



(19) REPUBLIKA HRVATSKA
DRŽAVNI ZAVOD ZA
INTELEKTUALNO VLASNIŠTVO



(21) Broj prijave:

HR P20040541A A2

HR P20040541A A2

(12) PRIJAVA PATENTA

(51) Int. Cl.⁷: **C 07 H 19/24**
A 61 K 31/7052
A 61 P 37/02

(22) Datum podnošenja prijave patenta u HR: 14.06.2004.

(43) Datum objave prijave patenta u HR: 31.10.2004.

(86) Broj međunarodne prijave: PCT/US02/38001
Datum podnošenja međunarodne prijave: 27.11.2002.

(87) Broj međunarodne objave: WO 03/045968
Datum međunarodne objave: 05.06.2003.

(31) Broj prve prijave: 60/333,460

(32) Datum podnošenja prve prijave: 27.11.2001.

(33) Država ili organizacija podnošenja prve prijave: US

(71) Podnositelj prijave:

Anadys Pharmaceuticals, Inc., 3115 Merryfield Row, 92121 San Diego, CA, US

(72) Izumitelji:

Devron, R. Averett, 2529 Newport Avenue, Cardiff by the Sea, 92007 CA, US

Stephen E. Webber, 3531 Millikin Avenue, San Diego, 92122 CA, US

Joseph, R. Lennox, 2212 Crol View Drive, Apt. 315, Cardiff by the Sea, 92007 CA, US

Erik, J. Rueden, 9249 Carlton Oaks Drive, Santee, 92071 CA, US

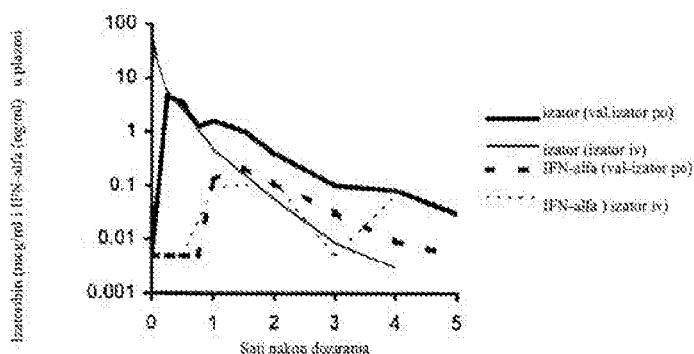
(74) Punomoćnik:

Mladen VUKMIR, Zagreb, HR

(54) Naziv izuma: **NUKLEOZIDI 3- β -D-RIBOFURANOSILTIAZOLO [4,5-d]PIRIDIMINA I NJHOVA UPORABA**

(57) Sažetak: Izum je usmjeren na 3- β -D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]piridin nukleozide i farmaceutske sastave koji sadrže takve spojeve i koji imaju imunomodulatornu aktivnost. Izum je također usmjeren na terapijsku ili profilaktičku uporabu takvih spojeva i sastava, te na postupke za liječenje bolesti i poremećaja koji su ovdje opisani, davanjem učinkovitih količina takvih spojeva.

Mišji odgovori na interferon-alfa
Isotatorin 25 mg/kg i.v. prema val-isotatorinu 50 mg/kg p.o.



HR P20040541A A2

OPIS IZUMA

Ova je prijava podnesena kao PCT međunarodna patentna prijava u ime Devron R. Averett i Stephen E. Webber, obojice građana i s boravištem u U.S., dne 27. studenog 2002., koja određuje sve države osim U.S.

Područje izuma

Izum je usmjeren na nukleozide 3-β-d-ribofuranosiltiazolo [4,5-d]piridimina i farmaceutske sastave koji sadrže takve spojeve koji imaju imunomodulatornu aktivnost. Izum je također usmjeren na terapijsku ili profilaktičku uporabu takvih spojeva i sastava, i na postupke liječenja bolesti i poremećaja koji su ovdje opisani, davanjem učinkovitih količina takvih spojeva.

Stanje tehnike izuma

Posljednjih nekoliko dekada su viđeni značajni naponi, utrošeni u istraživanje mogućih terapijskih uporaba nukleozidnih analoga D- i L-purina. Izvjestan broj nukleozidnih analoga su sada na tržištu kao antivirusni lijekovi, uključujući inhibitore povratne transkriptaze HIV (AZT, ddI, ddC, d4T, i 3TC).

Također su se istraživali različiti nukleozidni analozi D- i L-purina u potrazi za imunomodulatorima. Analozi gvanozina koji imaju supstituente na 7- i/ili 8-položaju, na primjer, pokazali su da stimuliraju imunosni sustav. *Vidi* Reitz et al., *J. Med. Chem.*, 37,3561-78 (1994); Michael et al., *J. Med. Chem.*, 36,3431-36 (1993). U drugom istraživanju, U.S. patent br. 5,821,236 od Krenitsky et al. otkriva 6-alkoksi derivate od derivata arabinofuranosil purina koji su korisni u terapiji tumora. U U.S. patentu br. 5,539,098 od Krenitsky et al. se također izvještava da su inhibitori varicela zoster virusa, uključujući 5'-O-propionil i 5'-O-butilil estere 2-amino-6-metoksi-9-(β-D-arabinofuranosil)-9H-purina. Za 7-deazagvanozin i analoge se pokazalo da iskazuju antivirusnu aktivnost u miševa protiv različitih RNA virusa, čak ako spoju nedostaju antivirusna svojstva u staničnoj kulturi. Nukleozidi i nukleotidi 3-deazagvanina su također demonstrirali značajno širok spektar antivirusne aktivnosti protiv određenih DNA i RNA virusa. Revankar et al., *J. Med. Chem.*, 27, 1489-96 (1984). Određeni 7- i 9-deazagvanin C-nukleozidi iskazuju sposobnost da zaštićuju protiv letalnog ugrožavanja Semliki Forest virusom. Girgis et al., *J. Med. Chem.*, 33, 2750-55 (1990). Selektirani 6-sulfenamid i 6-sulfinamid nukleozidi purina otkriveni su u U.S. patentu br. 4,328,336 od Robins et al., kao oni koji su demonstrirali značajnu antitumorsku aktivnost.

Određeni nukleozidi pirimido[4,5-d]pirimidina otkriveni su u U.S. patentu br. 5,041,542 od Robinsa et al., kao da su učinkoviti u liječenju protiv L1210 kod BDF1 miševa. Za ove posebne nukleozide predlagalo se da je to kao rezultat njihove uloge kao imunomodulatora. *Vidi* Bonnet et al., *J. Med. Chem.*, 36, 635-53 (1993). Također i Wang et al. (WIPO International Publication br. WO 98/16184) izvještavaju da su spojevi purinskog L-nukleozida i njihovih analoga bili korišteni za liječenje infekcije, zagađenosti, neplazme, autoimune bolesti, ili da moduliraju aspekte imunog sistema. Uz to se, 3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]piridimini koji su demonstrirali značajnu imunoaktivnost, uključujući proliferaciju mišjih stanica slezene i *in vivo* aktivnost protiv Semliki Forest virusa, otkrivaju U.S. patentima br. 5,041,426 i 4,880,784 od Robinsa et al.

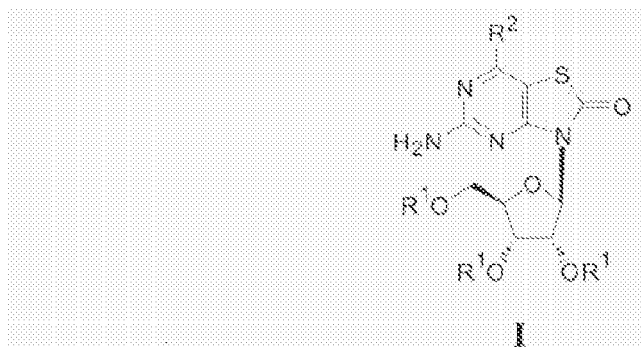
Jedan mogući cilj imunomodulacije uključuje stimulaciju ili supresiju Th1 i Th2 limfokina. Stanice tipa 1 (Th1) proizvode interleukin 2 (IL-2), faktor nekroze tumora (Tumor Necrosis Factor, TNFα) i interferon gama (IFNγ) i one su odgovorne prvenstveno za staničnu imunost kao što je odgođeni tip hipersenzitivnosti i antivirusni imunitet. Stanice tipa 2 (Th2) proizvode interleukine IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 i IL-13 i prvenstveno su uključene u asistenciji humoralnih imunih odgovora kao što su oni koji se vide u odgovoru na alergene. *Vidi na pr.*, Mosmann, *Annu. Rev. Immunol.*, 7, 145-73 (1989). Analozi D-gvanozina su pokazali da iskazuju razne učinke na limfokine IL-1, IL-6, INFα i TNFα (indirektno) *in vitro* (Goodman, *Int. J. Immunopharmacol.*, 10, 579-88 (1988); U.S. patent br. 4,746,651 od Goodmana) i *in vivo* (Smee et al., *Antiviral Res.*, 15, 229 (1991); Smee et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33, 1487-92 (1989)). Međutim, sposobnost analoga D-gvanozina kao što je 7-tio-8-oksogvanozin da modulira citokine Tipa 1 ili Tipa 2 izravno u T stanicama nije bila učinkovita ili nije bila opisana.

Štoviše, poznato je da je oralno davanje mnogih purinskih nukleozidnih analoga predmet teškoća koje proizlaze iz slabe apsorpcije, slabe topivosti ili degradacije u probavnom traktu kao rezultat kiselih ili lužnatih uvjeta ili djelovanja enzima, i/ili kombinacije ovih fenomena. Tako preostaje potreba za purinskim nukleozidnim analogima s poboljšanom oralnom raspoloživosti, tolerantnošću i davanjem, koje se koristi da moduliraju aspekte imunosnog sustava.

Izlaganje biti izuma

Predmetni izum je oslovio ovu potrebu otkrivanjem nukleozida 3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]piridimina, farmaceutski prihvatljivih prolijekova, farmaceutski aktivnih metabolita i njihovih farmaceutski prihvatljivih soli (takvi spojevi, prolijekovi, metaboliti i soli se zajednički nazivaju kao "agensi") koji su dolje opisani, a korisni su kao imunomodulatori.

U općem aspektu, izum se odnosi na spojeve Formule I:



u čemu:

R^1 je nezavisno H, $-C(O)R^3$ ili racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina

$-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^3 supstituirani ili nesupstituirani alkil, a R^4 je H ili supstituirani ili nesupstituirani alkil;

R^2 je H, OR^5 , ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^5 nezavisno H ili alkil i u čemu R^6 je nezavisno H, supstituirani ili nesupstituirani alkil, cikloalkil, ili zajedno s dušikom formira supstituirani ili nesupstituirani heterocikloalkilni prsten; i

u čemu R^2 je $-OH$, barem jedna od R^1 skupina je racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$.

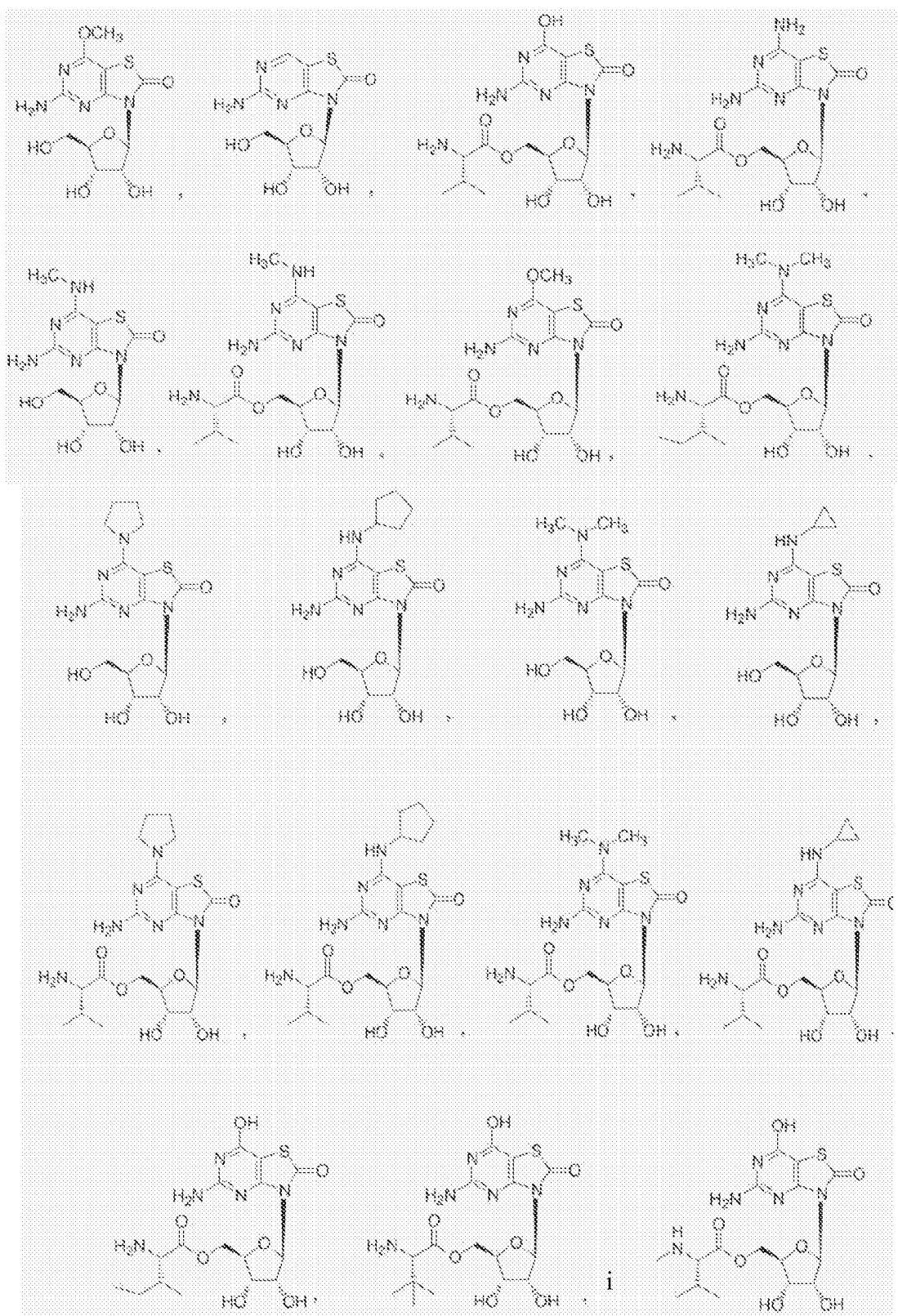
U pogodnoj izvedbi, izum se odnosi na spojeve koji imaju Formulu I, u čemu je barem jedna od R^1 skupina racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina

$-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^4 supstituirani ili nesupstituirani alkil, i u čemu su preostale R^1 skupine H; R^2 je OR^5 ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^5 nezavisno odabran od H ili alkila, i u čemu R^6 je nezavisno H, supstituirani ili nesupstituirani alkil, cikloalkil, ili zajedno s dušikom formira supstituirani ili nesupstituirani heterocikloalkilni prsten.

U drugoj pogodnoj izvedbi, izum se odnosi na spojeve koji imaju Formulu I, u čemu je barem jedna od R^1 skupina L- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^4 supstituirani ili nesupstituirani alkil, i u čemu su preostale R^1 skupine H; R^2 je OR^5 ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^4 supstituirani alkil, i u čemu R^6 je nezavisno H ili supstituirani ili nesupstituirani alkil.

U još jednoj pogodnoj izvedbi, izum se odnosi na spojeve koji imaju Formulu I, u čemu je barem jedna od R^1 skupina L- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu R^4 je $-CH(CH_3)_2$ i u čemu su preostale R^1 skupine H; a R^2 je OH.

U drugom aspektu izuma spojevi izuma su odabrani od:



Izum je također usmjeren na farmaceutski prihvatljive prolijeckove, farmaceutski aktivne metabolite i farmaceutski prihvatljive soli od spojeva, prolijeckova ili metabolita Formule I. Opisuju se također povoljni postupci izrade spojeva Formule I.

Spojevi iz Formule I su korisni kao ojačivači imunosistema i imaju određena svojstva imunosistema uključujući modulaciju, mitogenost, augmentiranje, i/ili potenciranje ili su oni intermedijeri za spojeve koji imaju ta svojstva. Od spojeva se očekuje da izražavaju efekte na barem prirodne killer-stanice, makrofage i limfocitne stanice imunosistema domaćina. Radi ovih svojstava oni su korisni kao antivirusni i antitumorski agensi ili kao intermedijeri za antivirusne i

antitumorske agense. Oni se mogu upotrijebiti za liječenje štetnog djelovanja na domaćina služeći kao aktivni sastojci prikladnih farmaceutskih sastava.

U jednom aspektu izuma, spojevi Formule I se iskorištavaju za liječenje punog raspona virusnih bolesti kod sisavaca davanjem sisavcu terapijski učinkovite količine spojeva. Virusne bolesti koje se namjeravaju liječiti spojevima Formule I uključuju akutne i kronične infekcije izazvane i s RNA i DNA virusima. Bez ograničavanja na bilo koji način raspon virusnih infekcija koje se mogu liječiti, spojevi Formule I su posebno korisni u liječenju infekcija izazvanih adenovirusom, citomegalovirusom, virusom hepatitisa A (HAV), virusom hepatitisa B (HBV), flavivirusima uključujući virus žute groznice i hepatitisa C (HCV), herpes simplex tip 1 i 2, herpes zoster, ljudskim herpesvirusom 6, virusom humane imunodeficijencije (HIV), ljudskim papilloma virusom (HPV), virusom influence A, virusom influence B, ospica, virusom parainfluence, poliovirusom, poxvirusom (uključujući velike boginje i monkeypox virus), rinovirusom, respiratornim sincicijskim virusom (RSV), multiplim familijama virusa koji uzrokuju hemoragične groznice, uključujući Arenaviruse (LCM, Junin virus, Machup virus, Guanarito virus i Lassa Fever), Bunyavirusima (Hanta virusi i Rift Valley Fever) i Filovirusima (Ebola i Marburg virus), rasponom virusnih encefalitisa uključujući West Nile virus, LaCrosse virus, California Encefalitis virus, Venezuelan Equine Encephalitis virus, Eastern Equine Encephalitis virus, Western Equine Encephalitis virus, Japanese Encephalitis virus, Kysanur Forest virus i tickborne viruse kao što je virus Crimean-Congo hemoragičke groznice.

U drugom aspektu izuma, spojevi Formule I se koriste za liječenje bakterijskih, gljivičnih, i praživotinjskih infekcija kod sisavaca davanjem sisavcu terapijski učinkovite količine spojeva. Za puni raspon patogenih mikroorganizama se razmatra da bi se mogli liječiti spojevima predmetnog izuma, uključujući bez ograničavanja one organizme koji su rezistentni na antibiotike. Sposobnost spojeva Formule I da aktiviraju multiple komponente imunog sustava za mimoilaženje mehanizama rezistencije za koje se obično nalazi da reduciraju osjetljivost na antibiotike, i tako liječenje infekcija u nekog sisavca izazvanih takvim rezistentnim mikroorganizmima, spojevima Formule I, je posebna korisnost predmetnog izuma.

U drugom aspektu izuma, spojevi Formule I se koriste za liječenje tumora u sisavaca davanjem sisavcu terapijski učinkovite količine spojeva. Tumori ili rakovi koji se namjeravaju liječiti uključuju one izazvane virusom, i efekt može uključiti inhibiciju transformacije stanica inficiranih virusom u neoplastičko stanje, inhibiranje širenja virusa iz transformiranih stanica na druge normalne stanice i/ili zaustavljanje rasta virusom transformiranih stanica. Za spojeve Formule I se očekuje da budu korisni protiv širokog spektra tumora, uključujući, ali ne i ograničenih na karcinome, sarkome i leukemije. U tu su klasu uključeni karcinomi dojke, kolona, mjehura, pluća, prostate, želuca i pankreasa i limfoblastične i mijeloidne leukemije.

U drugom aspektu izuma, postupak liječenja sisavca sadrži davanje terapijski i/ili profilaktički učinkovite količine lijeka koji sadrži spoj iz izuma. U ovom aspektu efekt se može odnositi na modulaciju nekog dijela imunostimulacijskog sustava sisavca, posebno modulaciju citokinske aktivnosti Th1 i Th2, uključujući ali ne i ograničavajući se na obitelj interleukina, na pr. od IL-1 do IL-12, i druge citokine kao što su TNF alfa i interferoni uključujući interferon alfa, interferon theta i interferon gama, i njihovih nizvodnih izvršilaca. Gdje se pojavljuje modulacija Th1 i Th2 citokina, razmišlja se da ta modulacija može uključiti stimulaciju oba, i Th1 i Th2, supresiju oba Th1 i Th2, stimulaciju bilo Th1 ili od Th2, i supresiju onog drugog, ili jednu bimodalnu modulaciju u kojoj jedan učinak na Th1/Th2 razinama (tako kao generalizirana supresija) se pojavljuje pri nekoj visokoj koncentraciji, dok se drugi efekt (tako kao stimulacija bilo Th1 ili Th2 i supresija onog drugog) pojavljuje pri nižoj koncentraciji.

U drugom aspektu izuma, farmaceutski sastavi koji sadrže spoj Formule I daju se u terapijski učinkovitoj dozi sisavcu koji prima anti-infektivne lijekove koji nisu uključeni u Formulu I. U pogodnom aspektu ovog izuma, farmaceutski sastavi koji sadrže spoj Formule I daju se u terapijski učinkovitoj dozi s anti-infektivnim lijekom (lijekovima) koji djeluju izravno na infektivni agens da spriječi rast ili ubije infektivni agens.

U pogodnom aspektu izuma, farmaceutski sastav koji sadrži terapijski učinkovitu količinu spoja u skladu s Formulom I omogućuje poboljšanu oralnu raspoloživost i davanje kao jedan imunomodulator. U drugom pogodnom aspektu izuma, farmaceutski sastav koji sadrži terapijski učinkovitu količinu spoja u skladu s Formulom I predviđa maskiranje aktivne strukture kako taj agens prolazi kroz limfatičko tkivo koje oblaže želudac, pomoću čega minimizira aktiviranje ovog tkiva i omogućuje poboljšanu oralnu podnošljivost.

Kratki opis slika

Slika 1 je grafičko označavanje razina u plazmi izatoribina i interferona alfa u miševa.

Detaljni opis izuma i pogodnih izvedbi

Gdje se slijedeći nazivi koriste u ovoj specifikaciji, oni se koriste kako su definirani dolje:

Nazivi "sadržavanje" i "uključivanje" se ovdje koriste u njihovom otvorenom neograničavajućem smislu.

Naziv "nukleozid" se odnosi na spoj koji je sastavljen od bilo koje pentoze ili modificiranog pentoznog dijela, priključenog na specifični položaj nekog heterocikličkog prstena ili na prirodni položaj nekog purina (položaj 9) ili pirimidina (položaj 1) ili na ekvivalentni položaj u nekom analogu.

Naziv "purin" se odnosi na dušikove bicikličke heterocikle.

Naziv "pirimidin" se odnosi na dušikove monocikličke heterocikle.

Naziv "D-nukleozidi" se odnosi na nukleozidne spojeve koji imaju D-riboza šećerni dio (na pr. adenzin).

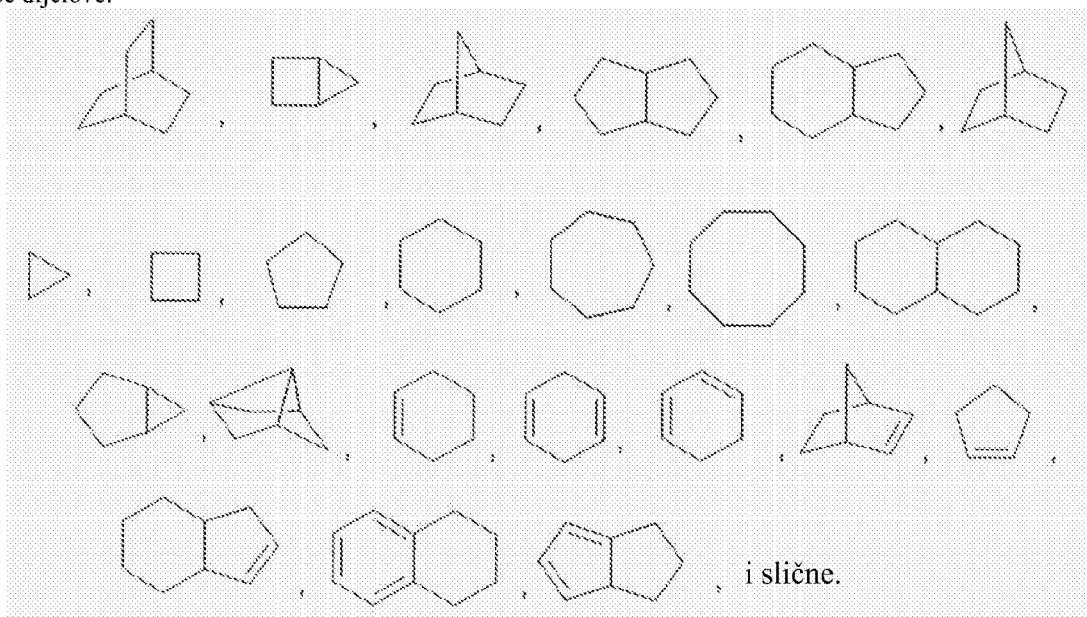
Naziv "L-nukleozidi" se odnosi na nukleozidne spojeve koji imaju L-riboza šećerni dio.

Naziv "alkil", kako se koristi ovdje, odnosi se na ravnolančanu ili razgrananu alkilnu skupinu koja ima jedan do dvanaest ugljikovih atoma. Primjeri alkilnih skupina uključuju metil (Me, koji se također može strukturno označavati s "/"), etil (Et), n-propil, izopropil, butil, izobutil, sec-butil, tert-butil (tBu), pentil, izopentil, tert-pentil, heksil, izoheksil i slične.

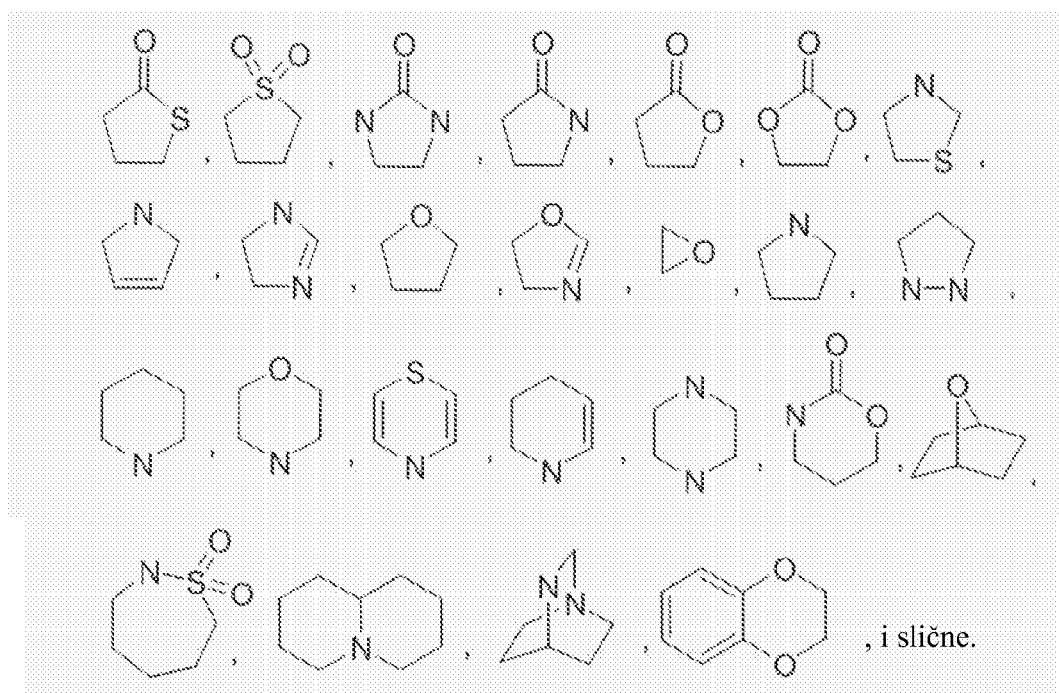
Naziv "alkoksi" se odnosi na –O-alkil. Ilustrativni primjeri uključuju metoksi, etoksi, propoksi i slične.

Naziv "halogen" predstavlja klor, fluor, brom ili jod. Naziv "halo" predstavlja kloro, fluoro, bromo ili jodo.

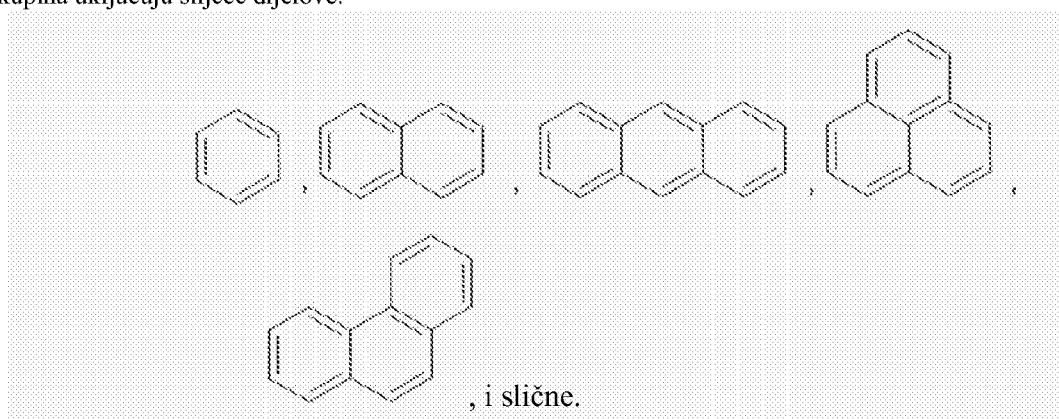
Naziv "cikloalkil" se odnosi na zasićeni ili djelomično zasićeni, monociklički, ili fuzionirani ili spiro policiklički, karbociklički prsten koji ima od tri do dvanaest atoma u prstenu. Ilustrativni primjeri cikloalkilnih skupina uključuju sljedeće dijelove:



"Heterocikloalkil" se odnosi na monocikličku, ili fuzioniranu ili spiro policikličku, prstenastu strukturu koja je zasićena ili djelomično zasićena i ima od tri do dvanaest prstenskih atoma u prstenu odabranih od atoma C i heteroatoma N, O i S. Ilustrativni primjeri heterocikloalkilnih skupina uključuju:



- 5 Naziv "aril" (Ar) se odnosi na monociklički, ili fuzionirani ili spiropoliciklički aromatski karbocikl (prstenasta struktura koja ima atome u prstenu koji su svi ugljik) koji ima od tri do dvanaest prstenskih atoma po prstenu. Ilustrativni primjeri arilnih skupina uključuju slijedeće dijelove:



- 10 Naziv "supstituirani" znači da specifična skupina ili dio nosi jedan ili više supstituenata. Naziv «nesupstituirani» znači da specifična grupa ne nosi nikakve supstituente.

- 15 Neki supstituirani alkil, cikloalkil, ili heterocikloalkil je supstituiran s jednim ili više supstituenata uključujući halogen (F, Cl, Br ili I), niži alkil (C_{1-6}), -OH, -NO₂, -CN, -CO₂H, -O-niži alkil, -aril, -aril-niži alkil, -CO₂CH₃, CONH₂, -OCH₂CONH₂, -NH₂, -SO₂NH₂, haloalkil (na pr. -CF₃, -CH₂CF₃), -O-haloalkil (na pr. -OCF₃, -OCHF₂) i slične.

- Naziv "imunomodulator" odnosi se na prirodne ili sintetske proizvode sposobne da modificiraju normalan ili aberantan imuni sistem putem stimulacije ili supresije.

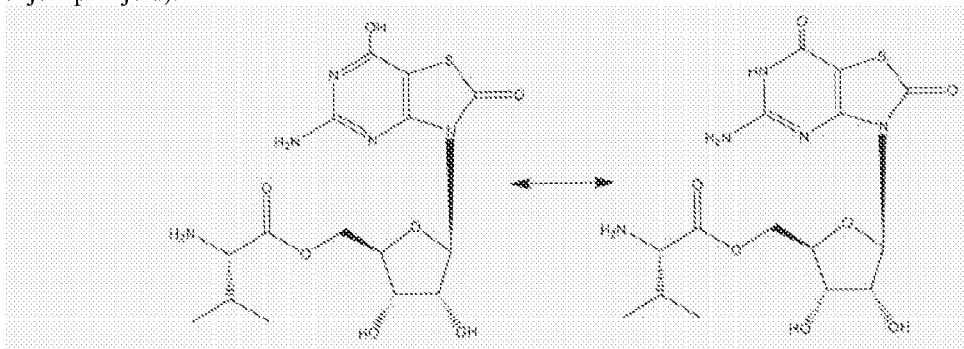
- 20 Naziv "sprječavanje" odnosi se na mogućnost spoja ili sastava iz izuma da spriječi neku bolest ovdje identificiranu u pacijenata s dijagnozom da imaju bolest ili su pod rizikom na razvoj takve bolesti. Naziv također obuhvaća sprječavanje daljnjeg napredovanja bolesti u pacijenata koji već pate ili imaju simptome te bolesti.

- Naziv "liječenje" odnosi se na:

- 25 (i) sprječavanje bolesti, poremećaja ili stanja da se dogodi u životinje koje može predisponirati za bolest, poremećaj i/ili stanje, ali još nije dijagnosticirano da je ima.
 (ii) inhibiranje bolesti, poremećaja ili stanja, t.j. zaustavljanje njegovog razvoja; i
 (iii) ublažavanje bolesti, poremećaja ili stanja, t.j. izazivanje regresije bolesti, poremećaja i/ili stanja.

Nazivi " α " i " β " indiciraju specifičnu stereokemijsku konfiguraciju supstituenta na asimetričnom ugljikovom atomu u kemijskoj strukturi kako je nacrtana. Ovdje opisani spojevi su svi D-furanosil konfiguracije.

- 5 Spojevi iz izuma mogu pokazati fenomen tautomerije. Dok Formula I ne može izraziti sve moguće tautomerne oblike, podrazumijeva se da se Formulom I namjerava predstaviti bilo koji tautomerni oblik opisanog spoja i da nisu ograničene samo na specifični oblik spoja opisanog crtežima formule. Na primjer, za Formulu I se podrazumijeva da, bez obzira da li su ili nisu prikazani supstituenti u njihovom enolnom ili njihovom keto obliku, oni predstavljaju isti spoj (kako je prikazano u donjem primjeru).



Neki od spojeva iz izuma mogu postojati kao samostalni stereoizomeri (na pr. u biti bez drugih stereoizomera), racemati, i/ili smjese enantiomera i/ili diastereomera. Namjera je, da su svi takvi pojedinačni stereoizomeri, racemati i njihove smjese unutar opsega ovog izuma. Pogodno, spojevi iz izuma koji su optički aktivni koriste se u optički čistom obliku.

Kako općenito podrazumijevaju stručnjaci iz odgovarajućeg područja, optički čist spoj koji ima jedan kiralni centar (t.j. jedan asimetrični ugljikov atom) je onaj koji se u biti sastoji od jednog od dva moguća enantiomera (t.j. enantiomerno je čist), a neki optički čist spoj koji ima više od jednog kiralnog centra je onaj koji je i diastereomerno čist i enantiomerno čist. Pogodno, spojevi predmetnog izuma se koriste u obliku koji je barem 90% optički čist, to jest u obliku koji sadrži barem 90% pojedinačnog izomera (80% enantiomernog suviška (enantiomeric excess, "e.e.") ili diastereomernog suviška (diastereomeric excess, "d.e."), pogodnije barem 95% (90% e.e. ili d.e.), čak još pogodnije barem 97,5% (95% e.e. ili d.e.) i najpogodnije barem 99% (98% e.e. ili d.e.).

Uz to, namjera je da Formula I pokriva topive kao i netopive oblike identificiranih struktura. Na primjer, Formula I uključuje spojeve pokazanih struktura u hidratiziranim i ne-hidratiziranim oblicima. Drugi primjeri solvata uključuju strukture u kombinaciji s izopropanolom, ctanolom, metanolom, DMSO, ctil acetatom, octenom kislinom ili etanolaminom.

Dodatno spojevima Formule I, izum uključuje farmaceutski prihvatljive prolijeke, farmaceutski aktivne metabolite i farmaceutski prihvatljive soli takvih spojeva i metabolita.

"Farmaceutski prihvatljivi prolijeke" je neki spoj koji može biti konvertiran u fiziološkim uvjetima ili pomoću solvolize u specifičan spoj ili u farmaceutski prihvatljivu sol takvog spoja prije nego ispolji svoj(e) farmakološki(e) učinak(učinke). Tipično, prolijeke se formulira s ciljem(evima) poboljšane kemijske stabilnosti, poboljšano prijem i privole u pacijenta, poboljšane bioraspodivnosti, produljenog trajanja djelovanja, poboljšane selektivnosti za organe, poboljšane formulacije (na pr. povećane topivosti u vodi) i/ili smanjenja nuspojava (na pr. toksičnosti). Prolijeke se može lako pripremiti iz spojeva Formule I koristeći postupke poznate u struci, kakvi su oni opisani u *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Chemistry*, 1, 172-178, 949-982 (1995). Pogledajte također Bertolini et al., *J. Med. Chem.*, 40, 2011-2016 (1997); Shan et al., *J. Pharm. Sci.* 86 (7), 765-767; Bagshawe, *Drug Dev. Res.*, 34, 220-230 (1995); Bodor, *Advances in Drug Res.*, 13, 224-331 (1984); Bundgaard, *Design of Prodrugs* (Elsevier Press 1985); Larsen, *Design and Application of Prodrugs*, Drug Design and Development (Krogsgaard-Larsen et al., eds., Harwood Academic Publishers, 1991); Dear et al., *J. Chromatogr. B*, 748, 281-293 (2000); Spraul et al., *J. Pharmaceutical & Biomedical Analysis*, 10, 601-605 (1992); i Prox et al., *Xenobiol.*, 3, 103-112 (1992).

Namjera je da "farmaceutski aktivni metabolit" znači farmakološki aktivni produkt, proizveden iz specificiranog spoja ili njegove soli tijekom metabolizma u tijelu. Nakon ulaska u tijelo, većina lijekova su supstrati za kemijske reakcije koje mogu mijenjati njihova fizička svojstva i biološke efekte. Ove metaboličke konverzije, koje obično utječu na polarnost spojeva Formule I, prepravljaju način kojim se lijekovi distribuiraju u tijelu ili izlučuju iz njega. Međutim, u nekim slučajevima metabolizam lijeka je nužan za terapijski učinak. Na primjer, protutumorski lijekovi iz klase anti-metabolita moraju se konvertirati u njihove aktivne oblike nakon što su transportirani u tumorsku stanicu.

Budući da većina lijekova pretrpi neku vrstu metaboličke transformacije, biokemijske reakcije koje igraju ulogu u metabolizmu lijeka mogu biti brojne i različite. Glavno mjesto za metabolizam lijekova je jetra, premda i druga tkiva mogu također sudjelovati.

Karakteristična značajka mnogih ovih transformacija je, da su metabolički produkti ili "metaboliti" polarniji od lijekova iz kojih su proistekli, premda i neki polarni lijek katkada daje manje polarni produkt. Supstance s visokim koeficijentima udjela lipid/voda, koje lako prolaze kroz membrane, također se lako šire natrag iz tubularnog urina kroz bubrežne tubularne stanice u plazmu. Stoga su takve tvari sklone da imaju niski bubrežni klirens i dugu perzistenciju u tijelu. Ako se lijek metabolizira u polarniji spoj, jedan s nižim particijskim koeficijentom, njegova tubularna reapsorpcija će se uvelike smanjiti. Štoviše, specifični sekretorni mehanizmi za anione i katione u proksimalnim renalnim tubulima i u parenhimskim jetrenim stanicama djeluju na visoko polarnim supstancama.

Kao specifičan primjer, fenacetin (acetofenetidin) i acetanilid su oba blagi analgetski i antipiretički agensi, ali se unutar tijela transformiraju u polarniji i učinkovitiji metabolit, p-hidroksiacetanilid (acetaminofen) koji se danas široko koristi. Kada se doza acetanilida daje osobi, sukcesivni metaboliti pojavljuju se do maksimuma i razgrađuju sekvencijski u plazmi. Za vrijeme prvog sata, acetanilid je glavna komponenta plazme. U drugom satu, kako razina acetanilida pada, koncentracija metabolitnog acetaminofena dostiže svoj vrhunac. Konačno, nakon nekoliko sati, glavna komponenta plazme je daljnji metabolit koji je inertan i može se izlučivati iz tijela. Tako koncentracija u plazmi jednog ili više metabolita kao i samog lijeka, može biti farmakološki važna.

Namjera je, da "farmaceutski prihvatljiva sol" znači sol koja zadržava biološku učinkovitost slobodnih kiselina i baza specifičnog spoja i koja nije biološki ili na drugi način nepoželjna. Spoj iz izuma može posjedovati dovoljno kiselinskih ili dovoljno bazičnih ili obih funkcionalnih skupina i u skladu s tim reagirati s bilo kojim brojem anorganskih ili organskih baza, anorganskih i organskih kiselina da se formira farmaceutski prihvatljiva sol. Kao primjer, farmaceutski prihvatljive soli uključuju one soli koje su pripremljene reakcijom spojeva predmetnog izuma s mineralnom ili organskom kiselinom ili nekom anorganskom bazom, kao što su soli koje uključuju sulfate, pirofosphate, bisulfate, sulfite, bisulfite, fosfate, monohidrogenfosfate, dihidrogenfosfate, metafosfate, pirofosfate, kloride, bromide, jodide, acetate, propionate, dekanate, kaprilate, akrilate, formate, izobutirate, kaproate, heptanoate, propiolate, oksalate, malonate, sukcinat, suberate, sebakate, fumarate, maleate, butin-1,4-dioate, heksin-1,6-dioate, benzoate, klorobenzoate, metilbenzoate, dinitrobenzoate, hidroksibenzoate, metoksibenzoate, ftalate, sulfonate, ksilensulfonate, fenilacetate, fenilpropionate, fenilbutirate, citrate, laktate, γ -hidroksibutirate, glikolate, tartarate, metan-sulfonate, propansulfonate, naftalen-1-sulfonate, naftalen-2-sulfonate i mandelate.

Ako je spoj iz izuma neka baza, željena farmaceutski prihvatljiva sol se može pripremiti bilo kojim prikladnim postupkom raspoloživim u struci, na primjer obradom slobodne baze anorganskom kiselinom, kao što je solna kiselina, bromovodična kiselina, sumporna kiselina, dušična kiselina, fosforna kiselina i slične, ili s organskom kiselinom kao što je octena kiselina, maleinska kiselina, jantarna kiselina, bademova kiselina, fumarna kiselina, malonska kiselina, pirogroždana kiselina, oksalna kiselina, glikolna kiselina, salicilna kiselina, piranozidilna kiselina, kao glukuronska kiselina ili galakturonska kiselina, jedna alfa-hidroksi kiselina, kao limunska kiselina ili vinska kiselina, neka amino kiselina kao asparaginska kiselina ili glutaminska kiselina, neka aromatska kiselina kao benzojeva kiselina ili cimetna kiselina, neka sulfonska kiselina, kao p-toluensulfonska kiselina ili etansulfonska kiselina ili slične.

Ako je spoj iz izuma kiselina, željena farmaceutski prihvatljiva sol se može pripremiti bilo kojim prikladnim postupkom, na primjer obradom slobodne kiseline s anorganskom ili organskom bazom, kao što je neki amin (primarni, sekundarni ili tercijarni), neki hidroksid alkalijskog metala ili hidroksid zemno-alkalijskog metala, ili slični. Ilustrativni primjeri prikladnih soli uključuju organske soli izvedene iz aminokiselina, kao što su glicin i arginin, amonijak, primarni, sekundarni i tercijarni amini i ciklički amini, kao što je piperidin, morfolin i piperazin, i anorganske soli izvedene iz natrija, kalcija, kalija, magnezija, mangana, željeza, bakra, cinka, aluminijske i litija.

U slučaju da su agensi krutine, stručnjaci iz odgovarajućeg područja podrazumijevaju da spojevi i soli iz izuma mogu postojati u različitim kristalnim ili polimorfnim oblicima, za koje je sve namjera da budu unutar opsega predmetnog izuma i specificiranih formula.

Daljnji aspekt predmetnog izuma je usmjeren na farmaceutski sastav koji sadrži farmaceutski prihvatljiv nosilac ili neki razrjeđivač i terapijski učinkovitu količinu spoja Formule I, farmaceutski prihvatljivu sol, hidrat, ester, solvat, prolijevak, metabolit ili stereoisomer.

Spojevi Formule I su korisni u proizvodnji farmaceutskih formulacija koje sadrže učinkovitu količinu od njih, u spoju sa smjesom s ekscipijentima ili nosiocima prikladnim za enteralnu ili parenteralnu primjenu. Kao takve, formulacije predmetnog izuma prikladne za oralno davanje mogu biti u obliku zasebnih jedinica kao kapsula, sašeta (cachets), tableta, pilula ili pastila, koja svaka sadrži predodređenu količinu aktivnog sastojka; u obliku praška ili granula; u obliku

otopine ili suspenzije u vodenoj tekućini ili nevodenoj tekućini; ili u obliku emulzije ulja u vodi ili emulzije vode u ulju. Aktivni sastojak može također biti u obliku bolusa, elektuarija ili paste.

- 5 Sastav će se obično formulirati u obliku jediničnog doziranja, kao tableta, kapsula, vodena suspenzija ili otopina. Takve formulacije tipično uključuju kruti, polukruti ili tekući nosilac. Kao primjer, nosioci uključuju laktozu, dekstrozu, saharozu, sorbitol, manitol, škrobove, gumiakaciju, kalcijev fosfat, mineralno ulje, kakao maslac, ulje od teobroma, alginate, tragakant, želatinu, sirup, metilcelulozu, polioksietilen sorbitan monolaurat, metil hidroksibenzoat, propil hidroksibenzoat, talk, magnezijev stearat i slično.
- 10 Posebno pogodne formulacije uključuju tablete i želatinske kapsule koje sadrže aktivni sastojak zajedno s (a) razrjeđivačima, kao laktoza, dekstroza, saharoza, manitol, sorbitol, celuloza, sušeni kukuruzni škrob i glicin; i/ili (b) lubrikantima, kao silicijev dioksid, talk, stearinska kiselina, njena magnezijeva ili kalcijeva sol i polietilen glikol.

- 15 Tablete također mogu sadržavati veziva, kao magnezij aluminijski silikat, škrobnu pastu, želatinu, tragakant, metilcelulozu, natrijevu karboksimetilcelulozu i polivinilpirolidon; nosioce kao laktozu i kukuruzni škrob; dezintegratore kao škrobove, agar, alginsku kiselinu ili natrijevu sol, i pjenušave smjese; i/ili apsorbanse, bojila, okuse, zaslađivače. Sastavi iz izuma mogu biti sterilizirani i/ili sadržavati pomoćna sredstva kao agense za konzerviranje, stabiliziranje, bubrenje ili emulgiranje, pospješivače otapanja, soli za reguliranje osmotskog tlaka i/ili pufere. Uz to, sastav može također sadržavati druge terapijske vrijedne supstance. Vodne suspenzije mogu sadržavati agense za
- 20 emulgiranje i suspendiranje kombinirane s aktivnim sastojkom. Svi oralni oblici doziranja mogu nadalje sadržavati agense za zaslađivanje i/ili za okus i/ili za bojenje.

- Ovi se sastavi pripremaju u skladu s uobičajenim postupcima miješanja, granuliranja, odnosno oblaganja i sadrže oko 0,1 do 75% aktivnog sastojka, pogodno oko 1 do 50% istog. Tableta se može izraditi komprimiranjem ili kalupljenjem
- 25 aktivnog sastojka po izboru s jednim ili više pomoćnih sastojaka. Komprimirane tablete mogu se pripremati komprimiranjem u prikladnom stroju, a aktivni sastojak u slobodno tekućem obliku kao što je prašak ili granule, po izboru miješan s vezivom, lubrikantom, inertnim razrjeđivačem, površinski aktivnim ili disperzivnim agensom. Kalupljene tablete mogu biti izrađene kalupljenjem u prikladnom stroju, a smjesa praškastog aktivnog sastojka i prikladnog nosioca ovlažena inertnim tekućim razrjeđivačem.

- 30 Kada se daje parenteralno, sastav će normalno biti u jedinici doziranja, sterilnom obliku za uštrcavanje (vodenoj izotoničkoj otopini, suspenziji ili emulziji) s farmaceutski prihvatljivim nosiocem. Takvi nosioci su pogodno netoksični, parenteralno prihvatljivi i sadrže neterapeutske razrjeđivače ili otapala. Primjeri takvih nosioca uključuju vodu, vodene otopine kao fiziološku otopinu (izotoničku otopinu natrijevog klorida), Ringer-ovu otopinu, otopinu dekstroze, i
- 35 Hanks-ovu otopinu; i bezvodne nosioce kao 1,3-butandiol, čvrsta ulja (na pr. od kukuruza, pamukovog sjemena, kikirikija, sezamovog ulja, i sintetičkih mono- ili diglicerida), etil oleat i izopropil miristat.

- Uljne suspenzije mogu se formulirati u skladu s tehnikama poznatim u struci koristeći prikladne disperzivne ili ovlažujuće agense i agense za suspendiranje. Između prihvatljivih otapala ili medija za suspenziju su sterilna čvrsta ulja.
- 40 Za ovu svrhu može se koristiti bilo koje neutralno čvrsto ulje. Masne kiseline kao oleinska kiselina i njeni gliceridni derivati, uključujući maslinovo ulje i ricinusovo ulje, posebno u njihovim polioksietiliranim oblicima, su također korisne u pripremi pripravaka za uštrcavanje. Ove uljne otopine ili suspenzije mogu također sadržavati dugolančane alkoholne razrjeđivače ili disperzante.

- 45 Sterilna fiziološka otopina je pogodan nosilac, i spojevi su često dovoljno topivi u vodi da bi se izradili kao otopina za sve predvidive potrebe. Nosilac može sadržavati manje količine aditiva, kao što su tvari koje pojačavaju topivost, izotoničnost i kemijsku stabilnost, na pr. antioksidanse, pufere i konzervanse.

- Kada se daje rektalno, sastav će obično biti formuliran u obliku jediničnog doziranja kao čepić ili sašeta (cachet). Ovi se
- 50 sastavi mogu pripremati miješanjem spoja s prikladnim neiritantnim ekscipijentima koji su kruti pri sobnoj temperaturi, ali tekući pri rektalnoj temperaturi, tako da će se oni rastopiti u rektumu da oslobode spoj. Uobičajeni ekscipijenti uključuju kakao maslac, pčelinji vosak i polietilen glikole ili druge masne emulzije ili suspenzije.

- Formulacije prikladne za nazalno ili bukalno davanje (kao što su samo-oslobađajuće praškaste formulacije) mogu
- 55 sadržavati oko 0,1% do oko 5 tež.-% aktivnog sastojka ili na primjer, oko 1 tež.-% istog. Uz to, neke formulacije se mogu spajati u sublingvalne pilule ili pastile.

- Štoviše, spojevi se mogu davati lokalno, posebno kada uvjeti upravljeni na liječenje uključuju područja ili organe koji su
- 60 lako pristupačni za lokalno davanje, uključujući poremećaje oka, kože ili donjeg intestinalnog trakta.

Za lokalnu primjenu u oko ili za očnu uporabu, spojevi se mogu formulirati kao mikronizirane suspenzije u izotoničnoj, sterilnoj fiziološkoj otopini podešenog pH ili pogodno, kao otopina u izotoničnoj, sterilnoj fiziološkoj otopini podešenog

pH, s ili bez konzervansa kao što je benzilalkonijev klorid. Alternativno, spojevi se mogu formulirati u mastima kao što je mineralna mast.

Za lokalnu primjenu na koži, spojevi se mogu formulirati u prikladnim mastima koje sadrže suspendirane ili otopljene spojeve, na primjer smjesama s jednim ili više od slijedećih: mineralno ulje, tekući petrolat, bijeli petrolat, propilen glikol, polioksietilenski spoj, polioksipropilenski spoj, emulgirajući vosak ili voda. Alternativno, spojevi se mogu formulirati u prikladnim losionima ili kremama koje u sebi sadrže aktivni spoj suspendiran ili otopljen u, na primjer, smjesi jednog ili više od slijedećih: mineralno ulje, sorbitan monostearat, polisorbit 60, cetilesterski vosak, cetearilni alkohol, 2-oktildodekanol, benzil alkohol i voda.

Lokalna primjena u donji intestinalni trakt može se vršiti u formulacijama rektalnih čepića (vidi gore) ili u prikladnim formulacijama za klizmu.

Formulacije se mogu pogodno predstaviti u obliku jedinica doziranja i mogu se pripremati bilo kojim dobro poznatim postupkom u farmaceutskoj struci. Svi postupci uključuju korak dovođenja aktivnog sastojka u združivanje s nosiocem, kojeg sačinjava jedan ili više pomoćnih sastojaka. Općenito, formulacije se pripremaju jednoličnim i bliskim dovođenjem aktivnog sastojka u združivanje s tekućim nosiocem ili fino razdijeljenim krutim nosiocem ili obima, i zatim, ako je potrebno, oblikovanjem produkta u željenu formulaciju.

Farmaceutski sastav predmetnog izuma se koristi u količini koja je terapijski učinkovita, a količine koje se koriste mogu zavisiti o željenom profilu oslobađanja, koncentraciji farmaceutskog sastava koja se traži za učinak povećanja osjetljivosti, i duljini vremena u kojem se farmaceutski sastav mora osloboditi radi liječenja.

Spojevi Formule I iz izuma se pogodno daju kao kapsule ili tablete koje sadrže pojedinu ili podijeljenu dozu spoja, ili kao sterilna otopina, suspenzija ili emulzija za parenteralno davanje u pojedinoj ili podijeljenoj dozi.

Spojevi iz izuma se koriste u sastavu u količinama koje su terapijski učinkovite. Dok će učinkovita količina spojeva Formule I zavisiti o pojedinom spoju koji se koristi, količine ovih spojeva koje variraju od oko 1% do oko 65% su bile lako inkorporirane u sisteme davanja tekućeg ili krutog nosioca.

Za medicinsku uporabu, količina spoja Formule I koja je potrebna da se postigne terapijski učinak će varirati u skladu s posebnim spojem koji se daje, putem davanja sisavcu kojeg se liječi, i posebnim dotičnim poremećajem ili bolešću. Prikladna sistemska doza spoja Formule I za sisavca koji pati, ili će vjerojatno patiti, od bilo kojeg stanja kako je ovdje opisano je tipično u rasponu od oko 0,1 do oko 100 mg baze po kilogramu tjelesne težine. Podrazumijeva se da će redovno obrazovan liječnik ili veterinar lako moći odrediti i propisati učinkovitu količinu spoja za željeno profilaktičko ili terapijsko liječenje.

U tom postupku, liječnik ili veterinar može upotrijebiti intravenozni bolus iza čega slijedi intravenozna infuzija i ponovljena davanja, kako se smatra potrebnim. U postupcima ovog izuma, spojevi se mogu davati na primjer oralno, parenteralno, u inhalacijskom spreju, lokalno, rektalno, nazalno, bukalno, sublingvalno, vaginalno, intraventrikularno ili preko implantiranog spremnika u doziranim formulacijama koje sadrže uobičajene nectoksične farmaceutski prihvatljive nosioce, adjuvante i posrednike.

Parenteralno uključuje, ali nije ograničeno na slijedeće primjere davanja: intravenozno, supkutano, intramuskularno, intraspinalno, intrakoštano (intraosseous), intraperitonealno, intratekalno, intraventrikularno, intrasternalno ili intrakranijalno injektiranje i infuzijske tehnike, kao na pr. subduralnom pumpom. Preporučljive su invazivne tehnike, posebno izravno davanje u oštećeno živčano tkivo. Iako je za spoj(eve) Formule I moguće da se daju sami, pogodno je da ih se daje kao dio farmaceutske formulacije.

Da bi bili terapijski učinkoviti za ciljeve u centralnom nervnom sistemu, spojevi koji se koriste u postupcima iz ovog izuma bi trebali lako prodirati kroz krvno-moždanu barijeru kada se daju periferno. Spojevi koji ne mogu prodirati kroz krvno-moždanu barijeru, međutim, još uvijek se mogu učinkovito davati intraventrikularnim putem.

Spojevi koji se koriste u postupcima predmetnog izuma mogu se davati u jednoj dozi, više odijeljenih doza ili kontinuiranom infuzijom. Budući da su spojevi mali, lako se mogu difundirati i relativno su stabilni, oni su dobro prikladni za kontinuiranu infuziju. Pumpna sredstva, naročito subkutana ili subduralna pumpna sredstva u prednosti su za kontinuirane infuzije.

Za postupke predmetnog izuma, može se upotrijebiti bilo koji učinkoviti režim davanja koji regulira vremenski raspored i slijed doza. Doze ovih spojeva pogodno uključuju farmaceutske dozirne jedinice koje sadrže učinkovitu količinu aktivnog spoja. Pod učinkovitom se količinom smatra količina koja je dovoljna da daje imunostimulacijski odgovor i/ili da izvede željene korisne efekte putem davanja jedne ili više farmaceutskih dozirnih jedinica.

Kao primjer, jedna dnevna jedinica doziranja za nekog kralježnjačkog primaoca sadrži količinu od oko 0,001 mg/kg do oko 50 mg/kg. Tipično, razine doziranja u redu od oko 0,1 mg do oko 10 000 mg spoja aktivnog sastojka su korisne u liječenju gornjih stanja, s pogodnim razinama koje su oko 0,5 mg do oko 2 000 mg. Specifična razina doziranja za bilo kojeg pojedinog pacijenta će varirati zavisno o različitim faktorima, uključujući aktivnost upotrebljenog specifičnog spoja; dob, tjelesnu težinu, opće zdravstveno stanje, spol i dijetu dotičnog pacijenta; vrijeme davanja; brzinu izlučivanja, bilo koju kombinaciju spoja s drugim lijekovima; žestinu pojedinačne bolesti koja se liječi; kao i oblik i put davanja. Tipično, rezultati efekta doziranja *in vitro* daju korisnu smjernicu za utvrđivanje prave doze za davanje pacijentu. Izučavanja u životinjskim modelima mogu također biti od pomoći. Razmatranja za određivanje pravilnih razina doze dobro su poznata u struci.

Spojevi i sastavi se mogu usporedno davati s jednim ili više terapijskih čimbenika ili (i) zajedno u jednoj formulaciji ili (ii) odvojeno u pojedinačnim formulacijama dizajniranim za optimalne brzine oslobađanja njihovog odgovarajućeg aktivnog čimbenika. Svaka formulacija može sadržavati od oko 0,01% do oko 99,99 tež.-% , pogodno od oko 3,5% do oko 60 tež.-% spoja iz izuma, kao i jedan ili više farmaceutskih ekscipijenata, kao što su agensi za vlaženje emulgiranje i pH puferiranje. Kada se spojevi koji se koriste u postupcima iz izuma daju u kombinaciji s jednim ili više drugih terapijskih agensa, specifične razine doziranja za ove agense će zavisiti o razmatranjima kao što su ona gore naznačena za sastave i postupke iz izuma općenito.

Za postupke predmetnog izuma, može se upotrijebiti bilo koji režim davanja koji regulira vrijeme i slijed davanja ovog spoja, i ponoviti po potrebi za učinkovito liječenje. Takav režim može uključiti predliječnje i/ili usporedno davanje s dodatnim terapijskim agensima.

Agensi iz izuma se mogu pripremati koristeći puteve reakcija i sheme sinteza kako se opisuje dolje, uporabom općih tehnika poznatih u struci, koristeći početne materijale koji su lako raspoloživi. Sinteze spojeva koji nisu obrađeni primjerima u skladu s ovim izumom, mogu se uspješno izvoditi modifikacijama, koje su jasne stručnjaku iz odgovarajućeg područja, na pr. pravilnom zaštitom interferirajućih skupina, promjenom u druge prikladne reagense poznate u struci ili pomoću stvaranja rutinskih modifikacija uvjeta reakcije. Alternativno, druge reakcije koje su ovdje otkrivene ili su opće poznate u struci, prepoznat će se da imaju primjenjivost za pripremanje drugih spojeva iz izuma.

Pripremanje spojeva

U shemama sinteze koje su opisane dolje, ukoliko nije drugačije označeno, sve su temperature izložene u stupnjevima Celzijusa, a svi su dijelovi i procenti težinski. Reagensi se kupljeni od trgovačkih dobavljača kao Aldrich Chemical Company ili Lancaster Synthesis Ltd. i koristili su se bez daljnjeg pročišćavanja ukoliko nije drugačije označeno. Tetrahidrofur (THF) i N, N-dimetilformamid (DMF) kupljeni su od Aldrich u sigurnim zabrtvljenim bocama (Sure Seal bottles) i korišteni kako su primljeni. Ukoliko nije drugačije označeno, slijedeća otapala i reagensi su destilirani pod pokrovom suhog dušika. THF i Et₂O su destilirani iz Na-benzofenon-ketila; CH₂Cl₂, diizopropilamin, piridin i Et₃N destilirani su iz CaH₂; MeCN je destiliran najprije iz P₂O₅, zatim iz CaH₂; MeOH je destiliran iz Mg; PhMe, EtOAc i *i*-PrOAc su destilirani iz CaH₂; TFAA je pročišćen putem jednostavne atmosferske destilacije pod suhim argonom.

Dolje izložene reakcije su učinjene općenito pod pozitivnim tlakom argona i pri temperaturi okoline (ukoliko nije drugačije navedeno) u bezvodnim otapalima, i reakcijske tikvice su opremljene gumenim pregradama za unošenje supstrata i reagensa pomoću šprice. Staklo se sušilo u peći i/ili topline. Reakcije su praćene pomoću TLC i zaustavljane na temelju procjene potrošenog početnog materijala. Analitička tankoslojna kromatografija (Thin Layer Chromatography, TLC) se izvodila na aluminijskim pločama od 0,2 mm sa silika gelom 60 F₂₅₄ (EM Science), i promatrana pomoću UV svjetla (254 nm) iza čega je slijedilo grijanje s komercijalnom etanolnom fosfomolibdenskom kiselinom. Preparativna tankoslojna kromatografija (TLC) se izvodila na aluminijskim pločama od 1,0 mm sa silika gelom 60 F₂₅₄ (EM Science) i promatrana UV svjetlom (254 nm).

Obrade su tipično radene udvostručavanjem reakcijskog volumena s reakcijskim otapalom ili ekstrakcijskim otapalom i zatim ispiranjem s označenim vodenim otopinama koristeći volumskih 25% od ekstrakcijskog volumena ukoliko nije drukčije označeno. Otopine produkata su se sušile preko bezvodnih Na₂SO₄ i/ili MgSO₄ prije filtriranja i isparavanja otapala pod sniženim pritiskom na rotacionom isparivaču i označene su kako su otapala odstranjena u vakuumu. Kromatografija na koloni je dovršena pod pozitivnim tlakom koristeći silika gel od 230-400 okanaca ili neutralni aluminijev oksid (glinicu) od 50-200 okanaca. Hidrogenoliza je izvršena pri tlaku koji je označen u primjerima ili pri tlaku okoline.

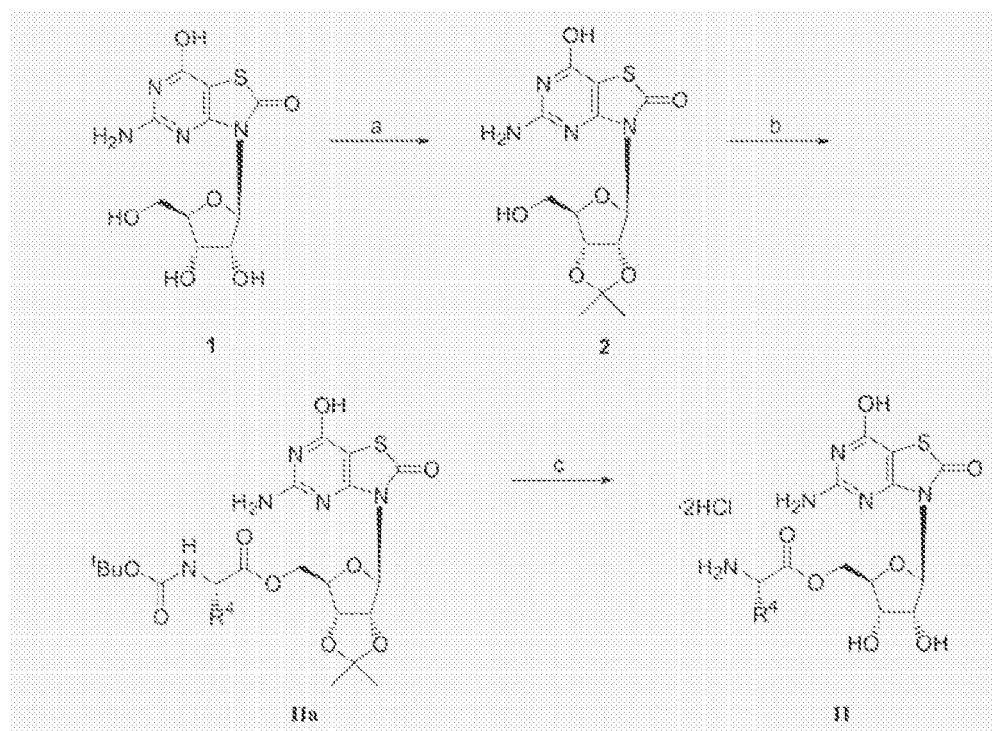
¹H-NMR spektri zabilježeni su na Varian Mercury-VX400 instrumentu koji radi na 400 MHz, a ¹³C-NMR spektri su zabilježeni na 75 MHz. NMR spektri su dobiveni kao otopine CDCl₃ (izviješteno u ppm), koristeći kloroform kao referentni standard (7,27 ppm i 77,00 ppm), CD₃OD (3,4 i 4,8 ppm i 49,3 ppm), DMSO-d₆, ili interno tetrametilsilan (0,00 ppm) kada je odgovarajuće. Druga su NMR otapala korištena po potrebi. Kada se prikazivalo multiplicitet vrhova,

korištene su slijedeće kratice: s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), m (multiplet), br (broad resonance = široka rezonanca), dd (dublet od dubleta), dt (dublet od tripleta). Konstante kopuliranja, kada su dane, prikazane su u Hertzima (Hz).

- 5 Infracrveni (IR) spektri su zabilježeni na FT-IR Spektrometru kao čista ulja, kao KBr pelete, ili kao otopine CDCl_3 , a kada su dani, prikazani su u brojevima valova (cm^{-1}). Prikazani maseni spektri su (+)-ES LC/MS, koje je proveo Analytical Chemistry Department u Anadys Pharmaceuticals, Inc. Elementarne analize je proveo Atlantic Microlab, Inc. u Norcross, GA. Tališta (melting points, mp) su određena na otvorenom kapilarnom aparatu i nisu ispravljena.
- 10 Opisani putevi sinteza i eksperimentalnih postupaka iskorištavaju mnogo uobičajenih kemijskih kratica, THF (tetrahidrofuran), DMF (N,N-dimetilformamid), EtOAc (etil acetat), DMSO (dimetil sulfoksid), DMAP (4-dimetil aminopiridin), DBU (1,8-diazaciklo[5.4.0]undek-7-en), DCM (4-(dicijanometilen)-2-metil-6-(4-dimetilamino-stiril)-4 H -piran), MCPBA (3-kloroperoksibenzojeva kiselina), EDC (1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilkarbodiimid hidroklorid), HATU (O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronij heksafluorofosfat), HOBT (1-hidroksibenzotriazol hidrat),
- 15 TFAA (anhidrid trifluorooctene kiseline), pyBOP (benzotriazol-1-iloksi) tripirolidinofosfonij heksafluorofosfat), DIEA (diizopropiletilamin) i slične.

Shema 1 prikazuje opći postupak za pripremu 5'-aminokiselnih estera od 5-amino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d] pirimidin-2,7-diona.

Shema 1

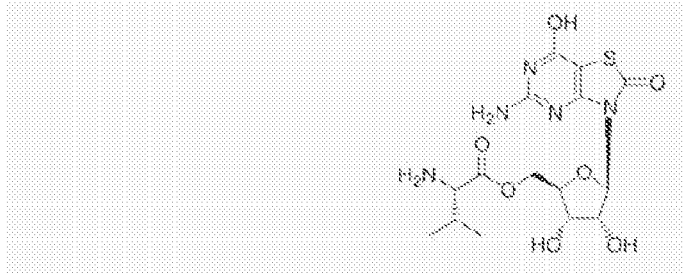


- a) 2,2-dimetoksiopropan, aceton, DMSO, MeSO_3H , 0°C
 b) $\text{BOC-NHCHR}^4\text{CO}_2\text{H}$, EDC, DMAP, PhMe, 0°C -sobna temp.
 c) bezvodni HCl, *i*PrOAc, *i*PrOH

Na tipičnom putu sinteze, 2',3'-hidroksilne skupine od dijela β-D-riboze od 5-amino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d] pirimidin-2,7-diona se najprije zaštititi, pogodno s acetonom kako je prikazano u 2. Slobodni 5'-hidroksil se može zatim podvrgnuti različitim postupcima esterifikacije s N-zaštićenom aminokiselinom da se formira IIa. Dušik estera aminokiseline i 2',3'-hidroksili jedinice riboze se zatim podvrgavaju različitim uvjetima skidanja zaštite, pogodno istovremeno, čemu slijedi formiranje soli slobodnog amina estera aminokiseline kako je ilustrirano za II.

Primjer 1

5-amino-3-(5'-O-1-valinil-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-dion dihidroklorid (3)

*Stupanj 1: Priprema 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona*

5 Heterogenoj smjesi od 1 (5,37 g, 17,0 mmol, pripremljenoj u skladu s postupkom danim u US patentu br. 5,041,426 (Primjer 2), koji je inkorporiran referencom svojom cjelokupnosti) u acetonu (40 ml) sadržanoj u Mortonovoj tikvici od 250 ml, dodan je postupno 2,2-DMP (6,26 ml, 50,9 mmol), DMSO (6,6 ml) i MeSO₃H (220 μl, 3,39 mmol) pri sobnoj temperaturi. Reakcijska smjesa se snažno miješala, postajući homogenom i zlatno žutom kako se diol trošio. TLC analiza (SiO₂, 10% MeOH-CHCl₃) označila je dovršenje reakcije nakon 6 h. Neotopljene krutine su odstranjene putem gravitacijske filtracije koristeći nabrani filterski papir Whatman tip 1. Ovome je slijedilo nalijevanje filtrata u 10 volumena ledene vode (~400 ml), što je rezultiralo trenutnom precipitacijom bijele krutine. Nakon kratkog perioda miješanja, NaHCO₃ (285 mg, 3,39 mmol), otopljen u vodi (10 ml), je dodan da neutralizira MeSO₃H. Snažno miješanje u Mortonovom reaktoru je nastavljeno tijekom 15 min, poslije toga se smjesa filtrirala kroz lijevak od grubog sinterovanog stakla. Kruta tvar je isprana ledenom vodom (100 ml), osušena na zraku, zatim dalje osušena pod visokim vakuumom pri 65°C dajući 5,36 g (88%) acetoniida 2 kao bijelu krutinu: talište 280-281°C ; ¹H (DMSO-*d*₆) δ 1,28 (s, 3H), 1,47 (s-3H), 3,43-3,55 (m, 2H), 3,95-3,99 (m, 1H), 4,77-4,80 (m, 1H), 4,88-4,91 (m, 1H), 5,24-5,26 (m, 1H), 5,99 (s, 1H), 6,97 (br s, 2H), 11,25 (s, 1H).

Stupanj 2: Priprema 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-5'-N-terc-butoksikarbonil-1-valinil)-β-D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (4)

20 Otopini od *N*-butoksikarbonil-(L)-valina (671 mg, 2,81 mmol) u THF (9 ml) pri 0°C dodan je EDC (588 mg, 3,07 mmol). Nastala homogena smjesa se miješala 45 min pri 0°C, na kojoj točki je ona postala heterogena i dodan je u jednom obroku kruti acetoniid 2 iz gornjeg Stupnja 1. U nastavku je dodan kruti DMAP (522 mg, 4,27 mmol). Reakcijska smjesa je ostavljena da dostigne sobnu temperaturu i miješala se dodatnih 5 h, poslije tog je koncentrirana pri 25°C putem rotacijskog isparavanja u žuti sirup. Ostatak je otopljen u EtOAc (50 ml), razdijeljen s 1 N HCl (10 ml), čemu je slijedila neutralizacija kiseline zasićenom vodenom otopinom NaHCO₃ (10 ml). Kiselinaska vodena faza se dalje ekstrahirala s EtOAc (2 x 50 ml), i tada je podijeljena s bazičnom vodenom fazom. Spojene organske faze sušile su se preko Na₂SO₄, filtrirale kroz jedan kratki jastučić od SiO₂ i koncentrirale dobivajući 1,480 g (96%) Boc-zaštićenog estera aminokiseline 4 kao pjenu: talište 158°C (raspad); ¹H (CDCl₃) δ 0,86 (d, *J* = 7,0, 3H), 0,95 (d, *J* = 7,0, 3H), 1,35 (s, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,56 (s, 3H), 1,75 (br s, 1H), 2,08-2,19 (m, 1H), 4,20-4,24 (m, 2H), 4,30-4,37 (m, 1H), 4,56 (dd, *J* = 11,0, 5,9, 1H), 4,96 (dd, *J* = 6,2, 3,7, 1H), 5,11 (br d, *J* = 8,8, 1H), 5,29 (br d, *J* = 6,6 1H), 5,88 (br s, 2H), 6,23 (s, 1H).

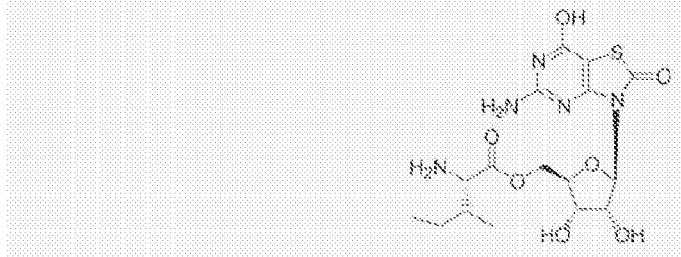
Stupanj 3: Priprema 5-amino-3-(5'-O-1-valinil-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-dion dihidroklorida (3)

35 Struja HCl plina protjerana je kroz mjehuričar od koncentrirane H₂SO₄, i u nastavku usmjerena (putem zataljene disperzijske cijevi) u Mortonovu tikvicu s tri vrata od 250 ml koja je sadržavala suhi izopropilni acetat (80 ml) pri 0°C sve dok se nije dobila zasićena otopina. Tome je dodana otopina od Boc-aminokiselinskog estera iz gornjeg Stupnja 2 (5,53 g, 9,95 mmol) u izopropilnom acetatu (30 ml), rezultirajući formiranjem bijelog krutog taloga unutar 5 min. Tome je dodan 10% (v/v) IPA (11 ml). Reakcijska smjesa se zagrijala do sobne temperature, zatim miješala 12 h. Heterogena reakcijska smjesa je razrijeđena suhim toluenom (100 ml). Filtracija, koristeći lijevak srednjih pora od sinterovanog stakla pod N₂, dala je bjelkastu amorfnu krutinu. Trituraciji te krutine u suhom THF slijedila je filtracija i vakuumsko sušenje pri 65°C, dobivajući 3,677 g (81%) naslovnog spoja 3 kao bijelu krutinu: talište 166-168°C (raspad); ¹H (DMSO-*d*₆) δ 0,90 (d, *J* = 7,0, 3H), 0,94 (d, *J* = 7,0 3H), 2,14-2,18 (m, 1H), 3,83-3,85 (m, 1H), 3,96-4,00 (m, 1H), 4,23-4,28 (m, 2H), 4,42 (dd, *J* = 11,7, 3,4, 1H), 4,75 (dd, *J* = 10,3, 5,5 1H), 5,81 (d, *J* = 4,4, 1H), 6,46 (br s, 3H), 7,23 (br s, 2H), 8,47 (s, 3H), 11,5 (br s, 1H).

45 Elementarna analiza za C₁₅H₂₁N₅O₇S • 2HCl: izračunano: C, 36,89; H, 4,75; Cl, 14,52; N, 14,34; S, 6,57; pronadeno: C, 37,03; H, 4,74; Cl, 14,26; N, 14,24; S, 6,42.

Primjer 2

5-amino-3-(5'-O-1-izoleucil-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-dion 3/2 hidroklorid (5)



Stupanj 1: Priprema 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-5'-N-terc-butoksikarbonil-1-izoleucil)-β-D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (6)

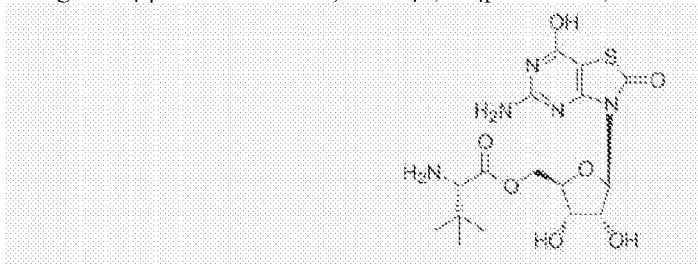
Na način sličan Stupnju 2 Primjera 1, 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-5'-N-terc-butoksikarbonil-1-izoleucil)-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-dion 6 je pripremljen s iskorištenjem od 93% iz 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-β-D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona 2 i N-terc-butoksi-1-izoleucina 7 kao bjelkasta pjena: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11,29 (s, 1H), 7,09 (d, *J* = 8,0, 1H), 7,02 (br s, 1H), 6,02 (s, 1H), 5,28 (d, *J* = 6,2, 1H), 5,06 (br s, 1H), 4,16-4,22 (m, 2H), 3,85 (dd, *J* = 8,0, 6,6, 1H), 1,68 (br s, 1H), 1,47 (s, 3H), 1,34 (s, 9H), 1,29 (s, 3H), 0,71-0,89 (m, 5H).

Stupanj 2: Priprema 5-amino-3-(5'-O-1-izoleucil-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-dion dihidroklorida (5)

Na način sličan Stupnju 3 Primjera 2, pripremljen je naslovni spoj kao bijela krutina iz gornjeg intermedijera u 80% iskorištenju: talište 173-174°C (raspad); ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11,41 (br s, 1H), 8,41 (br s, 3H), 7,15 (br s, 2H), 5,82 (d, *J* = 4,8, 1H), 4,50-5,00 (m, 2H), 4,40 (dd, *J* = 11,7, 3,3, 1H), 4,21-4,30 (m, 2H), 3,91-4,0 (m, 2H), 1,84-1,91 (m, 1H), 1,37-1,44 (m, 1H), 1,19-1,27 (m, 1H), 0,80-0,87 (m, 6H). Elementarna analiza za C₁₆H₂₃N₅O₇S • 3/2HCl: izračunano: C, 39,69; H, 5,10; N, 14,47; Cl, 10,98; S, 6,62; pronadeno C, 39,05; H, 5,13; N, 13,73; Cl, 11,08; S, 6,02.

Primjer 3

5-amino-3-(5'-O-[α-1-terc-butilglicinil]-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-dion hidroklorid (8)

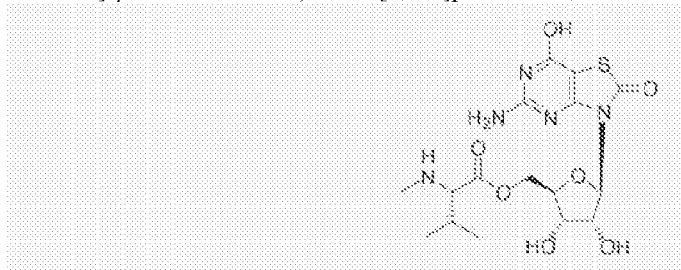


Stupanj 1: Priprema 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-5'-N-terc-butoksi-karbonil-[α-1-terc-butilglicinil]-β-D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona(9)

Na način sličan Stupnju 2 Primjera 1, 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-5'-N-terc-butoksikarbonil-[α-1-terc-butilglicinil]-β-D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-dion 10 je pripremljen s iskorištenjem 66% iz 5-amino-3-(2,3-O-izopropiliden-β-D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-d]pirimidinon-2,7-diona 2 i N-α-1-terc-butoksiglicina kao bjelkasta pjena: ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11,28 (br s, 1H), 6,70-7,40 (m, 3H), 6,02 (s, 1H), 5,30 (d, *J* = 6,2, 1H), 5,05 (br s, 1H), 4,17-4,24 (m, 3H), 3,77 (d, *J* = 8,4, 1H), 1,47 (s, 3H), 1,33 (s, 9H), 1,29 (s, 3H), 0,85 (s, 9H).

Stupanj 2: Priprema 5-amino-3-(5'-O-[α-1-terc-butilglicinil]-β-D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-diona (8)

Na način sličan Stupnju 3 primjera 1 pripremljen je naslovni spoj 8 kao bijela krutina iz gornjeg intermedijera s 80% iskorištenjem: talište 202-203°C (raspad); ¹H NMR (400 MHz, *d*₆-DMSO) δ 11,35 (br s, 1H), 8,31 (br s, 3H), 7,08 (br s, 2H), 5,83 (d, *J* = 4,0, 1H), 5,45 (br s, 1H), 5,21 (br s, 1H), 4,77-4,82 (m, 1H), 4,42 (dd, *J* = 11,4, 2,6, 1H), 4,23-4,28 (m, 1H), 3,96-4,04 (m, 1H), 3,74 (s, 1H), 0,97 (s, 9H). Elementarna analiza za C₁₆H₂₃N₅O₇S • HCl: izračunano: C, 41,25; H, 5,19; N, 15,03; Cl, 7,61; S, 6,88; pronadeno: C, 40,41; H, 5,41; N, 14,16; Cl, 7,01; S, 6,23.

Primjer 45-amino-3-(5'-O-[α -1-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2,7-dion hidroklorid (11)

Stupanj 1: Priprema 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-5'-N-*tert*-butoksi karbonil-[α -1-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2,7-diona (12)

Na način sličan Stupnju 2 Primjera 1, 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden-5'-N-*tert*-butoksikarbonil-[α -1-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2,7-dion 12 je pripremljen s iskorištenjem od 63% iz 5-amino-3-(2',3'-O-izopropiliden- β -D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2,7-diona 2 i N-*tert*-butoksi-1-N-metilvalina 13 kao bjelkasta pjena: ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) rotamerni karbamat δ 11,28 (br s, 1H), 7,00 (br s, 2H), 6,02 (s, 1H), 5,27 (d, $J = 6,6$, 1H), 5,04 (br s, 1H), 4,14-4,28 (m, 3H), 3,91 (d, $J = 9,5$, 1H), 2,79 (br s, 3H), 2,09 (br s, 1H), 1,46 (s, 3H), 1,36 (s, 4,5H), 1,32 (s, 4,5H), 1,28 (s, 3H), 0,78-0,89 (m, 6H).

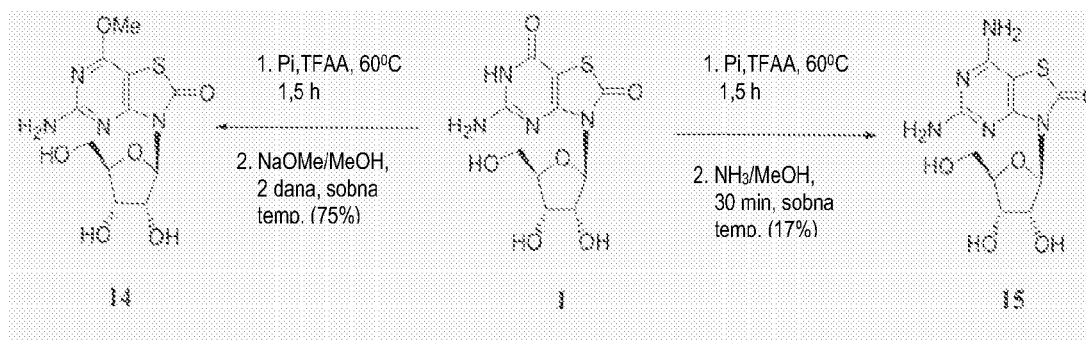
Stupanj 2: 5-amino-3-(5'-O-[α -1-N-metilvalinil]- β -D-ribofuranosil)-thiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2,7-dion-hidroklorid (11)

Na način sličan Stupnju 3 Primjera 1, pripremljen je naslovni spoj 11 kao slabo prljava bijela krutina iz gornjeg intermedijera s 60% iskorištenja: talište $>180^\circ\text{C}$ (raspad); ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 11,31 (br s, 1H), 9,05 (br s, 2H), 7,05 (br s, 2H), 5,83 (d, $J = 4,4$, 1H), 5,46 (br s, 1H), 5,21 (br s, 1H), 4,76-4,82 (m, 1H), 4,42-4,48 (m, 1H), 4,28-4,38 (m, 1H), 4,22-4,28 (m, 1H), 3,94-4,04 (m, 2H), 2,54 (br s, 3H), 2,23 (br s, 1H), 0,98 (d, $J = 7,0$, 3H), 0,88 (d, $J = 7,0$, 3H).

Elementarna analiza za $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_7\text{S} \cdot \text{HCl}$: izračunano: C, 41,25; H, 5,02; N, 15,03; S, 6,88; Cl, 7,61; pronadeno: C, 40,57; H, 5,37; N, 13,57; S, 6,16; Cl, 7,29.

Shema 2

Shema 2 prikazuje opću proceduru za pripremu 5-amino-7-metoksi-3- β -D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2,7-ona i 5,7-diamino-3- β -D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2-ona.

**Primjer 5**5-amino-3- β -D-ribofuranosil-7-metoksi-thiazolo[4,5-*d*]pirimidin-2-on (14)

Anhidrid 1 (2,0 g, 6,3 mmol) otopljen je u suhom piridinu pod atmosferom argona. Otopina se hladila do 0°C , nakon čega se smjesi kapajući dodao TFAA (13,3 g, 63 mmol). Nakon pet minuta, reakcija je smještena u uljnu kupku na 60°C tijekom 1,5 h i promatrala se pomoću TLC (SiO_2 , 20% MeOH- CHCl_3) zbog formacije piridinijevog kationa. 0,2 R_f početni materijal konvertiran je u točku osnovne linije koja je podvrgnuta plavoj fluorescenciji izlaganjem na 254 nm UV svijetlu. Nakon konverzije u aktivirani intermedijer, svježe napravljena otopina natrijevog metoksida (1,8 g Na, 78 mmol, 300 ml metanola) dodana je reakcijskoj smjesi pri 0°C . Reakcijska smjesa je ostavljena da se grije na sobnu temperaturu i razvija tijekom dva dana. Smjesa se zatim pogasila s 1M NH_4Cl (100 ml) i ekstrahirala s 25% IPA- CHCl_3 (5 x 100 ml). Sirovi se materijal filtrirao kroz čep silika gela, a zatim koncentrirao da se dobije 1,6 g (75%) naslovnog spoja 14. Analitički uzorak je dobiven preparativnom TLC (SiO_2 ; voda, metanol, etil acetat, 5:10:85) kao bijela krutina: talište $>160^\circ\text{C}$ (raspad); $[\text{M}+\text{H}]^+$ 330,9, $[\text{2M}+\text{H}]^+$ 661,1, $[\text{3M}+\text{H}]^+$ 991,0; $R_f = 0,6$ (20% MeOH- CHCl_3); talište $200,4^\circ\text{C}$ - $200,9^\circ\text{C}$; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 6,92 (s, 2H), 5,86 (d, $J = 5,2$, 1H), 5,28 (d, $J = 5,6$, 1H), 4,96 (d, $J = 5,2$, 1H), 4,78 (dd, $J = 10,8$, 5,6, 1H), 4,67 (t, $J = 6,0$, 1H), 4,07-4,10 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,70-3,80 (m, 1H), 3,55-3,60 (m, 1H), 3,40-3,45 (m, 1H).

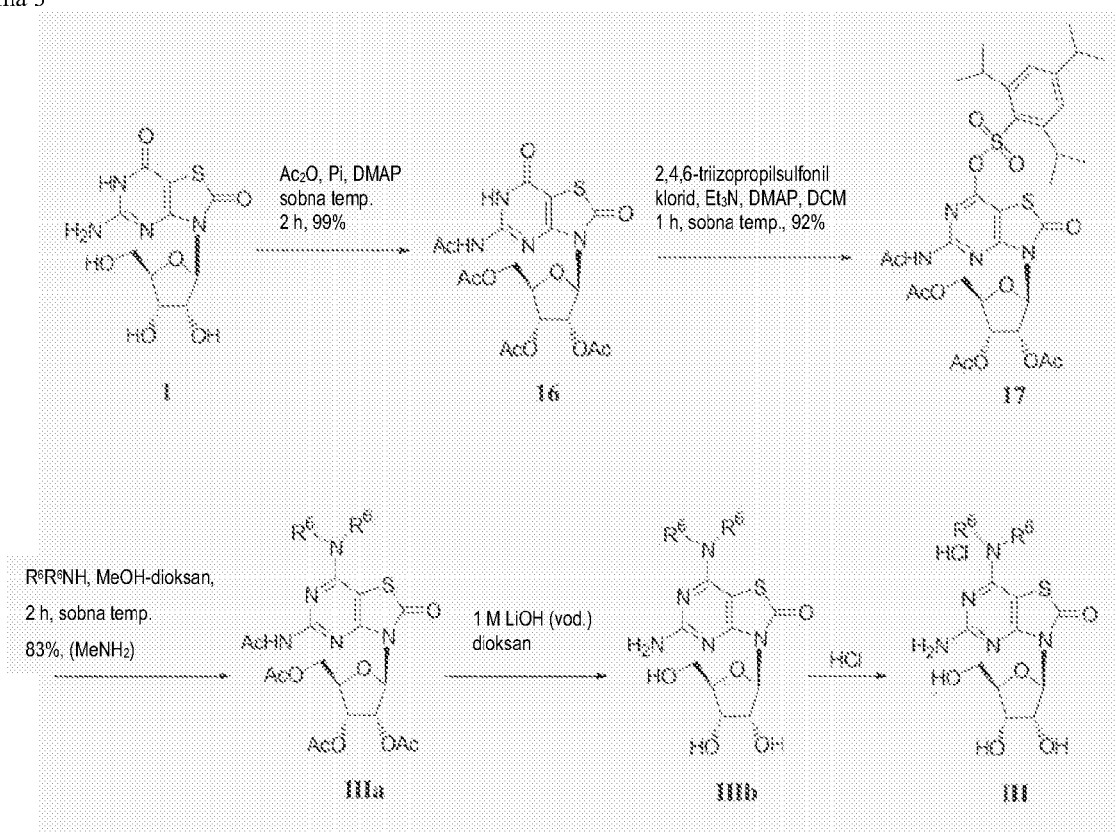
Elementarna analiza za $C_{11}H_{14}N_4O_6S$: izračunano: C, 40,00; H, 4,27; N, 16,96; S, 9,71; pronadeno: C, 40,07; H, 4,43; N, 16,71; S, 9,53.

Primjer 6

5,7-diamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7-on (15)

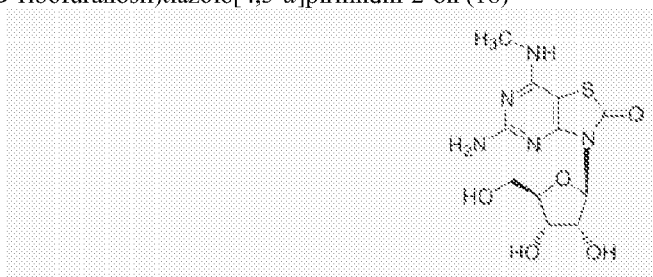
Bezvodni 1 (0,3 g, 0,9 mmol) otopljen je u suhom piridinu pod atmosferom argona. Otopina se ohladila do 0°C , nakon čega se smjesi kapajući dodao TFAA (1,2 ml, 9,5 mmol). Nakon pet minuta, reakcijska smjesa je smještena u uljnu kupku na 60°C tijekom 1,5 h i promatrala se pomoću TLC (20% MeOH- CHCl_3) zbog formacije piridinijevog kationa. Ovaj 0,2 R_f početni materijal konvertiran je u točku temeljne linije koja je podvrgnuta plavoj fluorescenciji izlaganjem UV svjetlu na 254 nm. Nakon konverzije u aktivirani intermedijer, reakcijska tikvica je stavljena u ledenu kupku. Nakon dozvoljavanja da se temperatura uravnoteži, 30% vodena otopina NH_3 (25 mL) je dodana dokapavanjem do prestanka egzotermije, i preostatak je dodan. Za nekoliko minuta nastao je produkt kako je pokazala analitička TLC R_f 0,25 (SiO_2 , 20% MeOH- CHCl_3). Tikvica se zagrijala do sobne temperature tijekom 30 minuta, zatim se vodena otopila otplinila pod rotacijskim vakuumom, zatim je ekstrahirana s 25% IPA- CHCl_3 (5 x 100 ml). Produkt je podvrgnut flash kromatografiji (SiO_2 , 10% MeOH- CHCl_3), dobivajući 55 mg (17%) slabo onečišćenog naslovnog spoja 15. Analitički uzorak je dobiven preparativnom TLC (SiO_2 ; voda-MeOH-EtOAc, 5:10:85) kao bijela krutina: talište $> 155^{\circ}\text{C}$ (raspad); $[\text{M}+\text{H}]^+$ 316,0; $R_f = 0,25$ (SiO_2 ; 20% MeOH- CHCl_3); ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 6,76 (s, 2H), 6,14 (s, 2H), 5,85 (d, $J = 5,2$, 1H), 5,22 (d, $J = 4,8$, 1H), 4,92 (d, $J = 2,8$, 1H), 4,70-4,83 (m, 2H), 4,05-4,10 (m, 1H), 3,65-3,80 (m, 1H), 3,52-3,62 (m, 1H), 3,40-3,50 (m, 1H). Elementarna analiza za $C_{10}H_{13}N_5O_5S \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$: izračunano: C, 37,03; H, 4,35; N, 21,59; S, 9,89; pronadeno: C, 37,27; H, 4,32; N, 20,43; S, 10,11.

Shema 3



Primjer 7

5-amino-7-metilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on (18)



Stupanj 1: Priprema 5-acetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2,7(6H)-diona (16)

Bezvodni 1 (8,0 g, 39,5 mmol) otopljen je u suhom piridinu (65 ml). U nastavku su dodani DMAP (3,1 g, 25,3 mmol) i anhidrid octene kiseline (19,1 ml, 202,4 mmol). Reakcija je ostavljena da napreduje tijekom 2 h pri sobnoj temperaturi, poslije toga je pogašena zasićenom NaHCO₃ (100 ml) i ekstrahirana s DCM (3 x 200 ml). Organska faza je koncentrirana, a zatim trituirana eterom. Ovo je dalo 12,5 g (103%) slabo onečišćenog 5-acetilamino-3-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)tiazolo-[4,5-d]pirimidin-2,7(6H)-diona kao bijele krutine 16: talište 246,7-248,1⁰C; R_f = 0,20 (SiO₂, 50% EtOAc-CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 12,23 (s, 1H), 11,85 (s, 1H), 5,97 (m, 2H), 5,48 (t, J = 6, 1H), 4,35-4,40 (m, 1H), 4,25-4,31 (m, 1H), 4,08-4,18 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,01 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

Stupanj 2: Priprema 5-acetilamino-7-(2,4,6-triizopropil-benzensulfoniloksi)-3-(2,3,5-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona (17)

Intermedijer iz gornjeg Stupnja 1 (500 mg, 0,98 mmol), je otopljen u DCM (15 ml) pri temperaturi okoline. Otopini su dodani DMAP (7,3 mg, 0,06 mmol) i TEA (16 ml, 11 mmol), čemu je slijedio 2,4,6-triizopropilbenzensulfonil klorid (454 mg, 1,5 mmol). Nakon 1 h reakcija je išla k završetku, sirova smjesa je koncentrirana, a zatim pročišćena flash kromatografijom (SiO₂, 10% EtOAc-CHCl₃), dajući 690 mg (92%) 5-acetilamino-7-(2,4,6-triizopropilbenzensulfoniloksi)-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona kao pjenušavu bijelu krutinu 17: talište 74,5-76,3⁰C; R_f = 0,7 (SiO₂, 20% EtOAc-CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 10,83 (s, 1H), 7,39 (s, 2H), 6,03 (d, J = 4,0 1H), 5,91-5,96 (m, 1H), 5,69 (t, J = 6,4, 1H), 4,30-4,70 (m, 1H), 4,22-4,26 (m, 1H), 4,16-4,20 (m, 1H), 3,90-4,00 (m, 2H), 2,97-3,01 (m, 1H), 2,07 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 2,04 (s, 3H), 1,88 (s, 3H), 1,17-1,25 (m, 18H).

Stupanj 3: Priprema 5-acetilamino-7-metilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona (19)

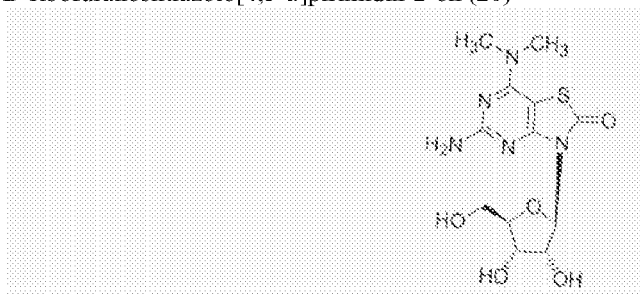
Intermedijer iz gornjeg Stupnja 2 (1,7 g, 2,27 mmol), je otopljen u dioksanu (20 ml) pri temperaturi okoline. Ovome je dodana 2,0 M otopina metilamina (3,4 ml, 6,8 mmol) u metanolu. Nakon 2 h potrošen je početni materijal. Reakcijska smjesa je koncentrirana, a zatim pročišćena flash kromatografijom (SiO₂, gradijent elucije, 20-80% EtOAc-CHCl₃) ⁺, dobivajući 945 mg (83%) čistog naslovnog spoja kao žuto ulje: [M+H]⁺ 498,2 [2M+H]⁺ 995,4; R_f = 0,55 (10% CH₃OH-CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 10,13 (s, 1H), 7,70 (d, J = 4,41, 1H), 5,95-6,02 (m, 2H), 5,69 (s, 1H), 4,35-4,39 (m, 1H), 4,16-4,23 (m, 2H), 2,90 (d, J = 4,8, 3H), 2,20 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

Stupanj 4: Priprema 5-amino-7-metilamino-3-β-D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona (18)

Intermedijer iz gornjeg Stupnja 3 (420 mg, 0,85 mmol) otopljen je u dioksanu (4 ml), a 1 M LiOH (8,5 ml, 8,5 mmol) dodan je otopini. O-acetilne skupine su odstranjene unutar 40 min, da se dobije intermedijer kod R_f = 0,15 (SiO₂, 5% MeOH-EtOAc). Nakon 2 sata N-acetil je odstranjen, kako je označeno s TLC R_f = 0,20 (SiO₂, 5% MeOH-EtOAc). Reakcijska smjesa je neutralizirana stehiometrijskom octenom kiselinom, ekstrahirana s 25% IPA-CHCl₃, a zatim koncentrirana da daje 195 mg (70%) od 18. Analitički uzorak naslovnog spoja 18 je dobiven preparativnom TLC (SiO₂, voda-MeOH-EtOAc, 10:20:70) kao bijela krutina: [M+H]⁺ 330,0; R_f = 0,20 (5% MeOH-EtOAc); talište > 108⁰C; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 7,06 (d, J = 3,6 1H), 6,24 (s, 2H), 5,85 (d, J = 5,2, 1H), 5,22 (d, J = 4,8, 1H), 4,93 (d, J = 5,2, 1H), 4,70-4,80 (m, 2H), 4,07 (d, J = 4,8, 1H), 3,75 (d, J = 4,4, 1H), 3,5-3,6 (m, 1H), 3,40-3,50 (m, 1H), 2,82 (d, J = 4,4, 3H).

Primjer 8

5-amino-7-dimetilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on (20)



Stupanj 1: Priprema 5-acetilamino-7-dimetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona

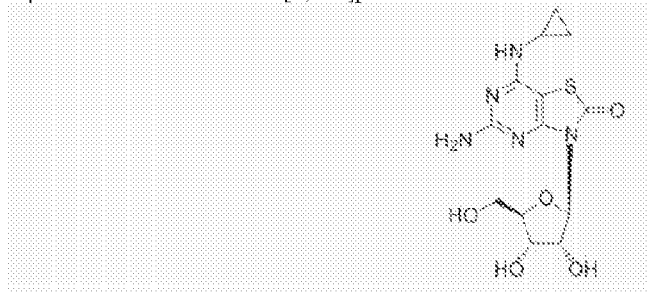
Na način sličan Primjeru 7, Stupnju 2, 5-acetilamino-7-dimetilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on je generiran s 80% iskorištenjem kao žuto ulje: M⁺ 511,14; R_f = 0,70 (SiO₂, 10% MeOH-CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 10,15 (s, 1H), 6,10-6,15 (m, 1H), 5,98-6,09 (m, 1H), 5,66-5,70 (m, 1H), 4,35-4,40 (m, 1H), 4,22-4,27 (m, 1H), 4,14-4,08 (m, 1H), 3,18 (s, 6H), 2,19 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,99 (s, 3H).

Stupanj 2: Priprema 5-amino-7-dimetilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona (20)

Na način sličan Primjeru 7, Stupnju 3, naslovni spoj 20 je generiran s 82% iskorištenjem. Analitički uzorak je dobiven preparativnom TLC (SiO₂; voda-MeOH-EtOAc, 10:20:70) kao bijela krutina: [M+H]⁺ 344,0; [2M+H]⁺ 687,4; talište > 112 °C R_f = 0,20 (5% MeOH-EtOAc); ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 6,27 (s, 2H), 5,91 (d, J = 4,8, 1H), 5,22 (d, J = 6,0, 1H), 4,93 (d, J = 5,2, 1H), 4,71-4,76 (m, 2H), 4,07-4,09 (m, 1H), 3,7-3,8 (m, 1H), 3,5-3,6 (m, 1H), 3,5-3,6 (m, 1H), 3,09 (s, 6H). Elementarna analiza za C₁₂H₁₇N₅O₅S: izračunano: C, 41,98; H, 4,99; N, 20,40; pronadeno: C, 41,32; H, 5,14; N, 18,59.

Primjer 9

5-amino-7-ciklopropilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on monohidrokloridna sol (21)

**Stupanj 1: Priprema 5-acetilamino-7-ciklopropilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona**

Na način sličan Primjeru 3, Stupnju 2, 5-acetilamino-7-ciklopropilamino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on je generiran s 80% iskorištenjem kao žuto ulje: R_f = 0,45 (SiO₂, 75% EtOAc-CHCl₃); ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 10,11 (s, 1H), 7,87 (d, J = 2,8, 1H), 5,98-6,01 (m, 1H), 5,70-5,76 (s, 1H), 4,32-4,39 (m, 1H), 4,16-4,30 (m, 2H), 3,85 (s, 1H), 2,87 (s, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,07 (s, 3H), 2,06 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 0,73-0,76 (m, 2H), 0,57-0,60 (m, 2H).

Stupanj 2: Priprema 5-amino-7-ciklopropilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona

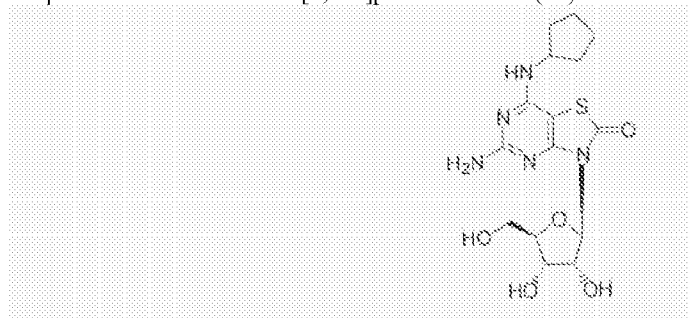
Na način sličan Primjeru 7, Stupnju 3, 5-amino-7-ciklopropilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on je generiran sa 79% iskorištenjem. Analitički uzorak je dobiven preparativnom TLC (SiO₂; voda-MeOH-EtOAc, 10:20:70) kao bijela krutina: R_f = 0,20 (5% MeOH-EtOAc); talište > 100 °C; [M+H]⁺ 356,0; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 7,24 (s, 1H), 6,28 (s, 2H), 5,86 (d, J = 5,6, 1H), 5,22 (d, J = 6, 1H), 4,92 (d, J = 5,2, 1H), 4,70-4,80 (m, 2H), 4,05-4,10 (m, 1H), 3,7-3,8 (m, 1H), 3,5-3,6 (m, 1H), 3,45-3,50 (m, 1H), 2,8 (s, 1H), 0,68-0,70 (m, 2H), 0,54-0,57 (m, 2H).

Stupanj 3: Priprema 5-amino-7-ciklopropilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on hidrokloridne soli (21)

Naslovni spoj je pripremljen dodavanjem krute tvari pripremljene u gornjem Stupnju 2 uz snažno miješanje 4 M HCl u dioksanu, dobivajući naslovni spoj kao bijelu krutinu: talište > 99 °C; ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 7,25 (d, 1H, J = 2,8, 1H), 6,23 (s, 2H), 5,87 (d, J = 5,2, 1H), 5,21 (bs, 1H), 4,98 (bs 1H), 4,73-4,79 (m, 2H), 4,09 (t, J = 5,6, 1H), 3,72-3,79 (m, 1H), 3,55-3,60 (m, 1H), 3,45-3,37 (m, 1H), 2,75-2,82 (m, 1H), 0,72-0,79 (m, 2H), 0,55-0,63 (m, 2H). Elementarna analiza za C₁₃H₁₇N₅O₅S • HCl: izračunano: C, 39,85; H, 4,63; N, 17,87; Cl, 9,05; pronadeno: C, 39,66; H, 4,85; N, 16,57; Cl, 8,13.

Primjer 10

5-amino-7-ciklopentilamino-3-β-D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on (22)

**Stupanj 1: Priprema 5-acetilamino-7-pirolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona**

Na način sličan Primjeru 7, Stupnju 2, 5-acetilamino-7-pirolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil-β-D-ribofuranosil)-tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on je generiran sa 70% iskorištenjem. Analitički uzorak je dobiven preparativnom TLC (SiO₂; voda-MeOH-EtOAc, 10:20:70) kao bijela krutina: talište > 108 °C (raspad); R_f = 0,80 (10% voda i 20% metanol u etil

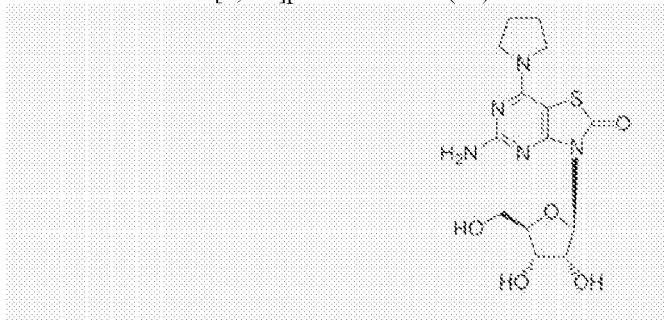
acetatu); $[M+H]^+$ 384,0; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 7,00 (d, $J = 7,2$, 1H), 6,17 (s, 2H), 5,18 (d, $J = 5,2$, 1H), 5,21 (d, $J = 5,6$, 1H), 4,92 (d, $J = 5,6$, 1H), 4,74-4,80 (m, 2H), 4,30-4,35 (m, 1H), 4,05-4,10 (m, 1H), 3,70-3,80 (m, 1H), 3,55-3,60 (m, 1H), 3,30-3,45 (m, 1H), 1,40-2,0 (m, 8H).

5 *Stupanj 2: Priprema 5-amino-7-ciklopentilamino-3- β -D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona*

Na način sličan Primjeru 7, Stupnju 3, naslovni spoj 22 je generiran sa 70% iskorištenjem. Analitički uzorak je dobiven preparativnom TLC (SiO_2 ; voda-MeOH-EtOAc, 10:20:70) kao bijela krutina: talište $> 108^\circ\text{C}$ (raspad); $R_f = 0,80$ (10% voda i 20% metanola u etil acetatu); $[M+H]^+$ 384,0; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 7,00 (d, $J = 7,2$, 1H), 6,17 (s, 2H), 5,18 (d, $J = 5,2$, 1H), 5,21 (d, $J = 5,6$, 1H), 4,92 (d, $J = 5,6$, 1H), 4,74-4,80 (m, 2H), 4,30-4,35 (m, 1H), 4,05-4,10 (m, 1H), 3,70-3,80 (m, 1H), 3,55-3,60 (m, 1H), 3,30-3,45 (m, 1H), 1,40-2,0 (m, 8H).

Primjer 11

5-amino-7-pirolidino-3- β -D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on (23)

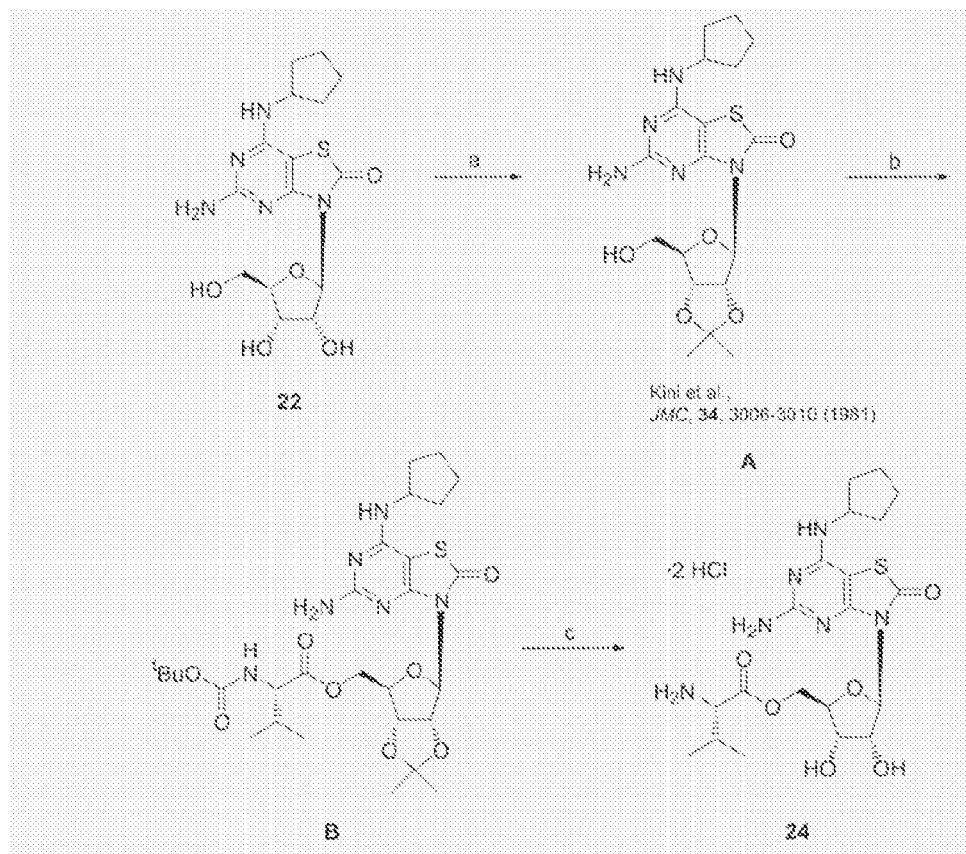


15 *Stupanj 1: Priprema 5-acetilamino-7-pirolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona*
Na način sličan Primjeru 7, Stupnju 2, 5-acetilamino-7-pirolidino-3-(2',3',5'-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosil)tiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on je generiran sa 79% iskorištenjem kao žuto ulje: $[M+H]^+$ 538,1; $R_f = 0,80$ (SiO_2 , voda-MeOH-EtOAc, 10:20:70); ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 10,04 (s, 1H), 5,97-6,02 (m, 2H), 5,68 (s, 1H), 4,38 (dd, $J = 11,6$, 3,6, 1H), 4,15-4,23 (m, 2H), 3,58 (s, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,08 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,89 (s, 4H).

20 *Stupanj 2: Priprema 5-amino-7-pirolidino-3- β -D-ribofuranosiltiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona*

Na način sličan Primjeru 7, Stupnju 3, naslovni spoj 23 je generiran sa 81% iskorištenjem. Analitički uzorak je dobiven preparativnom TLC (SiO_2 ; voda-MeOH-EtOAc, 10:20:70) kao bijela krutina: talište $> 112,4^\circ\text{C}$ (raspad); $[M+H]^+$ 370,3; ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 6,22 (s, 2H), 5,90 (d, $J = 4,8$, 1H), 5,23 (d, $J = 5,2$, 1H), 4,94 (d, $J = 4,4$, 1H), 4,68-4,75 (m, 2H), 4,08 (d, $J = 4,8$, 1H), 3,71-3,76 (m, 1H), 3,55 (bs, 5H), 3,38-3,54 (m, 1H), 1,87 (s, 4H).

Shema 4



- a) 2,2-dimetoksiopropan, aceton, DMSO, MeSO₃H, 0°C
 b) BOC-1-valin, EDC, DMAP, PhMe, 0°C, sobna temp.
 c) bezvodni HCl, iPrOAc, iPrOH

Primjer 12

5-amino-7-ciklopentilamino-3-(5'-O-1-valinil)-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on hidroklorid (24)

Uz snažno miješanje intermedijer B je otopljen u otopini bezvodnog vodikovog klorida u izopropil acetatu pri 0°C i ostavljen je da se ugrije na sobnu temperaturu. Heterogenoj smjesi se dodalo dodatni izopropil acetat. Reakcijska se smjesa miješala dodatnih 12 h. Dodan je toluen i produkt se filtrirao i osušio pod vakuumom da se dobije željena di-HCl sol 24.

Intermedijeri su pripremljeni kako slijedi:

5-amino-7-ciklopentilamino-3-(2',3'-O-izopropiliden-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on (A)

Spoj A je pripremljen u skladu s postupkom od Kini et., al miješanjem smjese 5-amino-7-ciklopentilamino-3-β-D-ribofuranosilthiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona 22 s acetonom, DMSO, metansulfonskom kiselinom i suviškom od dimetoksiopropana pri 0°C sve dok se početna tvar nije potrošila. Reakcijska smjesa je dodana ledenoj vodi i neutralizirana do pH 7 zasićenom NaHCO₃ i ekstrahirana s EtOAc. Organski sloj se koncentrirao i podvrgnuo kromatografiji na koloni na silicijevom dioksidu dajući 2',3'-zaštićeni diolni produkt.

5-amino-7-ciklopentilamino-3-(5'-O-(N-(terc-butoksikarbonil)-1-valinil)-2',3'-O-izopropiliden-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2-on (B)

Otopini od 1,0 ekvivalenata od N-(terc-butoksikarbonil)-1-valina u THF pri 0°C dodano je 1,1 ekvivalenata od EDC. Nakon miješanja tijekom 30 minuta dodano je 1,0 ekvivalenata od 5-amino-7-ciklopentil-3-(2',3'-O-izopropiliden-β-D-ribofuranosil)thiazolo[4,5-d]pirimidin-2-ona A i 1,5 ekvivalenata DMAP. Reakcijska smjesa se zagrijala do sobne temperature i ostavljena je da se miješa tijekom 5 h i koncentrira. Ostatak je otopljen u EtOAc, razdijeljen s 1 N HCl i neutraliziran zasićenom vodenom otopinom NaHCO₃ (10 ml). Vodena faza je dalje ekstrahirana s EtOAc. Kombinirane organske faze su osušene preko Na₂SO₄, filtrirane i isparene pod vakuumom da daju intermedijer B koji je pročišćen kromatografijom na koloni na silicijevom dioksidu.

BIOLOŠKO TESTIRANJE

Sposobnost spojeva Formule I da demonstriraju povoljne karakteristike oralnog davanja i da induciraju imuno odgovore kada se daju odabranim putem, se lako demonstrirala eksperimentima s miševima i psima brakircima. Rezultati takvih mjerenja za spojeve Formule I mogu se uspoređivati s rezultatima sličnih eksperimenata sa spojevima opisanim u referentnoj literaturi u predmetnom otkriću (na pr. U.S. patentima 5,041,426 i 4,880,784) da pokazuju prednosti spojeva Formule I s obzirom na farmakokinetička i farmakodinamička svojstva.

Koncentracije Interferona Alfa (Mu-IFN- α) u miševima

Normalni miš daje koristan sistem za procjenu stupnja do kojeg izumi koji su ovdje opisani, daju materijalno poboljšanje u oralnom davanju 1 (izatoribin). Nitko ne može izmjeriti koncentraciju izatoribina u plazmi, koja proizlazi iz oralnog davanja navedenog (ih) lijeka(ova), nego je samo opsežno imunološko istraživanje provedeno u miševima dalo reagense koji su prikladni za mjerenje razina interferona alfa, citokina od interesa koji odražava jednu od željenih bioloških aktivnosti izatoribina.

Mi smo upotrijebili mišeje sisteme u nizu eksperimenata koji demonstriraju da 3, ester 5'-valina od 1 (val-izatoribin) izaziva odgovor interferona u biti poboljšan iznad onoga koji rezultira iz davanja samog izatoribina.

Tablica 1 bilježi rezultate ispitivanja za mišji interferon alfa u plazmi miša, koji su dozirani dva puta s izatoribinom, formuliranim u bikarbonatu, pri razini od 50 mg/kg oralnim putem. Evidentno je da nikakav interferon nije bio mjerljiv, čak kada se doza ponavljala nakon intervala od četiri sata.

Tablica 1

Koncentracija interferona alfa u plazmi (pg/ml) (Interferon Alpha (Mu-IFN- α)) u miševa nakon dvije oralne doze od 50 mg/kg izatoribina, odvojene za 4 sata

Vrijeme, h	Pojedinačna vrijednost			Srednje	SD
Prva doza					
0,00	BQL ⁵⁰	BQL ¹²⁵	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
0,03	BQL ²⁵	BQL ²⁵⁰	BQL ²⁵	0,00	0,00
0,08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
0,25	BQL ⁵⁰	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
0,50	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
1,00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
1,50	BQL ¹⁰⁰	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
2,00	BQL ²⁵	BQL ⁷⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
3,00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
Druga doza					
4,03	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,25	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,50	BQL ⁵⁰	BQL ^{37,5}	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
5,00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
5,50	BQL ^{37,5}	BQL ^{37,5}	BQL ^{37,5}	0,00	0,00
6,00	BQL ⁵⁰	BQL ^{41,3}	BQL ^{37,5}	0,00	0,00
7,00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
8,00	BQL ⁵⁰	BQL ²⁵	BQL ⁵⁰	0,00	0,00

BQLⁿ - Ispod povišene mjerljive granice (Below Elevated Quantifiable Limit) < n pg/ml)

Tablica 2 bilježi rezultate ispitivanja za mišji interferon alfa u plazmi miša, koji su najprije dozirani s bikarbonatom, a zatim četiri sata kasnije, dozirani oralno s izatoribinom, formuliranim u bikarbonatu, pri razini od 50 mg/kg oralnim putem. Za interferon se izvještavalo u plazmi iz četiri miša, uključujući dva koji su primili dozu bikarbonatnog nosioca. Sve doze o kojima se izvještavalo u ovom eksperimentu, su bile niske, a za razine interferona o kojima se izvještavalo, nije konzistentno izvještavano za sva tri miša ispitana u svakoj vremenskoj točki, sugerirajući da bi ovi signali mogli biti artefakti koji su proizašli iz mjerenja blizu donjih granica ispitivanja.

Tablica 2

Koncentracija interferona alfa u plazmi (pg/ml) (Interferon Alpha (Mu-IFN- α) Plasma Concentration) kod miševa nakon jedne doze nosioca i jedne doze od 50 mg/kg izatoribina, 4 sata kasnije

Vrijeme, h	Pojedinačna vrijednost			Srednje	SD
Prva doza					
0,00	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	BQL ^{62,5}	0,00	0,00
0,03	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ^{37,5}	0,00	0,00
0,08	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
0,25	BQL ⁵⁰	BQL ^{62,5}	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
0,50	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
1,00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	0,00	0,00
1,50	BQL ⁵⁰	BQL ¹⁰⁰	BQL ⁵⁰	0,00	0,00
2,00	34,9	BQL ²⁵	BQL ²⁵	11,6	20,15
3,00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,00	BQL ²⁵	35,4	BQL ¹⁰⁰	11,8	20,44
Druga doza					
4,03	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,08	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,25	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
4,50	BQL ¹⁰⁰	BQL ²⁵	133,2	44,4	76,90
5,00	74,9	BQL ⁵⁰	NR	37,5	52,96
5,50	BQL ²⁵⁰	BQL ⁷⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
6,00	BQL ²⁵	BQL ⁷⁵	BQL ⁷⁵	0,00	0,00
7,00	BQL ⁵⁰	BQL ⁵⁰	BQL ²⁵	0,00	0,00
8,00	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00

BQLⁿ - Ispod povišene mjerljive granice (Below the Elevated Quantifiable Limit) < n pg/ml)

NR - Ne može se izvjestiti (Not Reportable).

Tablica 3 bilježi rezultate ispitivanja za mišji interferon alfa u plazmi miševa, koji su dozirani oralno s val-izatoribinom, otopljenim u bikarbonatu, kod doze koja je ekvivalentna 50 mg/kg izatoribina na molarnoj osnovi. Evidentno je da je interferon bio lako mjerljiv nakon 1,0 sata, 1,5 sata, i 2,0 sata nakon doziranja. Interferon je utvrđen u svim miševima u zadanoj vremenskoj točki, indicirajući pouzdanost učinka koji je slijedio davanju val-izatoribina. Tako je jedno davanje val-izatoribina bilo superiornije nad oboje, bilo jednoj dozi ili ponovljenoj dozi izatoribina.

Tablica 3

Koncentracija interferona alfa u plazmi (pg/ml) (Plasma Concentration of Interferon Alpha (Mu-IFN- α)) kod miševa nakon jedne doze od 73,0 mg/kg val-izatoribina

Vrijeme, h	Pojedinačna vrijednost			Srednje	SD
0,00	BQL	BQL ¹²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00
0,25	BQL	BQL	BQL	0,00	0,00
0,50	BQL ²⁵	BQL ²⁵	BQL	0,00	0,00
0,75	BQL	BQL	BQL ²⁵	0,00	0,00
1,00	173,2	125,1	89,0	129,1	42,24
1,50	202,9	145,9	294,8	214,5	75,13
2,00	49,2	137,9	138,3	108,5	51,33
3,00	BQL ²⁵	NR	NR	0,00	0,00
4,00	BQL ²⁵	27,6	BQL	9,20	15,90
5,00	BQL	BQL ²⁵	BQL ²⁵	0,00	0,00

BQL - Ispod mjerljive granice (Below the Quantifiable Limit) < 12,5 pg/ml)

BQLⁿ - Ispod povišene mjerljive granice (Below the Elevated Quantifiable Limit) < n pg/ml)
 NR - Ne može se izvjestiti (Not Reportable).

- 5 Tabelirani podaci u Tablicama 1, 2 i 3 mogu se također razmatrati s gledišta incidencije mjerljivih razina interferona. Interferom je detektiran u plazmi od samo 4 od 114 miševa korištenih u studijama izatoribina, dok je nasuprot 10 od 30 miševa doziranih s val-izatoribinom imalo interferon u njihovoj plazmi koji se mogao detektirati. Prema tome, prolijeck je povećao omjer miševa koji su iskazali interferonsku reakciju od 4% do 30%, a veličina i od prosječnog i maksimalnog odgovora je dvostruko povećana.
- 10 U drugim eksperimentima, razine izatoribina i interferona alfa u plazmi su se mjerile u miševima koji su dozirani s izatoribinom intravenoznim putem, i ove su se razine usporedile s razinama izatoribina i interferona alfa koje su proizišle nakon oralnog davanja val-izatoribina. Ovi su podaci rezimirani na Slici 1. Na ovoj slici evidentno je da su razine interferona alfa, inducirane oralnim val-izatoribinom ("val-isator") (kod molarog ekvivalenta od 50 mg/kg izatoribina) bile slične onima iz intravenoznog izatoribina ("isator") kod 25 mg/kg. Na taj način, oralni val-izatoribin
- 15 daje razine izatoribina i interferona koje su približno 50% od onih koje su opažene nakon intravenoznog davanja samog izatoribina.

Pas brakirac

- 20 Istraživao se učinak prolijecka (val-izatoribina 3) na sistemsko izlaganje na izatoribin (1) na psima brakircima nakon oralnog davanja. Izatoribin je pripremljen u otopini natrijevog bikarbonata. Val-izatoribin i izatoribin su pripremljeni kao slijedeće formulacije, koje su izabrane da osiguraju topivost:
 Formulacija 1: Izatoribin u otopini natrijevog bikarbonata, 1 i 4 mg/ml.
 Formulacija 2: Val-izatoribin u fiziološkoj otopini puferiranoj fosfatom, 1,62 i 6,48 mg/ml, ekvivalent za 1 do 4 mg/ml
- 25 izatoribina na molarnoj bazi.

- Četiri odrasla mužjaka i četiri ženke pasa brakiraca, koji su težili između 15 i 27 kg i približno bili stari 1-2 godine, korišteni su na početku izučavanja. Životinje su podijeljene u 2 skupine, svaku od po 2 mužjaka i 2 ženke. Materijal za testiranje se davao gavažom (gavage) na Dane 1 i 8, ostavljajući 7-dnevni period ispiranja između davanja. Uzorci krvi
- 30 (2 ml) su se sakupljali u litijevu heparinsku epruvetu iz svake životinje prije doziranja, 15, 30 minuta, 1, 2, 3, 4, 6, 8 i 10 sati nakon svakog doziranja. Plazma je zamrznuta na -70°C do analize. Plazma je analizirana na izatoribin pomoću HPLC-MS/MS određivanja.

- Farmakokinetički parametri za izatoribin koji su proizišli iz izatoribina ili val-izatoribina u svakom psu su rezimirani u
- 35 Tablicama 4 i 5. Omjeri za ključne farmakokinetičke parametre koji određuju maksimalnu koncentraciju (C_{max}) i ukupnu izloženost, mjereni pomoću površine pod krivuljom vrijeme-koncentracija (Area Under the time-concentration curve, AUC) za prolijeck i bikarbonatnu otopinu kod doze od 50 mg/kg, rezimirani su u Tablici 6. Za prolijeck 3, omjer C_{max} je bio 2,98±0,695, a omjer AUC je bio 2,38±0,485. Ovi rezultati indiciraju da kod doze od 50 mg/kg je prolijeck val-izatoribin dao u biti višu C_{max} i veću bioraspoloživost od izatoribina u bikarbonatnoj otopini.

- 40 Omjeri za C_{max} i AUC za prolijeck u bikarbonatnoj otopini za dozu od 10 mg/kg rezimirani su u Tablici 7. Za prolijeck, omjer C_{max} je bio 2,4±0,249, a omjer AUC je bio 1,82±0,529. Ovi rezultati indiciraju da je kod doze od 10 mg/kg, prolijeck val-izatoribin dao višu C_{max} i veću bioraspoloživost od izatoribina u bikarbonatnoj otopini.

- 45 Tako su maksimalne koncentracije izatoribina postignute nakon oralnog doziranja barem udvostručene, a sistemska izloženost (ekspozicija) na izatoribin povećana za približno 2 puta nakon oralnog davanja prolijecka val-izatoribina u usporedbi sa samim izatoribinom, pri obim dozama od 10 i 50 mg/kg.

Tablica 4

Farmakokinetički parametri izatoribina u psima doziranim s 50 mg/kg

	Period doziranja		1	2
	Formulacija		Izatoribin	Val-izatoribin
Broj životinje	Doza, mg/kg molarnog ekvivalenta izatoribina		50	50
Pas 3517322	Cmax, ng/ml		3038,7	11741,5
	Tmax, h		0,50	0,50
	AUC (0-inf), ng·h/ml		15227,0	33038,1
	T _{1/2} , h		6,4	2,4
Pas 3521451	Cmax, ng/ml		3354,0	10652,1
	Tmax, h		1,00	1,00
	AUC (0-inf), ng·h/ml		9422,2	26552,7
	T _{1/2} , h		1,9	1,6
Pas 3528707	Cmax, ng/ml		8915,3	20340,6
	Tmax, h		0,50	0,50
	AUC (0-inf), ng·h/ml		29701,7	53273,0
	T _{1/2} , h		2,2	2,3
Pas 3532828	Cmax, ng/ml		6134,7	15987,9
	Tmax, h		0,50	0,50
	AUC (0-inf), ng·h/ml		12069,7	32987,0
	T _{1/2} , h		1,4	1,6

5 Tablica 5

Farmakokinetički parametri izatoribina u psima doziranim s 10 mg/kg

	Period doziranja		1	2
	Formulacija		Izatoribin	Val-izatoribin
Broj životinje	Doza, mg/kg molarnog ekvivalenta izatoribina		10	10
Pas 3524523	Cmax, ng/ml		4091,5	8594,6
	Tmax, h		1,00	0,50
	AUC (0-inf), ng·h/ml		13305,8	17166,2
	T _{1/2} , h		2,1	1,7
Pas 3526402	Cmax, ng/ml		1859,5	4047,0
	Tmax, h		1,00	1,00
	AUC (0-inf), ng·h/ml		5774,4	10548,9
	T _{1/2} , h		1,6	2,2
Pas 357450	Cmax, ng/ml		1620,3	4228,7
	Tmax, h		0,50	1,00
	AUC (0-inf), ng·h/ml		4387,3	11158,0
	T _{1/2} , h		1,5	2,3
Pas 354708	Cmax, ng/ml		2781,2	5784,8
	Tmax, h		0,50	0,50
	AUC (0-inf), ng·h/ml		7522,1	12259,1
	T _{1/2} , h		1,6	2,0

Tablica 6

Omjer farmakokinetičkih parametara izatoribina u psima doziranim s 50 mg/kg

Broj životinje	Formulacija	Izatoribin	Val-izatoribin
Pas 3517322	Omjer C _{max}	1,00	3,86
	Omjer AUC	1,00	2,17
Pas 3521451	Omjer C _{max}	1,00	3,18
	Omjer AUC	1,00	2,82
Pas 3528707	Omjer C _{max}	1,00	2,28
	Omjer AUC	1,00	1,79
Pas 3532828	Omjer C _{max}	1,00	2,61
	Omjer AUC	1,00	2,73
Srednji omjer C _{max}		N/A	2,98
Omjer SD C _{max}		N/A	0,695
Srednji omjer AUC		N/A	2,38
Omjer SD AUC		N/A	0,485

5 Tablica 7

Omjeri farmakokinetičkih parametara izatoribina u psima doziranim s 10 mg/kg

Broj životinje	Formulacija	Izatoribin	Val-izatoribin
Pas 3524523	Omjer C _{max}	1,00	2,10
	Omjer AUC	1,00	1,29
Pas 3526402	Omjer C _{max}	1,00	2,18
	Omjer AUC	1,00	2,20
Pas 3527450	Omjer C _{max}	1,00	2,61
	Omjer AUC	1,00	2,54
Pas 355708	Omjer C _{max}	1,00	2,08
	Omjer AUC	1,00	1,63
Srednji omjer C _{max}		N/A	2,24
Omjer SD C _{max}		N/A	0,249
Srednji omjer AUC		N/A	1,82
Omjer SD AUC		N/A	0,529

Prolijek je pogodan iz nekoliko razloga. Prvo, prolijek se lako formulira da daje visoki omjer aktivnog agensa. Ovo rezultira malim veličinama kapsula za zadanu dozu, što je prednost za oralni produkt. Drugo, prolijekovi nude mogućnost maskiranja aktivne strukture, budući da agens prolazi kroz limfoidno tkivo koje oblaže crijevo, što bi trebalo minimizirati aktiviranje ovog tkiva i time poboljšati oralnu podnošljivost. Konačno, kod testiranih doza, val-izatoribin daje koncentracije izatoribina u plazmi koje su sasvim unutar željenog opsega za biološki učinak nakon oralnog davanja, što nije slučaj za sam izatoribin.

Gore opisani spojevi iz primjera mogu se formulirati u farmaceutskim sastavima u skladu sa slijedećim općim primjerima:

Primjer 1: Parenteralni sastav

Za pripremu parenteralnog farmaceutskog sastava prikladnog za davanje injektiranjem, 100 mg u vodi topive soli spoja Formule I, otopi se u DMSO i zatim miješa s 10 ml 0,9% sterilne fiziološke otopine. Smjesa se inkorporira u oblik jedinice doziranja koji je prikladan za davanje injektiranjem.

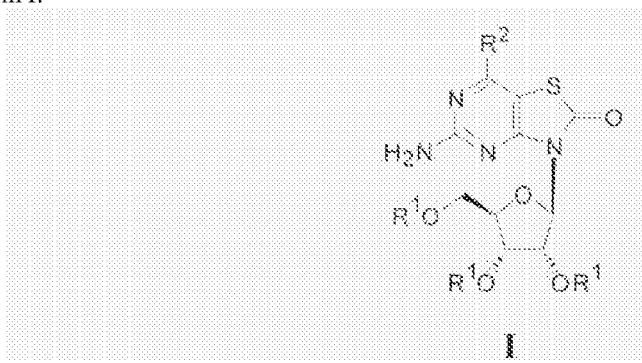
Primjer 2: Oralni sastav

Za pripremu farmaceutskog sastava za oralno davanje, miješa se 100 mg spoja Formule I, sa 750 mg laktoze. Smjesa se inkorporira u oblik jedinice oralnog doziranja, kao što je tvrda želatinska kapsula, koji je prikladan za oralno davanje.

Podrazumijeva se da je prethodni opis radi primjera i po prirodi radi objašnjenja, i da je namijenjen da ilustrira izum i njegove pogodne izvedbe. Putem rutinskog eksperimentiranja, stručnjak će prepoznati očite modifikacije i varijacije koje se mogu učiniti bez odstupanja od duha izuma. Tako je izum namijenjen da ne bude definiran gornjim opisom, nego da bude definiran slijedećim patentnim zahtjevima i njihovim ekvivalentima.

PATENTNI ZAHTEJEVI

1. Spoj predstavljen Formulom I:



naznačen time, da u njemu:

R^1 je nezavisno H, $-C(O)R^3$ ili jedna racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^3 supstituirani ili nesupstituirani alkil, a R^4 je H ili supstituirani ili nesupstituirani alkil;

R^2 je H, OR^5 , ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^5 nezavisno H ili alkil i u čemu je R^6 nezavisno H, supstituirani ili nesupstituirani alkil, cikloalkil, ili zajedno s dušikom formira supstituirani ili nesupstituirani heterocikloalkilni prsten; i

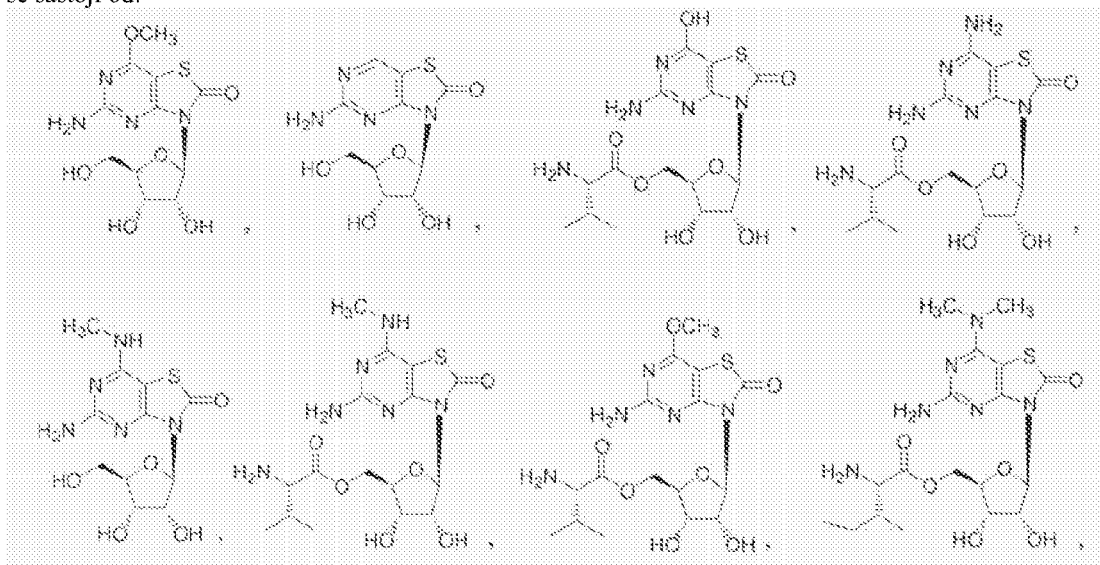
u čemu ako R^2 je $-OH$, barem jedna od R^1 skupina jest racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$.

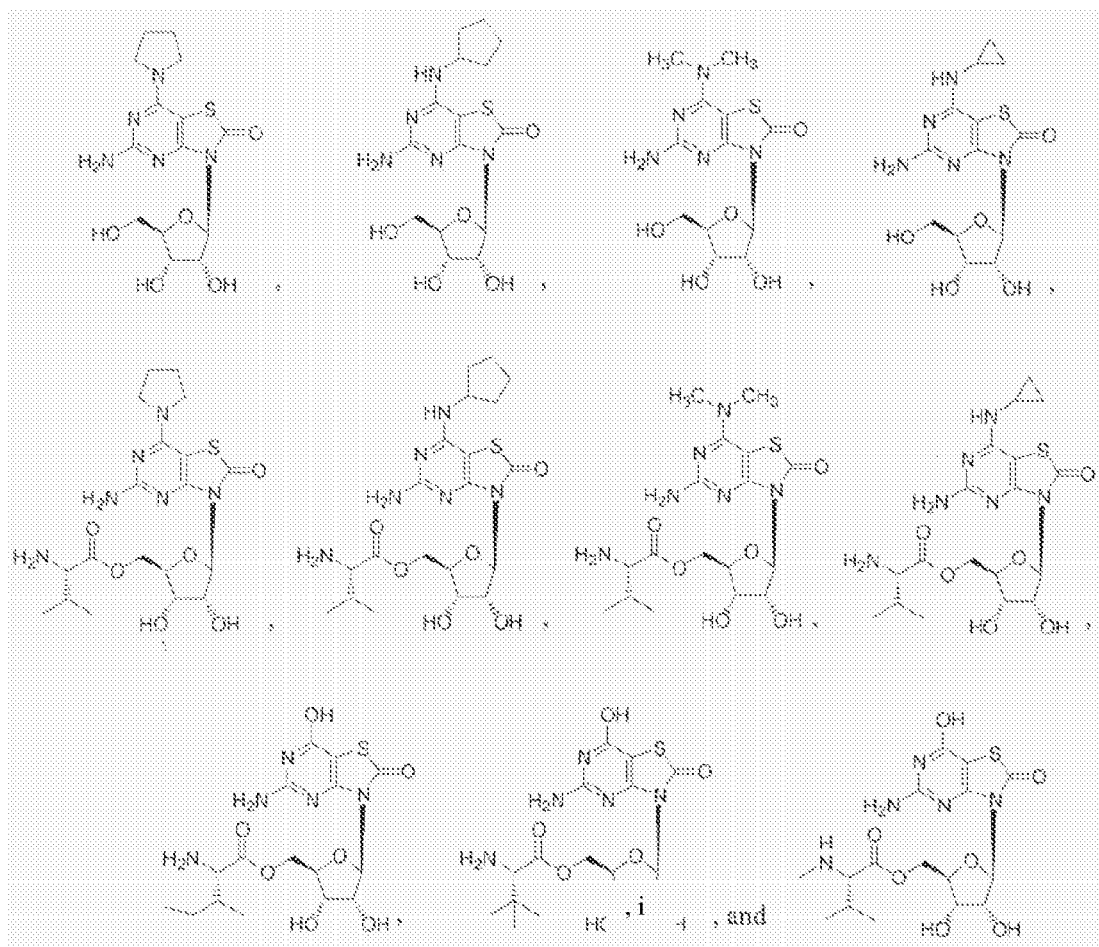
ili je jedna farmaceutski prihvatljiva sol.

2. Spoj ili farmaceutski prihvatljiva sol u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačeni time**, da je barem jedna od R^1 skupina racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^4 supstituirani ili nesupstituirani alkil, i u čemu su preostale R^1 skupine H; R^2 je OR^5 , ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^5 nezavisno odabran od H ili alkila, i u čemu je R^6 nezavisno H, supstituirani ili nesupstituirani alkil, cikloalkil, ili zajedno s dušikom formira supstituirani ili nesupstituirani heterocikloalkilni prsten.

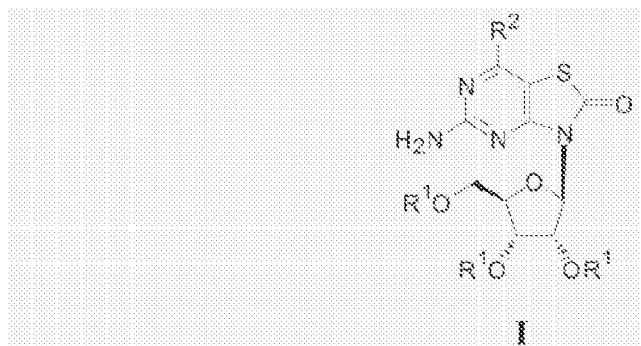
3. Spoj ili farmaceutski prihvatljiva sol u skladu s patentnim zahtjevom 2, **naznačeni time**, da je barem jedna od R^1 skupina L- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^4 supstituirani ili nesupstituirani alkil, i u čemu su preostale R^1 skupine H; R^2 je OR^5 ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^4 supstituirani alkil, i u čemu je R^6 nezavisno H ili supstituirani ili nesupstituirani alkil.

4. Spoj ili farmaceutski prihvatljiva sol u skladu s patentnim zahtjevom 3, **naznačeni time**, da je barem jedna od R^1 skupina L- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu R^4 je $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ i u čemu su preostale R^1 skupine H; a R^2 je OH.
5. Spoj ili farmaceutski prihvatljiva sol u skladu s patentnim zahtjevom 1, **naznačeni time**, da su odabrani iz skupine koja se sastoji od:





6. Farmaceutski sastav koji sadrži farmaceutski prihvatljivi nosilac i spoj predstavljen Formulom I:



naznačen time, da u njemu:

R^1 je nezavisno H, $-C(O)R^3$ ili racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^3 supstituirani ili nesupstituirani alkil, a R^4 je H ili supstituirani ili nesupstituirani alkil;

R^2 je H, OR^5 , ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^5 nezavisno H ili alkil i u čemu je R^6 nezavisno H, supstituirani ili nesupstituirani alkil, cikloalkil, ili zajedno s dušikom formira supstituirani ili nesupstituirani heterocikloalkilni prsten; i

u čemu R^2 je $-OH$, barem jedna od R^1 skupina je racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$; ili farmaceutski prihvatljiva sol.

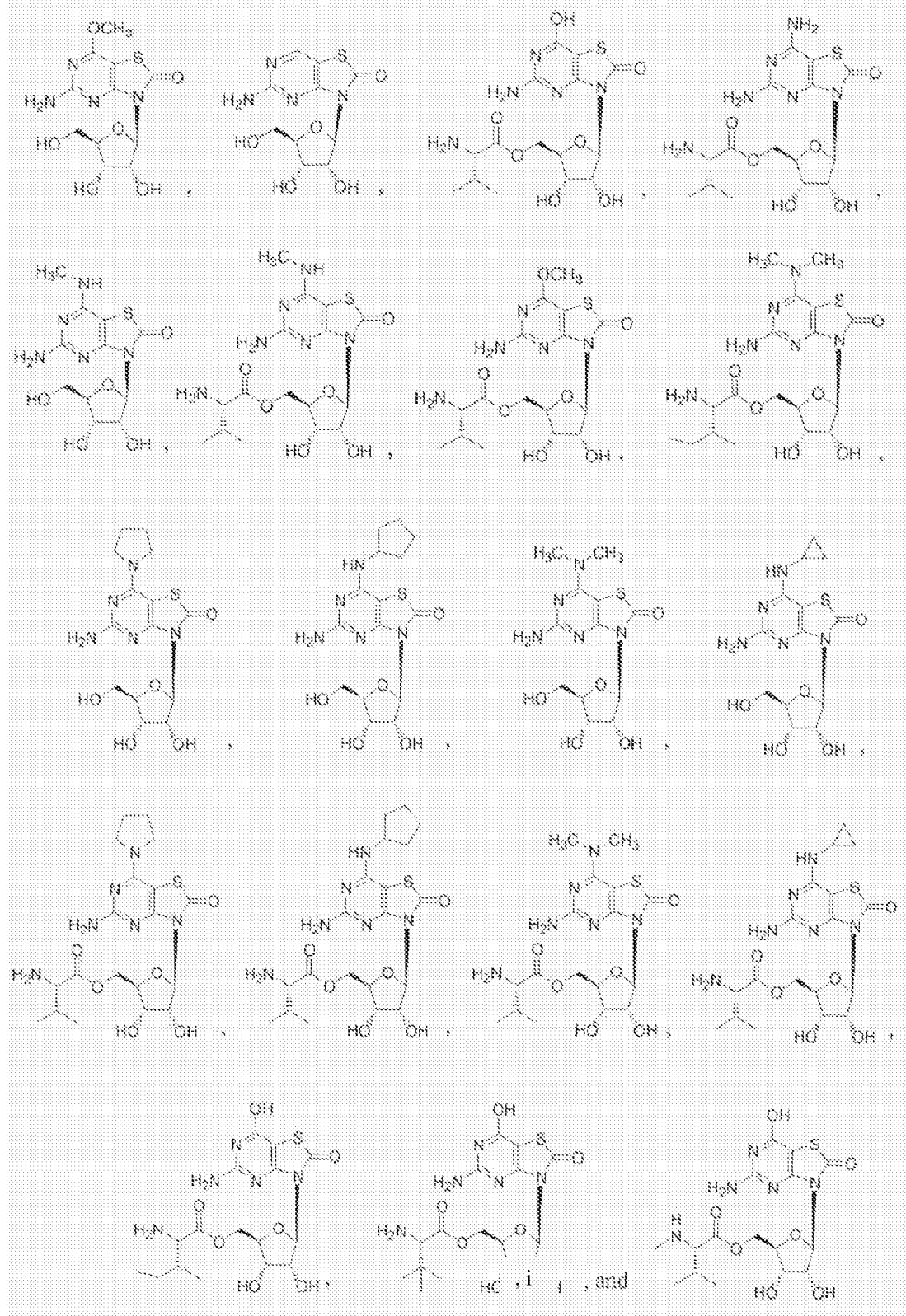
7. Farmaceutski sastav u skladu s patentnim zahtjevom 6, **naznačen time**, da je barem jedna od R^1 skupina racemična, L- ili D- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^4 supstituirani ili nesupstituirani alkil, i u čemu preostale R^1 skupine su H; R^2 je OR^5 , ili $N(R^6)_2$, u čemu je R^5 nezavisno odabran od H ili alkila i u čemu je R^6 nezavisno H, supstituirani ili nesupstituirani alkil, cikloalkil, ili zajedno s dušikom formira supstituirani ili nesupstituirani heterocikloalkilni prsten.

8. Farmaceutski sastav u skladu s patentnim zahtjevom 7, **naznačen time**, da je barem jedna od R^1 skupina L- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu je R^4 supstituirani ili nesupstituirani alkil, i u čemu preostale

R^1 skupine jesu H; R^2 je OR^5 ili $N(R^6)_2$, u čemu R^4 jest supstituirani alkil, i u čemu je R^6 nezavisno H ili supstituirani ili nesupstituirani alkil.

9. Farmaceutski sastav u skladu s patentnim zahtjevom 8, **naznačen time**, da je barem jedna od R^1 skupina L- aminokiselinska skupina $-C(O)CHNH_2R^4$, u čemu R^4 je $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ i u čemu su preostale R^1 skupine H; a R^2 je OH.

10. Farmaceutski sastav u skladu s patentnim zahtjevom 6, **naznačen time**, da se odabire iz skupine koja se sastoji od:



11. Postupak moduliranja imunosnih citokinskih aktivnosti u pacijentu, **naznačen time**, da se sastoji od:
davanja spoja ili farmaceutski prihvatljive soli Formule I u skladu s patentnim zahtjevom 1; i
liječenja pacijenta, kojem je to potrebno, tim spojem ili farmaceutski prihvatljivom soli.

5

SAŽETAK

- 10 Izum je usmjeren na 3- β -D-ribofuranosiltiazolo[4,5-*d*]piridimin nukleozide i farmaceutske sastave koji sadrže takve spojeve i koji imaju imunomodulatornu aktivnost. Izum je također usmjeren na terapijsku ili profilaktičku uporabu takvih spojeva i sastava, te na postupke za liječenje bolesti i poremećaja koji su ovdje opisani, davanjem učinkovitih količina takvih spojeva.

FIGURA 1

SLIKA 1

Mišji odgovor na Interferon-alfa
Izatoribin 25 mg/kg i.v. prema val-izatoribinu 50 mg/kg p.o.

