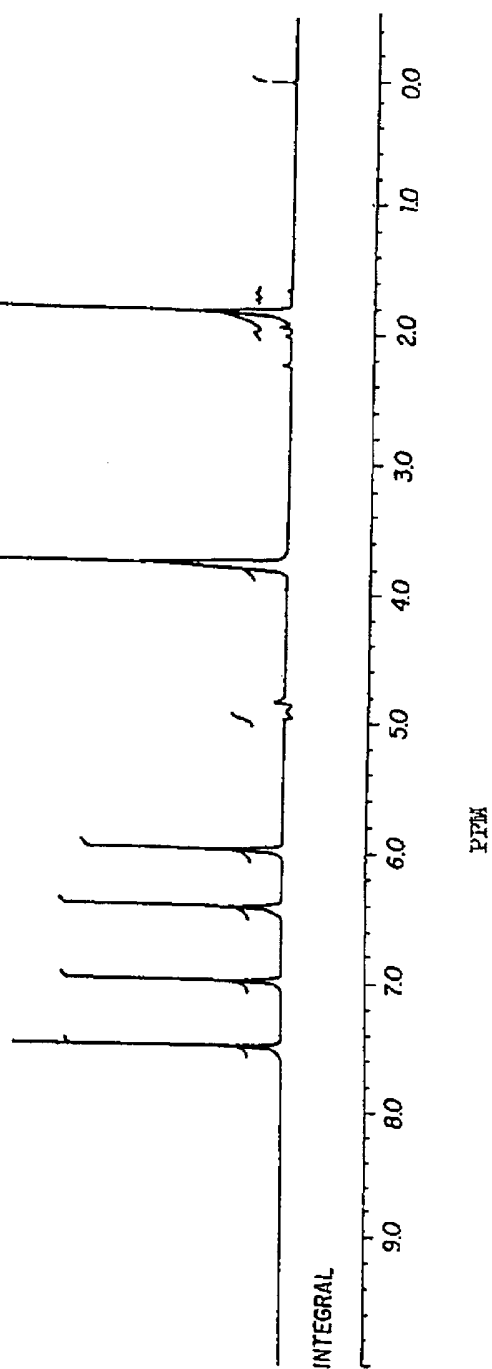
obr. 4

Sodná soľ 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu
Difrakcia rtg - lúčov



obr. 5

Sodná soľ 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrotymidínu
NMR - spektrum



Koniec dokumentu
