(19) **UA** (11) **54 364** (13) **C2**

(51)МПК [7] **A 61K 31/505, C 07D 411/04**

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ УКРАИНЫ

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ДЕПАРТАМЕНТ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ УКРАИНЫ

(21), (22) Заявка: 94051484, 05.03.1992

(24) Дата начала действия патента: 17.03.2003

(30) Приоритет: 06.03.1991 GB 9104741.5
02.05.1991 GB 9109505.9

(46) Дата публикации: 15.03.2003

(86) Заявка PCT:
PCT/GB92/00388, 19920305

(72) Изобретатель:
Пейнтер Джордж Роберт, US,
Фурман Филлип Аллен, US

(73) Патентовладелец:
Дзе Веллкам Фаундейшн Лимитед, GB

(54) СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕПАТИТА В, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ

(57) Реферат:

Предложен способ применения аналога цис-1-(2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил)-5-ф торцитозина и его приемлемого с фармацевтической точки зрения производного для лечения вирусных инфекций гепатита В. Предложены также фармацевтические композиции.

Официальный бюлетень "Промышленная собственность". Книга 1 "Изобретения, полезные модели, топографии интегральных микросхем", 2003, N 3, 15.03.2003. Государственный департамент интеллектуальной собственности Министерства образования и науки Украины.

UA 54364 C2

UA 54364 C2

(19) UA (11) 54 364 (13) C2

(51) Int. Cl.[7] A 61K 31/505, C 07D 411/04

MINISTRY OF EDUCATION AND SCIENCE OF UKRAINE

STATE DEPARTMENT OF INTELLECTUAL PROPERTY

(12) DESCRIPTION OF PATENT OF UKRAINE FOR INVENTION

(21), (22) Application: 94051484, 05.03.1992

(24) Effective date for property rights: 17.03.2003

(30) Priority: 06.03.1991 GB 9104741.5
02.05.1991 GB 9109505.9

(46) Publication date: 15.03.2003

(86) PCT application:
PCT/GB92/00388, 19920305

(72) Inventor:
Painter George Robert, US,
Furman Phillip Allen, US

(73) Proprietor:
The Wellcome Foundation Limited, GB

(54) SUBSTANCE FOR TREATMENT OF VIRAL HEPATITIS B, PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND METHOD FOR TREATMENT

(57) Abstract:

The method for application of the cis-1-(2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl)-5-fl uorocytosine analogue and its pharmaceutically acceptable derivative for the treatment of viral hepatitis B. The pharmaceutical compositions are also disclosed.

Official bulletin "Industrial property". Book 1 "Inventions, utility models, topographies of integrated circuits", 2003, N 3, 15.03.2003. State Department of Intellectual Property of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

UA 54364 C2

UA 54364 C2

(19) UA (11) 54 364 (13) C2

(51)МПК 7 A 61K 31/505, C 07D 411/04

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ

(12) ОПИС ВИНАХОДУ ДО ПАТЕНТУ УКРАЇНИ

(21), (22) Дані стосовно заявки:
94051484, 05.03.1992

(24) Дата набуття чинності: 17.03.2003

(30) Дані стосовно пріоритету відповідно до Паризької конвенції : 06.03.1991 GB 9104741.5
02.05.1991 GB 9109505.9

(46) Публікація відомостей про видачу патенту (деклараційного патенту): 15.03.2003

(86) Номер та дата подання міжнародної заявки відповідно до договору PCT:
PCT/GB92/00388, 19920305

(72) Винахідник(и):
Пейнтер Джордж Роберт , US,
Фурман Філліп Аллен , US

(73) Власник(и):
Дзе Веллкам Фаундейшн Лімітед, GB

(54) ЗАСІБ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ГЕПАТИТУ В, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ

(57) Реферат:

Запропоновано спосіб застосування цис-1-(2-(гідроксиметил)-1,3-оксатіолан-5-іл)-5-фт орцитозину та його фармацевтично прийнятного похідного для лікування вірусних інфекцій гепатиту В. Запропоновані також фармацевтичні композиції.

UA 54364 C2

UA 54364 C2

Опис винаходу

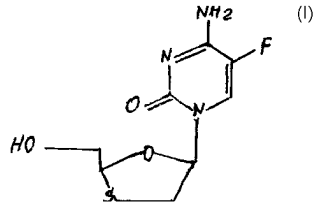
Настоящее изобретение относится к использованию производного 1-/2-/гидроксиметил/-1,3-оксагиолан-5-ил/-цитозина и его физиологически функциональных производных для лечения вирусных инфекций гепатита В.

Вирус гепатита В /ВГВ/ является вирусным патогеном, играющим в мире важную роль. ВГВ наиболее распространен в странах Азии и преобладает в африканских странах юга Сахары.

Этот вирус этиологически связан с первичной печеночно-клеточной карциномой и, как представляется, служит причиной 80% случаев заболевания раком печени в мире. В Соединенных Штатах Америки более десяти тысяч человек каждый год госпитализируется по причине ВГВ-заболевания, прячем констатируется в среднем 250 смертельных исходов в результате скоротечности заболевания. В Соединенных Штатах в настояли момент имеется примерно 500 000 - 1 миллион инфицированных носителей. Хронический активный гепатит развивается у более чем 25% носителей и часто переходит в цирроз. Приблизительно 5000 больных погибает от цирроза, связанного с ВГВ, каждый год в США и вероятно 1 000 больных погибает от рака печени, связанного с ВГВ. Даже в тех случаях, когда имеется универсальная ВГВ-вакцина, продолжает ощущаться необходимость в эффективных анти-ВГВ-соединениях. Большие количества устойчиво инфицированных носителей, примерно 220 миллионов во всем мире, не могут извлечь пользы от вакцинации и поэтому будут непрерывно подвергаться высокому риску заболевания печени, вызванного ВГВ. Эти группы носителей могут также быть источником инфекции для восприимчивого организма, который всегда сохраняется, в частности, в эндемических областях или среди групп высокого риска, например, при неправильном введении лекарственных препаратов и среди гомосексуалов. Таким образом, ощущается острая необходимость в эффективных противовирусных агентах, как для контроля за хроническими инфекциями, так и для снижения развития печеночно-клеточной карциномы.

Клинические эффекты ВГВ-инфекции включают головную боль, жар, недомогание, тошноту, рвоту, анорексию и боли в брюшной области. Репликация этого вируса в общем случае контролируется иммунной реакцией с периодом восстановления от нескольких недель до нескольких месяцев у человека, но инфекция может быть более сильной, что приводят к устойчивым хроническим заболеваниям печени, о которых речь шла выше. В книге “Viral Infections of Humans” /второе издание, изд. Plenum Publishing Corporation.,-1982. New York. Ред. Evans, A.S/, Глава 12, описана этиология инфекций вирусного гепатита. В Европейском Патентном Описании № 0382526 предложены некоторые аналоги 1,3-оксатиолан нуклеозида, которые эффективны при ингибировании репликации вируса иммунодефицита человека /ВИЧ/.

Заявитель неожиданным образом установил, что производное 1-/2-/гидроксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-цитозина формулы I:



(I)

а именно, 1-/2-/гидроксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-5-фторцитозин и его физиологически функциональное производное обладают сильной активностью против ВГВ.

Необходимо заметить, что соединение Формулы /I/ содержит два хиральных центра и поэтому оно существует в форме двух пар оптических изомеров /т.е. энантиомеров/ я их смесей, включая рацемические смеси. Таким образом, соединение Формулы /I/ может быть либо цяс, либо транс-изомером, либо их смесями. Каждый цис- и транс-изомер может существовать в виде одного из двух энантиомеров или их смесей, включая рацемические смеси. Все такие изомеры и их смеси, включая рацемические смеси, и таутомерные формы соединения формулы /I/ находятся в области, охватываемой настоящим изобретением. Цис-изомеры соединения формулы /I/ предпочтительны.

В соответствии с одним из отличительных свойств настоящею изобретения, предлагается соединение формулы /1/ или его физиологически функциональное производное для использования при лечении или профилактике инфекции, вируса гепатита В. В соответствии с еще одним отличительным свойством настоящею изобретения, предлагается способ использования соединения, формулы /1/ иди его физиологически функционального производного при изготовлении медицинского препарата для лечения или профилактики инфекции вируса гепатита В.

Б соответствии с еще одним аспектом настоящего изобретения предлагается, способ лечения или профилактики инфекции вируса гепатита В у хозяина, например, млекопитающего такого, как человек, который содержит обработку хозяина терапевтически эффективным количеством соединения формулы /1/ или его физиологически функциональною производного.

Под термином "физиологически функциональное производное" подразумевается приемлемая с фармацевтической точки зрения соль, амид, сложный эфир или соль сложного эфира соединения формулы /1/ или любое другое соединение, которое после применения к пациенту способно дать /непосредственно или

UA 54364 C2
UA 54364 C2

косвенно/ вышеупомянутое соединение формулы /1/, или его активный метаболит или остаток.

Предпочтительные сложные эфиры в соответствии с настоящим изобретением включают сложные эфиры кар боковых кислот, в которых некарбониловую составляющую части карбоновой кислоты сложною эфира выбирают из алкила с линейной или разветвленной цепью, например, н-пропила, третичн.-бутила, н-бутила, алкоксиалкила /например, метоксиметила/, арилалкила /например, бензила/, арилоксиалкила /например, феноксиметила/ и арила /например, фенила/; сложные эфиры сульфонатов такие, как алкил- или арилалкилсульфонил /например, метансульфонил/; сложные эфиры аминокислот /например, L -валил или L -изолеупил/; сложные эфиры дикарбоновых кислот /например, полусукцинат/; и 5'-моно-, ди- или три-фосфатные сложные эфиры. Фосфатные сложные эфиры могут быть затем этерифицированы, например, при помощи C_{1-20} спирта или его химически активного производного, или при помощи 2,3-ди/C_{6-24}/ ацил глицерина. Любая алкиловая составляющая, содержащаяся в таких сложных эфирах, в предпочтительном варианте содержит от 1 до 18 атомов углерода, в частности, от 1 до 4 атомов углерода. Любая ариливая составляющая, содержащаяся в таких сложных эфирах, в предпочтительном варианте содержит фенильную группу, необязательно замещенную, например, галогеном, C_{1-4} алкилом, C_{1-4} кокси или нитро.

Вышеупомянутые, приемлемые с фармацевтической точки зрения, амиды соединения формулы /1/ включают такие производные, в которых группа амино цитозина находится в форме амида, например, -NHCOR, в которой R является C_{1-6} алкилом или арилом /например, фенилом, необязательно замещенным галогеном, C_{1-4} алкилом, C_{1-4} алкокси, нитро или гидроксилом/.

Примеры приемлемых с фармацевтической точки зрения солей в соответствии с настоящим изобретением включают основные соли например, полученные из соответствующего основания, такого, как щелочной металл /например, натрий/, соли мелочно-земельных металлов /например, магния/, аммоний и NX_4^+ /в которой X является C_{1-4} алкилом/. Приемлемые с фармацевтической точки зрения присоединенные соли кислот включают соли органических карбонових кислот таких, как уксусная, молочная, винная, малеиновая, изетионовая, лактобионовая и янтарная кислоты; органических моносульфокислот таких, как метан/моно/сульфокислота, этан/моно/сулъфокислота, бензол-/моно/сульфокислота и пара-толуол/моно/сульфокислота, и неорганических кислот таких, как хлористо-водородная, серная, фосфорная и сульфаминовая кислоты.

Количество соединения формулы /1/ /в дальнейшем именуемого также, как "активный ингредиент"/, или его физиологически функционального производного, которое необходимо для изготовления медицинского препарата, чтобы гарантировать целевой эффект, будет зависеть от нескольких факторов, в частности, от специфических условий применения, природы конкретного используемого соединения, способа применения и состояния патента. В общем случае, соответствующая, доза будет изменяться в области от 3,0 до 120мг на килограмм массы тела патента в день, в предпочтительном варианте в области от 6 до 90мг на килограмм массы тела в день, а в наиболее предпочтительном варианте в области от 15 до 60мг на килограмм массы тела в день. Необходимая доза в предпочтительном варианте может быть представлена в виде двух, трех, четырех, пяти, шести и более поддоз, которые применяют в соответствующие моменты времени в течение дня. Эти поддозы могут быть применены в форме единичных доз, например, содержащих, от 10 до 1500мг, в предпочтительном, варианте от 20 до 1000мг, а в самом предпочтительном варианте от 50 до 700мг активного ингредиента на форму единичной дозы.

В идеальном случае активный ингредиент необходимо применять таким образом, чтобы добиться пиковой концентрати в плазме активного ингредиента в области от примерно 1 до примерно 75 μM в предпочтительном варианте от примерно 2 до 50μM, в самом предпочтительном варианте от примерно 3 до примерно 30μM. Этого можно добиться, например, при помощи внутривенной инъекции 0,1-5% раствора активного ингредиента, необязательно в соляном растворе, или орального применения в виде шариков, содержащего: от примерю 1 до примерно 100мг/кг активного ингредиента. Необходимые концентрации в крови могут поддерживаться при помощи непрерывного вливания, чтобы обеспечить введение от примерно 0,01 до примерно 5,0мг/кг/час или при помощи периодических вливаний, содержащих от примерно 0,4 до примерно 15мг/кг активного ингредиента.

При получении медицинского препарата, являющегося предметом настоящего изобретения, в дальнейшем именуемого как "композиция", соединение формулы /1/ или его физиологически функциональное производное, именуемое в дальнейшем, как "активный ингредиент", в общем случае смешивают с /среди прочего/ одним или несколькими, приемлемыми с фармацевтической точки зрения, носителями или наполнителями и необязательно другими терапевтическими агентами.

Эти формы включают те формы, которые пригодны для стоматического, прямокишечного, носового, местного /включая, трансдермальный, трансбуккальный и подъязычный/, влагалищного или парентерального /включая, подкожный, внутримышечный, внутривенный и внутрикожный/ применения. Эти композиции могут быть в общем случае сформированы в форму единичной дозы и могут быть изготовлены с использованием любой процедуры, которые известны в области фармацевтической промышленности. Такие процедуры включают стадию соединения вместе активного ингредиента с носителем, который состоит из одного или нескольких дополнительных ингредиентов. В общем случае, эти композиции получают при помощи однородного и тщательного соединения активного ингредиента с жидкими носителями или тонко измельченными твердыми носителями, или тем и другим, а затем, если это необходимо, продукту придают необходимую форму.

Композити настоящего изобретения, предназначенные для стоматического применения, могут иметь форму дискретных доз таких, как капсулы, крахмальные капсулы или таблетки, каждая из которых содержит заранее определенное количество активного ингредиента; порошка или гранул; раствора или суспензий в водной или неводной жидкости; или жидкой эмульсии масло в воде или жидкой эмульсии вода в масле. Активный ингредиент может также иметь форму шариков, лекарственной кашки или пасты.

UA 54364 C2

UA 54364 C2

Таблетка может быть получена щи помощи прессовки или формования, необязательно с одним или несколькими дополнительными ингредиентами. Прессованные таблетки могут быть получены при помощи прессовки в специальное средстве активного ингредиента в свободно-текущей форме такой, как порошок или гранулы, необязательно в смеси со связывающим агентом /например, повидоном, желатином, оксипропилметил целлюлозой/, смазочным агентом, инертным разбавителем, консервирующим агентом, разрыхляющим агентом /например, натрий гликоллатом крахмала, сшитым повидоном, сшитой натрий карбоксиметил целлюлозой/, поверхностно-активным агентом или диспергирующим агентом. Формованные таблетки могут быть изготовлены при помощи формования в соответствующем средстве смеси порошкообразного соединения, увлажненного инертным жидким разбавителем. Эти таблетки могут быть покрыты или снабжены рифлением, или из них могут быть получены формы, которые позволяют обеспечить медленное или регулируемое высвобождение активного ингредиента, в которых, используя, например, оксипропилметил целлюлозу в различных пропорциях, можно обеспечить целевой профиль высвобождения. Эти таблетки могут быть также снабжены дополнительным покрытием, чтобы гарантировать высвобождение в кишечнике, а не в желудке.

Композиции, предназначенные для стоматического использования, которые были описаны выше, могут также включать буферирующие агенты, предназначенные для нейтрализации кислотности желудка. Такой буфер может быть выбран из самых различных органических или неорганических агентов таких, как слабые кислоты яли основания, смешанные с сопряженными с ними солями.

Композиции, предназначенные для местного применения во рту, включают лепешки, содержащие активный ингредиент во вкусной основе, в общем случае в сахарозе и акации или трагаканте; пастилки, содержащие активный ингредиент в инертной основе, такой, как желатин и глицерин, или: сахароза и акация; и жидкости для полоскания, содержащие активный ингредиент в соответствующем жидком носителе.

Композиции для прямокишечного применения могут быть изготовлены в виде суппозиториев на соответствующей основе, содержащей, например, кокосовое масло или салицилат.

Композиции, предназначенные для влагалищного применения, могут иметь форму пессариев, тампонов, кремов, гелей, паст, пены или распыляемых композиций, содержащих, кроме того, /наряду с активным ингредиентом/ такие носители, которые известны каждому специалисту в этой области техники.

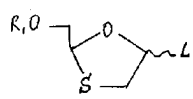
Композиции, предназначенные для парентерального применения, включают водные и неводные изотопные стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданти, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, которые придают композиции изотонность относительно крови пациента; и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загущающие агенты, липосомы или другие системы в форме микрочастиц, которые предназначены для того, чтобы доставить соединения к компонентам крови или одному или нескольким органам. Эти композиции могут иметь форму закрытых контейнеров, содержащих одну или несколько доз, например, ампулы и пузырьки, и их можно хранить при условиях сушки вымораживанием /лиофилизации/, при которых необходимо только добавить стерильный жидкий носитель, например, воду для инъекций, непосредственно, перед применением, "Неподготовленные" растворы и суспензия для инъекций могут быть получены из стерильных порошков, гранул и таблеток того типа, что были описаны выше.

Предпочтительные композиции в форме единичных доз являются такими композициями, которые содержат ежедневную дозу или ежедневную поддозу, как это было описано выше, или соответствующие ее доли активного ингредиента.

Необходимо иметь в виду, что в дополнение к ингредиентам, перечисленным выше, композиции, являющиеся предметом настоящего изобретения, могут включать другие агенты, известные в этой области техники, в зависимости от типа композиции; например, композиции, предназначенные для стоматического применения, могут включать такие дополнительные агенты, как вкусовые агенты, загущающие агенты и ароматизирующие агенты.

Соединение формулы I может быть получено, например, в результате:

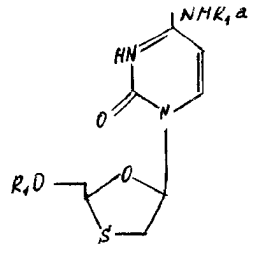
а/ взаимодействия необязательно защищенного соединения 5-F-цитозина с 1,3-окоатиоланом формулы IIA:



(IIA)

в которой R_1 является водородом или окси-защищающей группой, а L являєгея замещаемой группой; или

в/ взаимодействия соединения формулы IIB:

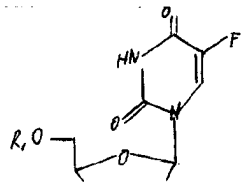


(IIB)

в которой R_1 уже был определен выше, а R_1 [a] является амино-защищающей группой/ с фторирующим

UA 54364 C2
UA 54364 C2

агентом, который позволяет ввести атом фтора в 5 позицию кольца цитозина; или с/ взаимодействия соединения Формулы IIC:


(IIC)

в которой R_1 уже был определен выше/ с агентом, который служит для превращения оксо-группы в 4-позяции урацилового кольца в амино группу; любые оставшиеся защищающие группы удаляют, например, при помощи кислотного или щелочного гидролиза, чтобы получить целевой продукт.

Что касается процедуры а/, то гидрокси-защищающая группа включает такие защищающие группы, как ацил /например, ацетил/, арил-ацил /например, бензоил или замещенный бензоил/, тритил или монометокситритил, бензил или замещенный бензил, триалкилсилил /например, диметил-третичн.-бутилсилил/ или дифенилметилсилил. Соединение 5-R-цитозина может быть защищено силилом, например, триметил силиловыми группами. Такие группы могут быть удалены при помощи стандартных приемов. Замещаемая группа L является замещаемой группой, одной из тех, которые хорошо известны в химии нуклеозидов, например, галоген такой, как хлор или бром, алкокси такой, как метокси или этокси, или ацил такой, как ацетил или бензоил.

Реакция яз процедуры а/ может быть осуществлена в органическом растворителе /например, 1,2-дихлорэтане или ацетонитриле/ в присутствия кислоты Льюиса такой, как хлорид пятивалентного олова или триметилсилил трифлат /triflate/.

Соединения Формулы IIA могут быть получены из соответствующим образом защищенного 2-оксяацетальдегяда формулы III:

$$R_1OCH_2CHO \quad (III)$$

в которой R_1 был определен выше, как это описано в работе Can.Y. Research т.8,1933.- 129с. и Европейском Патентном описании №0382 526. Реакция соединений формулы III с меркапгоацеталем $HSCH_2CH/OP/_2$, в которой R является C_{1-4} алкокси таким, как $HSCH_2CH$ /$OC_2H_5/_2$, известная в этой области техники /Chem. Ber., т.85.-1952.-С.924-932./, дает соединение формулы IIA, в которой L является OR/алкокси/, например, метокси или этокси. В качестве альтернативы, соединения формулы IIA, в которой L является алкокси, может быть превращено в соединения формулы IIA, в которой L является галогеном или ацилом при помощи приемов, известных в области химии углеводов.

Соединения формулы III могут быть получены из 1,2-0-изо-пропилиден глицерина при помощи введения R_1 /например, трехзамещенного силила, бензила или тритила/ и удаления группы изопропилидена с использованием слабой кислоты /например, водного раствора муравьиной или уксусной кислоты/ или бромида цинка в ацетонитриле, далее, осуществляют окисление группы спирта водным периодатом.

Что касается процедуры в/, то 5-фтор заместитель может быть введен при помощи приемов, известных в этой области техники /M.J/Robins и др., в книге"Nucleic Acid Chemistry, Part 2, ред. L.B. Townsend и R.S. Tipson, изд. Y. Wiley and Sons, New York, -1978, С.43-46. и ссылки, приведенные там/. Фторирующим агентом может быть, например, триметилгипофторит в фтортрихлорметане.

Что касается процедуры с/, то соединение формулы IIC в предпочтительном варианте обрабатывают 1,2,4-триазолом, в предпочтительном варианте вместе с 4-хлорфенил дихлорфосфатом, чтобы получить соответствующее 4-/1,2,4-триазолиловое/ соединение, которое затем превращают в гелевое соединение 4-амино/цитидина/ в результате взаимодействия, например, с метанолом.

Исходные материалы формулы IIB и IIC могут быть получены, например, в результате взаимодействия соответствующего /необязательно защищенного/ основания с соединением формулы IIA при помощи той же процедуры, что описана в процедуре а/. 5-фторурацил и 5-фторцитозин можно получить от фирмы Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI 53233, USA.

Разделение /±/-цис и /±/-транс изомеров, например, в защищенной форме может быть осуществлено при помощи хроматографии на силикагеле со смесями органических растворителей, таких как этил ацетат/метанол, этил ацетат/гексан или ди-хлорметан/метанол. Любая защищающая группа может быть затем удалена, используя соответствующий реагент для каждой группы.

Соединение формулы /I/ может быть превращено в приемлемые с фармацевтической точки зрения сложные эфиры и амиды в результате взаимодействия с соответствующим ацилирующим агентом, например, галидом или ангидридом кислоты, который служит для ацилирования 5' -OH и 4-NH_2 групп. Ациловая группа затем может быть удалена селективно из одной или другой группы 5' -OH и 4-NH_2. Например, в результате обработки диацилированного соединения при кислотных условиях, например, с кислотой Льюиса такой, как бромид цинка в метаноле, удаляют 4N-ациловую группу и получают соответствующий 5' -OH сложный эфир, а в результате обработки диацилированного соединения при щелочных условиях, например, с мегилатом натрия удаляют 5' -OH ациловую группу и получают соответствующий 4N-амид. Ациловая группа может быть также удалена селективно в результате обработки производимыми промышленностью ферментами эстеразы или липазы,

UA 54364 C2
UA 54364 C2

например, эстеразои печени свиньи или липазой поджелудочной железы свиньи, или в результате обработки в соответствии с процедурами, описанными в Латентном описании США №5 071 983. Соединение формулы /1/ может быть превращено в его приемлемую с фармацевтической точки зрения соль при помощи известных приемов, например, в результате обработки соответствующим основанием. Сложный эфир или соль соединения формулы /I/ может быть превращена в "базовое" соединение, например, при помощи гидролиза.

С целью лучшего понимания настоящего изобретения, ниже в качестве иллюстрации приведены Примеры.

Пример 1: гис-1-/2-/гидрооксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-5-фторцитозин

Метод А: /±/-цис и /±/-транс 2-бензоилоксиметил-5-/N_4- апетил-питозин-1-ил/-1,3-оксатиолан получали и разделяли на /±/-цис и /±/-транс изомеры, как это описано в Европейском Патентном /ЕР/. Описании №0 382 526. /±/-цис изомер подвергали фторированию при помощи трифторметил гипофторита в фтортрихлорметане /CCl_3F/ и хлороформе при температуре -78°С в соответствии с процедурой из Robins и др., Nucleic Acid Chemistry, Port 2,-1978,-С. 895-900. N_4-ацетиловые и 2-бензоиловые группы удаляли диметиламином в этаноле, а продукт, /±/-цис-1-/2-/оксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-5-фторгитозин, выделяли.

Метод В: /±/-цис и /±/-транс-2-бензоилоксиметил-5-/урацил-1-ил/-1,3-оксатиолан получали, как это описано в ЕР №0 382 526. После депротекции 2-гидроксильной группы насыщенным метаноловым раствором аммиака изомеры разделяли на силика геле, используя Et OAc/MeOH в качестве элюента /ЕР №0. 382 526/. / ±/-цис изомер взаимодействовал с уксусным ангидридом в пиридине при комнатной температуре, чтобы получить 2-ацетат. Растворитель удаляли под вакуумом при температуре < 30°С. Затем 2-апетат растворяли в $CHCl_3$ и промывали водным раствором, бикарбоната натрия. Отделившийся органический слой сушили, а $CHCl_3$ выпаривали под вакуумом. /±/-цис-2-ацетилоксиметил-5-/урацил-1-ил/-1,3-оксатиолан подвергали фторированию, как это описано выше /Метод А/, с использованием процедуры Робинса и др. Превращение 5-F-урацилового основания в 5-F-цитозиновое основание осуществляли при помощи получения производного 4-/1,2,4-триазол-1-ила/ в соответствии с процедурами из C.B. Reese, Y. Chem. Soc., Perkins 1. -1984. - 1171с. и W.L.Sung, Nucleic Acids Res., т.9,- 1981, -6139с. используя 1,2,4-триазол и 2 эквивалента 4-хлорфенилдихлорфосфата в сухом пиридине при окружающей температуре. После этого превращения осуществляли реакцию с метанолом, предварительно насыщенным амиаком, при температуре 0°С, а 2-апетат-гидролизовали, чтобы получить /±/-цис-1-/2-/гидроксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-5-фторцитозин.

Фармацевтические композиции

В приводимых ниже примерах композиций "Активным Ингредиентом" является цис-1-/2-/гидроксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-5-фторцитозин.

Пример 2

Композиции таблеток

Следующие композиции А, В и С получали при помощи влажной грануляции ингредиентов с раствором повидона с- последующим добавлением стеарата магния и прессовкой.

Таблица 1

Композиция А		
	мг/ таблетку	мг/ таблетку
/а/ Активный ингредиент	250	250
/в/ Лактоза /Фармакопея Великобритании/	210	16
/с/ Повидон /Фармакопея Великобритании/	15	9
/d/ Натрий гликоллат крахмала	20	12
/е/ Стеарат магния	5	3
	500	300

Таблица 2

Композиция В		
	мг/таблетку	мг/таблетку
/а/ Активный ингредиент	250	250
/в/ Лактоза	150	—
/с/ Авицел РН 101	60	26
/d/ Повидон /Фармакопея Великобритании/	15	9
/е/ Натрий гликоллат крахмала	20	12
/f / Стеарат магния	5	3
	500	300

Таблица 3

Композиция С	
	мг/ таблетку
Активный ингредиент	100
Лактоза	200
Крахмал	50
Повидон	5

UA 54364 C2
UA 54364 C2

Стеарат магния	4
	359

Приводимые ниже композиции Д и Е получали при помощи прямого прессования смешанных ингредиентов. Лактоза в композиции Е предназначена для прямой прессовки /фирма Dairy Crest-"Zepazox"/.

Таблица 4

Композиция Д	
	мг/таблетку
Активный ингредиент	250
Предварительно желатинизированный крахмал NF 15	150
	400

Таблица 5

Композиция Е	
	мг/таблетку
Активный ингредиент	250
Лактоза	150
Авицел	100
	500

Композиция F /Композиция для регулируемого высвобождения/

Эту композицию получали при помощи влажной грануляции ингредиентов /перечисленных ниже/ с раствором повидона с последующим добавлением стеарата магния и прессовкой.

Таблица 6

Композиция F	
	мг/таблетку
/a/ Активный ингредиент	500
/в/ Оксипропилметилцеллюлоза /Methocel K4M Premium/	112
/c/ Лактоза /Фармакопея Великобритании/	53
/d/ Повидон /Фармакопея Великобритании/	28
/e/ Стеарат магния	7
	700

Высвобождение препарата имеет место в течение примерно 6-8 часов и завершается спустя 12 часов.

Пример 3

Композиции для капсул

Композиция А

Композицию для капсул получали при помощи смешения ингредиентов из Композиции Д в примере 2 выше и заполнения ею жесткой желатиновой капсулы, состоящей из двух частей. Композицию В /см. ниже/ получали аналогичным образом.

Композиция В

Таблица 7

Композиция В	
	мг/таблетку
/a/ Активный ингредиент	250
/в/ Лактоза /Фармакопея Великобритании/	143
/c/ Натрий гликоллат крахмала	25
/d/ Стеарат магния	2
	420

Таблица 8

Композиция С	
	мг/таблетку
/a/ Активный ингредиент	250
/в/ Макрогол 4000 /Фармакопея Великобритании/	350
	600

Таблица 9

Композиция Д	
	мг/таблетку

UA 54364 C2

UA 54364 C2

Активный ингредиент	250
Лецитин	100
Арахисовое масло	100
	450

Капсулы с композицией Д получали при помощи диспергирования активного ингредиента в лецитине и арахисовом масле, и заполнения дисперсией мягких, эластичных желатиновых капсул, композиция Е /Капсула для регулируемого высвобождения/.

Следующую композицию для капсулы с регулируемым высвобождением получали при помощи экструзии ингредиентов а, в и с, используя экструдер, грануляции экструдированного продукта и сушки. Высуженные гранулы затем покрывали мембраной /d/ для регулируемого высвобождения, а затем ими заполняли жесткие желатиновые капсулы, состоящие из двух частей.

Таблица 10

Композиция Е	
	мг/таблетку
/а/ Активный ингредиент	250
/в/ Микрокристаллическая целлюлоза	125
/с/ Лактоза /Фармакопея Великобритании/	125
/d/ Єтил целлюлоза	13
	513

Пример 4

Композиции для инъекций

Таблица 11

Композиция А	
Активный ингредиент	0,200 г
Раствор хлористоводородной кислоты, 0,1М или раствор гидрата окиси натрия, 0,1М, сколько нужно, чтобы обеспечить pH	от 4,0 до 7,0
Стерильная вода, сколько нужно до	10мл

Активный ингредиент растворяли в большей части воды /35-40°С/ и pH обеспечивали на уровне от 4,0 до 7,0 при помощи хлористоводородной кислоты или гидрата окиси натрия, в зависимости от цели. Затем эту порцию доводили до необходимого объема при помощи воды и фильтровали через стерильный микропористый фильтр в стерильный 10мл желтый стеклянный . пузырек /типа 1/ и герметически закрывали в стерильных условиях.

Пример 5

Внутримышечная инъекция

Активный ингредиент	0,20г
Бензиловый спирт	0,10г
Гликофурол 75	1,45г
Бензиловый спирт, сколько нужно до	3,00мл

Активный ингредиент растворяли в гликофуроле. Затем добавляли бензиловий спирт и получали раствор, затем добавляли воду до 3мл. Затем смесь фильтровали через стерильный микропористый фильтр и заполняли ею стерильные 3мл желтые стеклянные пузырьки /типа 1/.

Пример 6

Сироп

Активный ингредиент	0,25г
Раствор сорбита	1,50г
Глицерин	2,00г
Бензоат натрия	0,005г
Вкусовой агент, Peach 17.42.316 9	0,0125мл
Очищенная вода, сколько нужно до	5,00мл

Активный ингредиент растворяли в смеси глицерина и большей части очищенной воды. Водный раствор бензоата натрия затем добавляли в раствор, затем добавляли раствор сорбита и, наконец, вкусовой агент. Объем доводили до необходимого очищенной водой и тщательно перемешивали.

Пример 7

Суппозиторий

	мг/суппозиторий
Активный ингредиент	250
Твердый жир /Фармакопея Великобритании /Witepsol H15 - фирма Dynamit Nobel/.	1770
	2020

UA 54364 C2

UA 54364 C2

Одну пятую жира Witepsol H15 плавили в чашке, снабженной паровой рубашкой, при максимальной температуре 45°C. Активный ингредиент просеивали через сито 200 μM и добавляли в расплавленную основу при перемешивании, используя средство Силверсон /Silverson/, снабженное срезающей головкой до тех пор, пока не будет получена равномерная дисперсия. Поддерживая смесь при температуре 45°C, в суспензию добавляли оставшийся Witepsol H15 и перемешивали, чтобы получить однородную смесь. Всю суспензию пропускали через сито из нержавеющей стали 250μM и при непрерывном перемешивании смеси давали возможность остыть до 40°C. При температуре от 38 до 40°C 2,02г смеси заполняли соответствующие 2мл, пластиковые формы. Суппозиториям давали возможность остыть до комнатной температуры.

Пример 8

Пессарии

	мг/пессарий
Активный ингредиент	250
Безводная декстроза	380
Картофельный крахмал	363
Стеарат магния	7
	1000

Перечисленные выше ингредиенты непосредственно перемешивали, а пессарии получали при помощи прямого прессования полученной в результате смеси.

Пример 9

Противовирусная активность против Вируса Гепатита В /ВГВ/

Соединение цис-1-/2-/гидроксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-5-фтор-цитозин испытывали в соответствии с описанием, приведенным ниже.

Линия клеток продуцента человеческого ВГВ $HepG_2$. 2,2.15 описанная и охарактеризованная в работах Sells и др., PNAS т.84,-1987.-1005с. и Y. Virol т.62, -1988, -2836с., как было установлено, обладает многими характеристиками хронически ВГВ-инфицированного гепатоцита. Он инфекционен, что подтверждали тем фактом, что он вызывал заболевание у шимпанзе. Эту линию клеток использовали in vitro, чтобы идентифицировать соединения с анти-ВГВ-активностью.

Для того, чтобы испытать соединения на противовирусную активность, монослойные культуры обрабатывали соединением, 50-200μM в течение десяти дней. Верхний слой среды, содержащий внеклеточную ДНК вириона /частицы Дэйна/, собирали на третий, шестой и десятый день, обрабатывали протеиназой К /1мг/кг/ и додецил сульфатом натрия /1%/ и инкубировали при температуре 50°C в течение одного часа. ДНК экстрагировали равными объемами фенола, затем хлороформом, а затем осаждали при помощи ацетата аммония и пропанола. Осадок ДН растворяли и собирали на нитроцеллюлозе, используя процедуру Schleicher и Schuell/ S&S, 10 Optical Ave., Keen NH 03431, Publication №700, 1987/ и обрабатывали, как это описано в работе Southern, Y. Mol.Biol., т.98,1975.-503с. Клетки собирали, а внутриклеточную ДНК получали после лизиса клеток с использованием изотиоцианата гуанидина. С внутриклеточной ДНК работали точно так же, как внеклеточной ДНК. После осаждения ацетатом аммония и пропалом осадок внутриклеточной ДНК растворяли, расщепляли эндонуклеазой рестрикции Hind III, наносили на агарозовый гель а затем обрабатывали, как это описано у Саутерна, чтобы определить количество репликационных промежуточных, форм. Противовирусное действие соединения определяли при помощи измерения по крайней мере 100-кратного, снижения количества частиц Дэйна, попавших в культурную среду, и такого же уменьшения во внутриклеточных репликационных промежуточных материалах.

Полученные результаты приведены ниже:

Эффект цис-1-/2-/гидроксиметил/-1,3-оксатиолан-5-ил/-5-фторцитозина на продуцирование ВГВ в культурах клеток 2.2.15.

Таблица 12

Внутриклеточная ДНК ВГВ*							
Обработанное соединение /μM/	Интегрированное	Мономер	Репликационный промежуточный материал	ДНК ВГВ в культурной среде /пг/мл/++			
				День 0	День 3	День 6	День 10
A. необработанные клетки100	1,1	2,0	81	58	67	93	77
	0,9	2,3	77	89	110	100	88
	1,9	0,8	2	64	11	3	0
	1,5	1,9	1	34	19	2	0
B. необработанные клетки100	1,5	1,9	110	65	44	86	71
	1,0	2,3	67	90	120	80	82
	1,6	0,8	1	90	16	0	0
	1,0	0,7	1	74	10	0	0

*Анализ на внутриклеточную ДНК ВГВ /частицы Дэйна/ выполняли 24 часа после 10-го дня обработки.

++"Нуль" указывает на необнаруживаемый уровень концентрации ДНК ВГВ, предел чувствительности

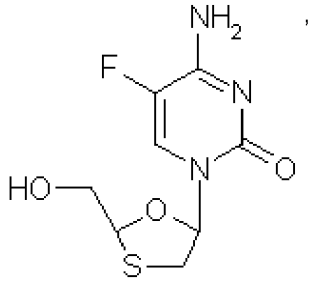
UA 54364 C2

UA 54364 C2

составлял 0,1 пг/мл.

Формула винаходу

1. Применение соединения формулы (I):



а именно, цис-1-(2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил)-5-фторцитозина или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира для получения медицинского средства для лечения или профилактики инфекции вирусом гепатита В.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что соединение формулы (I) находится в форме D-энантиомера.

3. Применение по п.1, отличающееся тем, что соединение формулы (I) находится в форме L-энантиомера.

4. Применение соединения по п.1, отличающееся тем, что соединение находится в форме фармацевтически приемлемой соли.

5. Применение соединения по п.1, отличающееся тем, что соединение находится в форме фармацевтически приемлемого сложного эфира.

6. Применение по любому из предшествующих пунктов 1-5, отличающееся тем, что указанное лекарственное средство находится в форме единичной дозы.

7. Применение по п.6, отличающееся тем, что единичная доза содержит от 10 до 1500 мг соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира.

8. Применение соединения по п.7, отличающееся тем, что соединение находится в форме фармацевтически приемлемой соли.

9. Применение соединения по п.7, отличающееся тем, что соединение находится в форме фармацевтически приемлемого сложного эфира.

10. Применение по пп. 6-9, отличающееся тем, что указанная единичная доза имеет форму таблетки или капсулы.

11. Способ лечения человека, инфицированного вирусом гепатита В, включающий применение эффективного для лечения гепатита В количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира.

12. Способ по п.11, отличающийся тем, что указанное соединение формулы (I) находится в форме D-энантиомера.

13. Способ по п.11, отличающийся тем, что соединение формулы (I) находится в форме L-энантиомера.

14. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента, инфицированного вирусом гепатита В, включающая эффективное количество соединения по п. 1 или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

15. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента, инфицированного вирусом гепатита В, включающая эффективное количество L-энантиомера цис-1-(2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил)-5-фторцитозина или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

16. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента, инфицированного вирусом гепатита В, включающая эффективное количество D-энантиомера цис-1-(2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил)-5-фторцитозина или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира вместе с фармацевтически приемлемым носителем или разбавителем.

17. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента, инфицированного вирусом гепатита В, включающая эффективное количество соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира в комбинации с одним или несколькими другими эффективными антивирусными агентами.

18. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента, инфицированного вирусом гепатита В, включающая эффективное количество L-энантиомера цис-1-(2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил)-5-фторцитозина или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира в комбинации с одним или несколькими другими эффективными антивирусными агентами.

19. Фармацевтическая композиция для лечения или профилактики пациента, инфицированного вирусом гепатита В, включающая эффективное количество D-энантиомера цис-1-(2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил)-5-фторцитозина или его фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира в комбинации с одним или несколькими другими эффективными антивирусными агентами.

20. Применение L-энантиомера цис-1-(2-(гидроксиметил)-1,3-оксатиолан-5-ил)-5-фторцитозина или его

UA 54364 C2

UA 54364 C2

фармацевтически приемлемой соли или сложного эфира в изолированной форме для лечения или профилактики инфекции вирусом гепатита В.

Офіційний бюлетень "Промислоава власність". Книга 1 "Винаходи, корисні моделі, топографії інтегральних мікросхем", 2003, N 3, 15.03.2003. Державний департамент інтелектуальної власності Міністерства освіти і науки України.

UA 54364 C2

UA 54364 C2