

(19)



(10)

LT 4619 B

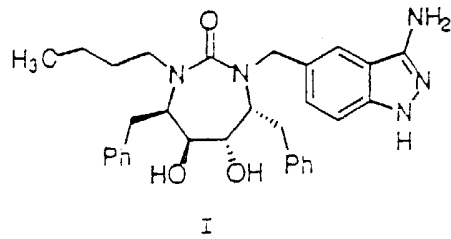
(12)

PATENTO APRAŠYMAS

- (11) Patent numeris: **4619**
- (51) Int. Cl.⁶: **CO7D 403/06**
A61K 31/55
- (21) Paraiškos numeris: **99-045**
- (22) Paraiškos padavimo data: **1999 05 03**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **1999 09 27**
- (45) Patent paskelbimo data: **2000 02 25**
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/US97/20036**
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **1997 11 04**
- (85) Nacionalinės procedūros pradžia: **1999 05 03**
- (31, 32, 33) Prioritetas: **747103, 1996 11 08, US**
029746, 1996 11 08, US
- (72) Išradėjas:
James David Rodgers, US
Patrick Yuk-Sun Lam, US
- (73) Patent savininkas:
DUPONT PHARMACEUTICALS COMPANY,
Chestnut Run Plaza, 974 Centre Road, Wilmington, Delaware, US
- (74) Patentinis patikėtinis:
Reda Žabolienė, 7, UAB "Metida", Pilies g. 8/1-2, 2600 MTP Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
(4R,5S,6S,7R)-heksahidro-1-[5-(3-aminoinazol)metil]-3-butil-5, 6-dihidroksi-4,7-bis[fenilmetil]-2H-1,3-diazepin-2-onas, jo gavimas ir jo kaip ŽIV proteazės inhibitoriaus panaudojimas
- (57) Referatas:

Šis išradimas yra susijęs su (I) formulės junginiais, jų farmaciškai tinkamomis druskomis arba jų provaisto formomis, kurios yra tinkamos naudoti kaip ŽIV proteazės inhibitoriai, su farmacinėmis kompozicijomis ir diagnostiniais rinkiniais, į kuriuos įeina šie junginiai, ir su jų panaudojimu virusinės infekcijos gydymui arba kaip standartų bei reagentų bandymams.



IŠRADIMO SRITIS

Šis išradimas pagrindinai yra susijęs su 1-(3-aminoindazol-5-il)-3-butil-cikliniu karbamidu, kuris yra tinkamas kaip ŽIV proteazės inhibitorius, su farmacinėmis kompozicijomis ir diagnostiniais rinkiniais, į kuriuos įeina šis karbamidas, ir su jo panaudojimo būdais virusinių infekcijų gydymui arba kaip standartų bei reagentų tyrimams.

IŠRADIMO KILMĖ

Du atskiri retrovirusai - žmogaus imunodeficito virusas (ŽIV) 1 tipo (ŽIV-1) arba 2 tipo (ŽIV-2) - buvo etiologiškai susieti su imunosupresine liga - įgytuoju imunodeficito sindromu (AIDS). ŽIV seropozityvūs individai iš pradžių neturi ligos požymių, tačiau jiems paprastai išsivysto su AIDS susijęs kompleksas (ARC), po kurio seka AIDS. Ligos paveiktiems individams labai smarkiai slopinamas imunitetas, ir tai nulemia išsekimą, o galiausiai ir fatališką savalaikę infekciją.

AIDS liga yra ŽIV-1 arba ŽIV-2 viruso veiklos galutinis rezultatas, atsirandantis po viruso sudėtingo gyvenimo ciklo. Virusų gyvenimo ciklas prasideda prisijungus virusui prie žmogaus šeiminių T-4 limfocitinių imuninių ląstelių per glikoproteino, esančio ant viruso apsauginio apvalkalo paviršiaus, ryšį su CD4 glikoproteinu ant limfocito ląstelės. Kai prisijungimas įvyksta, virusas nusimeta savo glikoproteininį apvalkalą, įsiskverbia į šeiminių ląstelių membraną ir atidengia jos RNR. Virusų fermentas - atvirkštinė transkriptazė - nukreipia RNR transkripcijos procesą į viengrandę DNR. Virusinė RNR degraduojama ir sukuriami antroji DNR grandinė. Ši

dvigrandė DNR integruojama į žmogaus ląstelės genus, ir šie genai naudojami ląstelės reprodukcijai.

Šiuo atveju žmogaus ląstelė vykdo reprodukcijos procesą, panaudodama savo RNR polimerazę integruotos DNR transkribavimui į virusinę RNR. Virusinė RNR transliuojama į prekursoriaus *gag-pol* sulietą poliproteiną. Tada šį poliproteiną skaldo ŽIV proteazės fermentas, ir gaunami subrendę virusiniai baltymai. Taigi, ŽIV proteazė yra atsakinga už reguliavimą kaskados skaldymų, kurie atveda į virusinės dalelės subrendimą į virusą, kuris turi pilną infekcijos gebą.

Tipiškas žmogaus imuninės sistemos atsakas, naikinantis įsiskverbusį virusą, yra apsunkinamas, nes didžioji dalis viruso gyvenimo ciklo praeina latentinėje būsenoje imuninės ląstelės viduje. Be to, viruso atvirkštinė transkriptazė - fermentas, naudojamas naujos virusinės dalelės sudarymui, - nėra labai specifinė ir sukelia transkripcijos klaidas, kurios duoda pastoviai besikeičiančius glikoproteinus ant viruso apsauginio apvalkalo paviršiaus. Šio specifiškumo stoka sumažina imuninės sistemos efektyvumą, kadangi antikūnai, specifiskai gaminami prieš vieną glikoproteiną, gali būti nenaudingi prieš kitą glikoproteiną, ir taip sumažėja antikūnų, galinčių kovoti su virusu, skaičius. Virusas toliau reprodukuojamas, o imuninės sistemos atsakas vis silpnėja. Pagaliau ŽIV visiškai užvaldo organizmo imuninę sistemą, suteikdamas galimybę įsigalėti savalaikėms infekcijoms, ir nenaudojant priešvirusinių agentų, imunomoduliatorių arba ir vieno ir kito, gali įvykti mirtis.

Viruso gyvenimo cikle yra mažiausiai trys kritiniai taškai, kurie buvo identifikuoti kaip galimi priešvirusinių vaistų taikiniai: (1) pradinis viruso prisijungimas prie T-4 limfocito arba makrofago vietos, (2) virusinės RNR transkripcija į virusinę DNR (atvirkštinė transkriptazė, AT) ir (3) naujos virusinės dalelės susirinkimas reprodukcijos metu (pvz., ŽIV asparto rūgšties proteazė arba ŽIV proteazė).

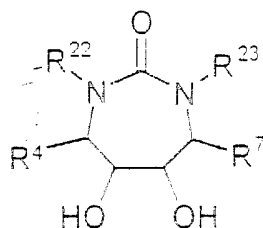
Retrovirusų genomai koduoja proteazę, kuri yra atsakinga už vieno arba daugiau poliproteinų pirmtakų, tokių kaip *pol* ir *gag* genų produktai, proteolitinį brendimą. Žr. Wellink, *Arch. Virol.* 98, 1 (1988). Retrovirusinės proteazės dažniausiai subrandina *gag* pirmtaką į pagrindinius baltymus, ir

taip pat subrandina *pol* pirtaką į atvirkštinę transkriptazę ir retrovirusinę proteazę.

Infekuojančio viruso susiformavimui reikalingas tikslus pirtako poliproteinų subrandinimas retrovirusinės proteazės pagalba. Buvo parodyta, kad *in vitro* mutagenezė, kurioje produkuojamas turintis proteazės trūkumą virusas, duoda nesubrendusių pagrindinių formų produkciją, kurios nėra infekciškos. Žr. Crawford et al., *J. Virol.* **53**, 899 (1985); Katoh et al., *Virology* **145**, 280 (1985). Todėl retrovirusinės proteazės inhibicija yra patrauklus taikinyš priešvirusinei terapijai. Žr. Mitsuya, *Nature* **325**, 775 (1987).

Galimybė inhibuoti virusinę proteazę sukuria būdą blokuoti viruso replikaciją, taigi ir virusinių ligų, tokių kaip AIDS gydymo būdą, kuris gali turėti mažiau pašalinių poveikių, būti efektyvesnis ir mažiau rezistentiškas vaistams, lyginant su dabartiniais gydymo būdais. Dėl to šiuo metu prekyboje yra trys ŽIV proteazės inhibitoriai - Roche sakvinaviras, Abbott'o ritonaviras ir Merck'o indinaviras, ir atliekami keletas potencialių proteazės inhibitorių klinikiniai tyrimai, pvz. Vertex VX-478, Agouron'o nelfinaviro, Japan Energy KNI-272 ir Ciba-Geigy CGP 61755.

Remiantis duomenimis apie šiuo metu prekyboje esančius ir klinikoje tiriamus proteazių inhibitorius, buvo ištirta daug įvairių junginių, galinčių būti ŽIV proteazės inhibitoriais. Viena struktūra - cikliniai karbamidai - atkreipė ypatingą dėmesį. Pavyzdžiui, PCT paraiškose Nr. WO94/19329 ir WO93/07128 Lam ir kt. pagrindinai aprašo ciklinius karbamidus, kurių formulė:



ir tokių karbamidų gavimo būdus. Nors šio išradimo junginiai patenka į Lam ir kt. aprašymą, jie nėra konkretizuoti.

Kiti cikliniai karbamidai aprašyti Lam et al, *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 3514-3525. Nors šiame straipsnyje yra aprašyti įvairūs cikliniai karbamidai, imidazolmetilo grupę turintys junginiai nėra aprašyti.

Net ir turint gana sėkmingus dabartinius proteazės inhibitorius, buvo rasta, kad ŽIV pacientai gali pasidaryti rezistentiškai atskiram proteazės inhibitoriui. Taigi, tolimesnei kovai su ŽIV infekcija yra pageidautina sukurti papildomus proteazės inhibitorius.

IŠRADIMO SANTRAUKA

Taigi, vienas šio išradimo tikslas yra pateikti naujus proteazės inhibitorius.

Kitas šio išradimo tikslas yra pateikti farmacinės kompozicijas, pasižyminčias proteazės inhibavimo aktyvumu, kuriose yra farmaciškai tinkamas nešiklis ir bent vieno iš šio išradimo junginių arba jo farmaciškai tinkamos druskos, arba jo provaisto formos terapiškai efektyvus kiekis.

Dar kitas šio išradimo tikslas yra pateikti naują ŽIV infekcijos gydymo būdą, kuris apima bent vieno iš šio išradimo junginių arba jo farmaciškai tinkamos druskos, arba jo provaisto formos terapiškai efektyvaus kiekio skyrimą tokio gydymo reikalingam subjektui.

Dar kitas šio išradimo tikslas yra pateikti naują ŽIV infekcijos gydymo būdą, kuris apima (a) vieno iš šio išradimo junginių ir (b) vieno arba daugiau junginių, pasirinktų iš grupės, susidedančios iš ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitorių ir ŽIV proteazės inhibitorių, terapiškai efektyvaus derinio skyrimą tokio gydymo reikalingam subjektui.

Dar kitas šio išradimo tikslas yra pateikti ŽIV inhibavimo kūno skysčio mėginyje būdą, kuris apima kūno skysčio mėginio paveikimą šio išradimo junginio efektyviu kiekiu.

Dar kitas šio išradimo tikslas yra pateikti rinkinį arba talpą, kurioje yra bent vieno iš šio išradimo junginių toks kiekis, kuris yra efektyvus naudoti kaip standartas arba reagentas teste arba bandyme potencialaus vaisto, galinčio inhibuoti ŽIV proteazę, ŽIV augimą arba ir vieną ir kitą, nustatymui.

Šiuos ir kitus tikslus, kurie paaiškės iš toliau duodamo smulkaus aprašymo, išradėjai pasiekė atradę, kad I formulės:

(b) bent vieno junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitorių ir ŽIV proteazės inhibitorių, derinio terapiškai efektyvaus kiekio skyrimą tokio gydymo reikalingam subjektui.

Kitame tinkamiausiame įgyvendinimo variante atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra nukleozidinis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius.

Dar labiau tinkamame įgyvendinimo variante nukleozidinis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra pasirinktas iš AZT, 3TC, ddI, ddC ir d4T, o proteazės inhibitorius yra pasirinktas iš sakvinaviro, ritonaviro, indinaviro, VX-478, nelfinaviro, KNI-272, CGP-61755 ir U-103017.

Kitame dar labiau tinkamame įgyvendinimo variante nukleozidinis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra pasirinktas iš AZT ir 3TC, o proteazės inhibitorius yra pasirinktas iš sakvinaviro, ritonaviro ir indinaviro.

Dar labiau tinkamame įgyvendinimo variante nukleozidinis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra AZT.

Kitame dar labiau tinkamame įgyvendinimo variante proteazės inhibitorius yra indinaviras.

Penktajame šio išradimo įgyvendinimo variante pateikiamas farmacinis rinkinys, tinkamas gydyti ŽIV infekcijai, kuris susideda iš terapiškai efektyvaus kiekio:

(a) I formulės junginio; ir

(b) bent vieno junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitorių ir ŽIV proteazės inhibitorių, esančių vienoje arba keliose steriliose talpose.

Šeštajame šio išradimo įgyvendinimo variante pateikiamas naujas ŽIV , eančio kūno skysčio mėginyje, inhibavimo būdas, kuris apima kūno skysčio mėginio apdorojimą I formulės junginio efektyviu kiekiu.

Septintajame šio išradimo įgyvendinimo variante pateikiamas naujas rinkinys arba talpa, kurioje yra toks I formulės junginio kiekis, kuris yra efektyvus naudoti kaip standartas arba kaip reagentas teste arba bandyme,

nustatant potencialaus vaisto sugebėjimą inhibuoti ŽIV proteazę, ŽIV augimą arba ir vieną, ir kitą.

APIBRĖŽIMAI

Toliau duodami čia naudojami terminai ir išsireiškimai turi nurodytas reikšmes. Reikia turėti omenyje, kad šio išradimo junginiai turi asimetriškai pakeistą anglies atomą ir jie gali būti išskirti kaip optiškai aktyvūs arba kaip raceminės formos. Specialistams žinoma kaip pagaminti optiškai aktyvias formas, pavyzdžiui, perskiriant racemines formas arba sintezės iš optiškai aktyvių pradinių medžiagų būdu. Jeigu konkreči stereochemija arba izomero forma nenurodyta, turimos omenyje visos chiralinės, diastereomerinės, raceminės formos ir visos geometrinių izomerų formos.

Čia naudojamas terminas "ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitorius" reiškia ir nukleozidinius, ir nenukležozidinius ŽIV atvirkštinės transkriptazės (AT) inhibitorius. Nukleozidinių AT inhibitorių pavyzdžiais yra (bet jais neapsiribojama) AZT, ddC, ddI, d4T ir 3TC. Nenukležozidinių AT inhibitorių pavyzdžiais yra (bet jais neapsiribojama) viviradinas (Pharmacia and Upjohn U90152S), TIBO dariniai, BI-RG-587, nevirapinas, L-697,661, LY 73497 ir Ro 18,893 (Roche).

Čia naudojamas terminas "ŽIV proteazės inhibitorius" reiškia junginius, kurie inhibuoja ŽIV proteazę. Jų pavyzdžiais yra (bet jais neapsiribojama) sakvinaviras (Roche, Ro31-8959), ritonaviras (Abbott, ABT-538), indinaviras (Merck, MK-639), VX-478 (Vertex/Glaxo Wellcome), nelfinaviras (Agouron, AG-1343), KNI-272 (Japan Energy), CGP-61755 (Ciba-Geigy) ir U-103017 (Pharmacia and Upjohn). Papildomais pavyzdžiais yra ciklinės proteazės inhibitoriai, aprašyti WO 93/07128, WO 94/19329, WO 94/22840 ir PCT paraiškoje Nr. US96/03426.

Čia naudojamas terminas "farmaciškai tinkamos druskos" reiškia išradime aprašytų junginių darinius, kai pagrindinis junginys yra modifikuojamas, pagaminant jo druskas su rūgštimis arba su bazėmis. Farmaciškai tinkamų druskų pavyzdžiais yra (bet jais neapsiribojama) bazinių

liekanų, tokių kaip aminogrupė, mineralinių arba organinių rūgščių druskos; rūgštinių liekanų, tokių kaip karboksirūgšties grupė, šarminių metalų arba organinės druskos; ir pan. Farmaciškai tinkamos druskos apima įprastas netoksiškas druskas arba gautas pagrindinio junginio ketvirtines amonio druskas, pavyzdžiui, iš netoksiškų neorganinių arba organinių rūgščių. Pavyzdžiui, tokios įprastos netoksiškos druskos yra druskos, gautos iš neorganinių rūgščių, kaip antai vandenilio chlorido, vandenilio bromido, sulfato, sulfamo, fosfato, nitrato ir pan.; ir druskos, pagamintos iš organinių rūgščių, kaip antai acto, propiono, gintaro, glikolio, stearino, pieno, obuolių, vyno, citrinos, askorbo, pamo, maleino, hidroksimaleino, fenilacto, glutamo, benzenkarboksirūgšties, salicilo, sulfanilo, 2-acetoksibenzenkarboksirūgšties, fumaro, toluensulfonrūgšties, metansulfonrūgšties, etandisulfonrūgšties, oksalo, izetiono ir pan. rūgščių.

Šio išradimo junginių farmaciškai tinkamos druskos gali būti susintetintos iš pagrindinio junginio, kuriame yra bazinė arba rūgštinė liekana, įprastais cheminiais būdais. Paprastai tokios druskos gali būti pagaminamos veikiant šių junginių laisvos rūgšties arba bazės formas atitinkamos bazės arba rūgšties stochiometrinio kiekiu vandenyje arba organiniame tirpiklyje, arba jų abiejų mišinyje; paprastai tinamiausios yra nevandeninės terpės, kaip antai eteris, etilacetatas, etanolis, izopropanolis arba acetonitrilas. Tinkamų druskų sąrašas yra randamas *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, p.1418, kuris čia duodamas kaip literatūros šaltinis.

Čia naudojama frazė "farmaciškai tinkami" reiškia tokius junginius, medžiagas, kompozicijas ir/arba dozuotas formas, kurios pagal medicininį sprendimą yra tinkamos naudoti sąlytyje su žmonių arba gyvūnų audiniais ir nerodo perdėto toksiškumo, suerzinimo, neduoda alerginio atsako arba kitokių problemų bei komplikacijų, ir atitinka priimtina naudos/rizikos santykį.

Laikoma, kad "provaistai" apima bet kokius kovalentiškai prijungtus nešiklius, kurie atpalaiduoja šio išradimo veiklų pagrindinį I arba kitos formulės šio išradimo junginį arba junginius *in vivo*, kai toks provaistas yra duodamas žinduoliui. Šio išradimo junginio, pavyzdžiui, (I) formulės junginio,

provaistai yra pagaminami modifikuojant junginyje esančias funkcinės grupės taip, kad tokios modifikacijos yra suskaldomos arba įprastomis manipuliacijomis, arba *in vivo* iki pagrindinio junginio. Provaistais yra šio išradimo junginiai, kuriuose hidroksilo arba aminogrupė yra prijungta prie kokios nors grupės taip, kad kai tokį provaistą gauna žinduolis, jis suskyla, atitinkamai susidarant laisvai hidroksilo arba aminogrupei. Provaistų pavyzdžiais yra (bet jais neapsiribojama) I formulės junginio alkoholinių ir amino funkcinų grupių acetato, formiato arba benzoato dariniai; I formulės junginio alkoholinių funkcinų grupių fosfato esteriai, dimetilglicino esteriai, aminoalkilbenzilo esteriai, aminoalkilo esteriai ir karboksialkilo esteriai; ir pan. Papildomais pavyzdžiais yra junginiai, kuriuose sujungiamos I formulės junginių dvi hidroksilo grupės, susidarant epoksidui; $-\text{OCH}_2\text{SCH}_2\text{O}-$; $-\text{OC}(=\text{O})\text{O}-$; $-\text{OCH}_2\text{O}-$; $-\text{OC}(=\text{S})\text{O}-$; $-\text{OC}(=\text{O})\text{C}(=\text{O})\text{O}-$; $-\text{OC}(\text{CH}_3)_2\text{O}-$; $-\text{OC}((\text{CH}_2)_3\text{NH}_2)(\text{CH}_3)\text{O}-$; $-\text{OC}(\text{OCH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{O}-$; arba $-\text{OS}(=\text{O})\text{O}-$.

Laikoma, kad "stabilus junginys" ir "stabili struktūra" reiškia junginį, kuris yra pakankamai atsparus, kad išlaikytų išskyrimą iš reakcijos mišinio iki tinkamo grynumo laipsnio ir pagaminimą efektyvaus terapinio agento kompozicijos. Šis išradimas apima tik stabilus junginius.

Terminas "pakeistas" reiškia, kad vienas arba daugiau vandenilių prie išsireiškime, kuriame naudojamas "pakeistas", nurodyto atomo yra pakeisti kokiomis nors iš nurodytų grupių rinkinio su sąlyga, kad neviršijamas nurodyto atomo normalus valentingumas ir kad toks pakeitimas duoda stabilų junginį. Jeigu pakaitas yra ketogrupė (t.y. $=\text{O}$), tada prie to atomo yra pakeisti 2 vandeniliai.

"Terapiškai efektyvus kiekis" reiškia tokį šio išradimo junginio kiekį arba junginių derinio kiekį, kuris apibrėžiamas kaip efektyviai inhibuojantis subjekto ŽIV infekciją arba gydantis subjekto ŽIV infekcijos simptomus. Pageldautina, kai junginių derinys būtų sinergetinis derinys. Sinergetinis efektas, kaip aprašyta, pavyzdžiui, Chou and Talalay, *Adv. Enzyme Regul.* 22:27-55 (1984), yra tada, kai junginio poveikis (šiuo atveju ŽIV replikacijos inhibicija), vartojant jį derinyje, yra didesnis, nei junginių adityvinis efektas, vartojant juos kaip atskirus agentus. Paprastai sinergetinis efektas aiškiausiai

pademonstruojamas, imant mažesnes nei optimalios junginių koncentracijas. Sinergetinis efektas gali pasireikšti derinio mažesniu citotoksiškumu, padidintu priešvirusiniu poveikiu arba koku nors kitu naudingu poveikiu, lyginant su atskirais komponentais.

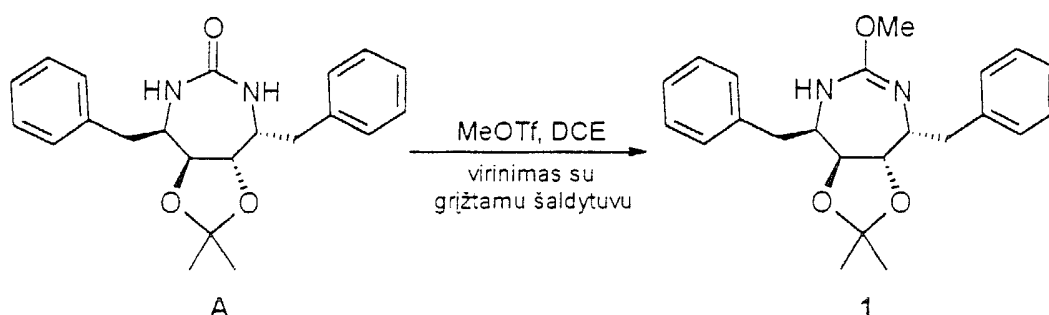
Kitos išradimo ypatybės paaiškės iš tolimesnio pavyzdinių įgyvendinimo variantų aprašymo, kurie duodami išradimo iliustracijai.

PAVYZDŽIAI

Pavyzdžiuose naudojami tokie sutrumpinimai: "°C" - Celsijaus laipsniai, "d" - dubletas, "dd" - dvigubas dubletas, "ekv" - ekvivalentas arba ekvivalentai, "g" - gramas arba gramai, "mg" - miligramas arba miligramai, "ml" - mililitras arba mililitrai, "H" - vandenilis arba vandeniliai, "val." - valanda arba valandos, "m" - multipletas, "M" - molinė koncentracija, "min." - minutė arba minutės, "MHz" - megahercas, "MS" - masių spektroskopija, "BMR" - branduolių magnetinio rezonanso spektroskopija, "t" - tripletas ir "PSC" - plonasluoksnė chromatografija.

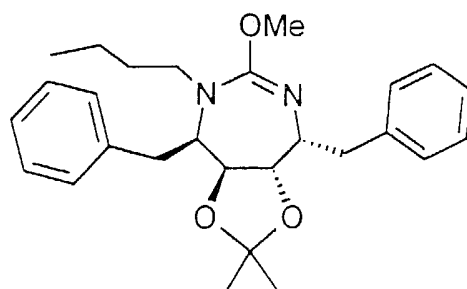
1 PAVYZDYS

(4R,5S,6S,7R)-Heksahidro-1-[5-(3-aminoindazol)metil]-3-butil-5,6-dihidroksi-4,7-bis[fenilmetil]-2H-1,3-diazapin-2-ono (I) gavimas



Junginys **A** gali būti pagamintas žinomais būdais. Pavyzdžiui, junginio **A** gavimas yra parodytas Rossano et al (*Tetr. Lett.* **1995**, 36(28), 4967, 4968), kuris duodamas kaip literatūros šaltinis, 1 schemeje. Papildomas junginio **A** gavimo būdas parodytas US patento Nr. 5,530,124, kuris duodamas kaip literatūros šaltinis, 6 pavyzdyje.

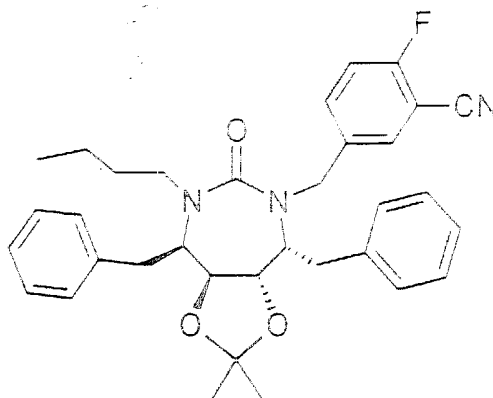
A dalis: Į junginio **A** (10,0 g; 27,3 mmol) suspensiją 1,2-dichlorethane (100 ml) pridedama metiltriflato (3,4 ml, 30 mmol). Pavirinus su grįžtamu šaldytuvu per naktį, reakcijos mišinys plaunamas sočiu NaHCO_3 , sočiu NaCl , džiovinamas (Na_2SO_4) ir nugarinamas, liekant 12,5 g geltonos alyvos. Po chromatografijos per kolonėlę (sparčiosios chromatografijos SiO_2 : 25 % EtOAc /heksanas) gaunama 7,86 g junginio **1**, kuris yra gelsva alyva, išsikristalinanti stovint (75 % išeiga). Lyd. temp. = 97-100 °C. $\text{MH}^+ = 381$.



2

B dalis: Į junginio **1** (10,0 g; 26,3 mmol) tirpalą bevandeniame DMF (30 ml) pridedama natrio hidrido (1,58 g, 65,8 mmol). Reakcijos mišinys pamaišomas kambario temperatūroje 45 min., po to sulašinamas 1-jodbutano (9,68 g, 52,6 mmol) tirpalas bevandeniame DMF (10 ml). Pabaigus lašinti, maišoma kambario temperatūroje per naktį. Šis reakcijos mišinys atšaldomas iki 0 °C ir pridedama metanolio (5 ml) natrio hidrido pertekliui suskaldyti. Mišinys paskirstomas tarp etilacetato (200 ml) ir vandens (150 ml). Organinė fazė atskiriama ir plaunama vandeniu (4x100 ml), sočiu NaCl tirpalu (100 ml) ir džiovinama natrio sulfatu. Išgryninus sparčiosios chromatografijos metodu (25 % EtOAc/heks.), gaunama n-butilizokarbamidas **2** (10,5 g, 92 % išeiga): MS (NH₃-Cl/DDIP) (M+H⁺) 437,2 (100 %); ¹H BMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) δ 7,23 (m, 10H), 4,19 (m, 3H), 3,64 (m, 1H), 3,44 (s, 3H), 3,36 (m, 1H), 3,02 (m, 2H), 2,76 (m, 2H), 2,04 (m, 1H), 1,52 (s, 3H), 1,49 (s, 3H), 1,21 (m, 4H), 0,82 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

C dalis: (4R,5S,6S,7R)-Heksahidro-1-[(3-ciano-4-fluorfenil)metil]-5,6-O-izopropiliden-4,7-bis-(4-fenilmetil)-3-butil-2H-1,3-diazapin-2-onas (**3**).



3

I junginio **2** (5,0 g, 11,5 mmol) tirpalą acetonitrile (40 ml) pridedama 4-fluor-3-cianobenzilo bromido (3,68 g; 17,25 mmol). Reakcijos mišinys virinamas su grįžtamu šaldytuvu per naktį. Sumažintame slėgyje nugarinus tirpiklį, liekana gryninama naudojant sparčiąją chromatografiją (35 % EtOAc/heks.), ir gaunamas ciklinis karbamidas **3**, kuris yra balta kieta medžiaga (4,5 g, 71 % išeiga): MS (NH₃-Cl/DDIP) ($M+H^+$) 556,3 (100 %); ¹H BMR (300 MHz, CDCl₃, 25 °C) δ 7,41 (m, 1H), 7,28 (m, 7H), 7,13 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 7,05 (t, J = 8,8 Hz, 1H), 6,95 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 4,50 (d, J = 14,0 Hz, 1H), 4,07 (m, 2H), 3,70 (m, 3H), 3,44 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 2,90 (m, 4H), 2,12 (m, 1H), 1,50 (s, 6H), 1,26 (m, 4H), 0,83 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

D dalis: (4R,5S,6S,7R)-Heksahidro-1-[5-(3-aminoindazol)metil]-3-butil-5,6-dihidroksi-4,7-bis-[fenilmetil]-2H-1,3-diazapin-2-onas (**I**).

I junginio **3** (4,5 g, 8,11 mmol) tirpalą n-butanolyje (20 ml) pridedama hidrazinhidrato (0,81 g, 16,2 mmol). Mišinys virinamas su grįžtamu šaldytuvu 6 val. Tirpiklis ir hidrazino perteklius nugarinami sumažintame slėgyje. Liekana ištirpinama bevandenyje metanolyje (20 ml), po to pridedama 4M HCl dioksane (2 ml). Reakcijos mišinys maišomas kambario temperatūroje 2 val. Nugarinamas metanolis, ir liekana paskirstoma tarp etilacetato (80 ml) ir rūgščiojo natrio karbonato (sotus tirpalas) (50 ml). Organinė fazė atskiriama, plaunama vandeniu (2x50 ml) ir džiovinama natrio sulfatu (bevandenis). Išgryninus sparčiosios chromatografijos metodu gaunamas **I** (3,0 g, 72 % išeiga), kuris yra balta kieta medžiaga: lyd. temp. 129-131 °C; MS (NH₃-Cl/DDIP) ($M+H^+$) 528,3 (100 %); DSGMS išskaičiuota pagal C₃₁H₃₇N₃O₃+1 528,2975, rasta 528,2958; ¹H BMR (300 MHz, CD₃OD, 25 °C) δ 7,19 (m, 12H), 6,98 (d, J = 1,5 Hz, 2H), 4,74 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 3,85 (dd, J = 10,25, 4,76 Hz, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,56 (m, 4H), 3,15 (m, 2H), 2,96 (m, 3H), 2,07 (m, 2H), 1,37 (m, 2H), 1,22 (m, 2H), 0,84 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

I formulės junginiai pasižymi ŽIV proteazę inhibuojančiu aktyvumu ir todėl yra tinkami kaip priešvirusiniai agentai ŽIV infekcijos ir su ja susijusių ligų gydymui. I formulės junginiai pasižymi ŽIV proteazę inhibuojančiu aktyvumu ir yra veiksmingi kaip ŽIV augimo inhibitoriai. Šio išradimo junginių sugebėjimas inhibuoti virusų augimą arba infektyvumą yra pademonstruotas standartiniame virusų augimo arba infektyvumo teste, pavyzdžiui, naudojant žemiau aprašytą testą.

Šio išradimo I formulės junginiai taip pat tinka ŽIV inhibavimui *ex vivo* mėginyje, kuriame yra ŽIV arba kuris turėjo sąlytį su ŽIV. Taigi šio išradimo junginiai gali būti naudojami ŽIV inhibavimui organizmo skysčio mėginyje (pavyzdžiui, serumo arba sėklos mėginyje), kuriame yra ŽIV, kuris įtariamas turintis ŽIV arba kuris turėjo sąlytį su ŽIV.

Šiame išradime pateikiami junginiai taip pat yra tinkami naudoti kaip standartiniai arba etaloniniai junginiai testuose arba tyrimuose, nustatant kokio nors agento sugebėjimą inhibuoti viruso klonų replikaciją ir/arba ŽIV proteazę, pavyzdžiui, vaistų paieškos programose. Taigi šio išradimo junginiai gali būti naudojami kaip kontrolinis arba etaloninis junginys tokiuose bandymuose ir kaip kokybės kontrolės standartas. Šio išradimo junginiai gali būti pateikiami komerciniuose rinkiniuose arba talpose, skirtose panaudoti kaip toks standartas arba etaloninis junginys.

Kadangi šio išradimo junginiai pasižymi specifiškumu ŽIV proteazei, šio išradimo junginiai taip pat gali būti tinkami kaip diagnostiniai reagentai diagnostiniuose testuose ŽIV proteazei aptikti. Taigi, šios proteazės aktyvumo inhibavimas teste (tokiame kaip aprašyta šiame išradime) šio išradimo junginiu parodys, kad yra ŽIV proteazės ir ŽIV viruso.

Čia naudojami sutrumpinimai "μg" reiškia mikrogramą, "mg" - miligramą, "g" - gramą, "μl" - mikrolitrą, "ml" - mililitrą, "l" - litrą, "nM" - nanomolinę, "μM" - mikromolinę, "mM" - milimolinę, "M" - molinę koncentracijas, o "nm" - nanometrą. "Sigma" reiškia St. Louis, MO Sigma-Aldrich korporaciją.

DNR plazmidės ir *in vitro* RNR transkriptai:

pDAB 72 plazmidė, turinti ir gag, ir pol BH10 (bp 113-1816) sekas, klonuota į PTZ 19R, buvo pagaminta pagal Erickson-Viitanen et al. *AIDS Research and Human Retroviruses* **1989**, 5, 577. Prieš generuojant į *in vitro* RNR transkriptus ši plazmidė buvo linearizuota Bam HI, naudojant Riboprobe Gemini sistemos II rinkinį (Promega) su T7 RNR polimeraze. Sintezuota RNR buvo gryninama veikiant RNazės neturinčia DNAze (Promega), ekstrahuojant fenoliu-chloroformu ir nusodinant etanoliu. RNR transkriptai buvo ištirpinami vandenyje ir laikomi -70 °C temperatūroje. RNR koncentracija nustatoma iš A₂₅₀.

Mėginiai:

Po sintezės Applied Biosystems (Foster City, CA) DNR sintezatoriumi, prijungiant biotiną prie oligonukleotido 5' galo, panaudojant Cocuzza, *Tet. Lett.* **1989**, 30, 6287 biotin-fosforamiditinį reagentą, biotinilinti tiriamieji mėginiai buvo gryninami didelio slėgio skysčių chromatografijos (HPLC) metodu. gag biotinilintas tiriamasis mėginys (5'-biotin-CTAGCTCCCTGCTTGCCCATACTA 3') buvo komplementarus HXB2 889-912 nukleotidams, o pol biotinilintas tiriamasis mėginys (5'-biotin-CCCTATCATTTTTGGTTTCCAT 3') buvo komplementarus HXB2 2374-2395 nukleotidams. Su šarmine fosfataze konjuguoti oligonukleotidai, naudojami kaip kontroliniai mėginiai, buvo pagaminti panaudojant Syngene (San Diego, CA), pol kontrolinis mėginys (5' CTGTCTTACTTTGATAAACCTC 3') buvo komplementarus HXB2 2403-2425 nukleotidams, gag kontrolinis mėginys (5' CCCAGTATTTGTCTACAGCCTTGT 3') buvo komplementarus HXB2 950-973 nukleotidams. Visos nukleotidų padėtys yra tokios kaip Genbank Genetic Sequence Data Bank'e, kas buvo nustatyta panaudojant Genetics Computer Group Sequence Analysis programinį paketą (Devereau *Nucleic Acids Research* **1984**, 12, 387). Kontroliniai mėginiai buvo pagaminti kaip 0,5 μM ruošiniai 2 x SSC (0,3 M NaCl, 0,03 M natrio citrato), 0,05 M Tris pH 8,8, 1

mg/ml BSA. Biotinilinti tiriamieji mėginiai buvo pagaminti kaip 100 μ M ruošiniai vandenyje.

Streptavidinu padengtos plokštelės:

Streptavidinu padengtos plokštelės buvo gautos iš Du Pont Biotechnology Systems (Boston, MA).

Lastelės ir virusu ruošiniai:

MT-2 ir MT-4 ląstelės buvo laikomos RPMI 1640, į kurią pridėta 5 % fetalinio veršiuko serumo (FCS) MT-2 ląstelių atveju arba 10 % FCS MT-4 ląstelių atveju, 2 mM L-glutamino ir 50 μ g/ml gentamicino (visi reagentai iš Gibco). ŽIV-1 RF buvo dauginamas MT-4 ląstelėse toje pačioje terpėje. Virusų ruošiniai buvo pagaminti, praėjus maždaug 10 dienų po MT-4 ląstelių ūmios infekcijos, ir laikomi kaip alikvotos -70 °C temperatūroje. ŽIV-1 (RF) ruošinių infekcijos titrai buvo $1-3 \times 10^7$ PFU (plokštelės suformuojančių vienetų)/ml, kurie buvo išmatuoti, panaudojant plokštelių testą su MT-2 ląstelėmis (žr. toliau). Kiekviena panaudota infekcijai viruso ruošinio alikvuota buvo atšildoma tik vieną kartą.

Priešvirusinio efektyvumo įvertinimui ląstelės, kurios bus infekuojamos, buvo perkultivuotos vieną dieną prieš infekciją. Infekcijos dieną ląstelės buvo resuspenduotos imant 5×10^5 ląstelių/ml RPMI 1640, 5 % FCS turinės infekcijos atveju arba imant 2×10^6 ląstelių/ml Dulbecco modifikuotoje Eagles terpėje su 5 % FCS mikrotitro plokštelėms infekuoti. Pridedama viruso ir kultivuojama 3 dienas 37 °C temperatūroje.

ŽIV RNR tyrimas:

Ląstelių lizatai arba išgryninta RNR 3M arba 5M GED buvo sumaišyta su 5M GED ir tiriamuoju mėginiu, gaunant 3M galutinę guanidinio izotiocianato koncentraciją ir 30 nM galutinę biotino oligonukleotido koncentraciją. Hibridizacija buvo vykdoma uždaroje U pavidalo dugną turinčiose 96 duobučių audinių kultūrų plokštelėse (Nunc arba Costar) 16-20 val. 37 °C temperatūroje. RNR hibridizacijos reakcijų mišiniai buvo praskiesti

3 kartus dejonizuotu vandeniu iki 1M galutinės guanidinio izotiocianato koncentracijos ir paimtos alikvotos (150 µl) supilstytos į streptavidinu padengtas mikrotitro plokštelių duobutes. Tiriamojo mėginio ir tiriamojo mėginio-RNR hibrido susirišimui su imobilizuotu streptavidinu buvo leidžiama vykti 2 val. kambario temperatūroje, po to plokštelės buvo plaunamos 6 kartus DuPont ELISA plokštelių plovimo buferiu (fosfatinis buferis su NaCl (PBS), 0,05 % Tween 20). Antroji kontrolinio mėginio hibridizacija su imobilizuotu tiriamojo mėginio ir hibridizuotos tiriamosios RNR kompleksu buvo vykdoma perplautoje, streptavidinu padengtoje duobutėje, pridedant 120 µl hibridizacijos mišinio, kuriame yra 4xSSC, 0,66 % Triton'o X 100, 6,66 % dejonizuoto formamido, 1 mg/ml BSA ir 5 nM kontrolinio mėginio. Po 1 val. hibridizacijos 37 °C temperatūroje plokštelės vėl plaunamos 6 kartus. Imobilizuotos šarminės fosfatazės aktyvumas buvo nustatomas pridedant 100 µl 0,2 mM 4-metilumbeliferilfosfato (MUBP, JBL Scientific) š buferyje (2,5 M dietanolaminas, pH 8,9 (JBL Scientific), 10 mM MgCl₂, 5 mM cinko acetato dihidratas ir 5 mM N-hidroksietiltilendiamintriacto rūgštis). Plokštelės buvo inkubuojamos 37 °C temperatūroje. Fluorescencija matuojama esant 450 nm bangos ilgiui mikroplokštelių fluorimetru (Dynateck), žadinant 365 nm bangos ilgio šviesa.

Mikroplokštelių testu paremtas junginio įvertinimas bandyme su ŽIV-1 infekuotomis MT-2 ląstelėmis

Tiriamieji junginiai buvo ištirpinti DMSO ir praskiesta kultivavimo terpė iki dvigubai didesnės už testuojamą koncentracijos (maksimali DMSO koncentracija yra 2 %). Po to junginio trigubi serijiniai praskiedimai kultivavimo terpėje atliekami tiesiogiai mikrotitro plokštelėse (Nunc) su U pavidalo dugnais. Praskiedus junginį, pridedama MT-2 ląstelių (50 µl), kad galutinė koncentracija būtų 5×10^5 ląstelių/ml (1×10^5 ląstelių/duobutėje). Ląstelės inkubuojamos su junginiais 30 minučių 37 °C temperatūroje CO₂ inkubatoriuje. Priešvirusinio poveikio įvertinimui į kultivavimo duobutes, kuriose yra ląstelės ir atitinkamai praskiesti tiriamieji junginiai, pridedama atitinkamai praskiesto ŽIV-1 (RF) viruso ruošinio (50 µl). Galutinis tūris

kiekvienoje duobutėje yra 200 μ l. Aštuonios duobutės kiekvienoje plokštelėje buvo neužkrečiamos, vietoj viruso pridedant 50 μ l terpės, o aštuonios duobutės buvo užkrečiamos nepridedant priešvirusinio junginio. Junginio toksiškumo įvertinimui buvo kultivuojamos lygiagrečios plokštelės neužkrėstos virusu.

Po 3 dienų kultivavimo 37 °C temperatūroje drėgnoje kameroje, esančioje CO₂ inkubatoriaus viduje, iš ŽIV užkrėstų plokštelių išimamas mišinys, paliekant po 25 μ l terpės duobutėje. Į kiekvienoje duobutėje esančias ląsteles ir likusią terpę pridedama 37 μ l 5M GED turinčio biotinilinto tiriamojo mėginio, kad būtų 3M GED ir 30 nm tiriamojo mėginio galutinės koncentracijos. Tiriamojo mėginio hibridizacija su ŽIV RNR ląstelių lizate buvo vykdoma toje pačioje mikroplokštelės duobutėje, naudojamoje viruso kultivavimui, užsandarinant plokštelę plokštelių sandarikliu (Costar) ir inkubuojant 16-20 val. 37 °C temperatūros inkubatoriuje. Po to į kiekvieną duobutę pridedama distiliuoto vandens, praskiedžiant hibridizacijos reakcijos mišinį tris kartus, ir šio praskiesto mišinio 150 μ l įpilama į streptavidinu padengtą mikrotitro plokštelę. ŽIV RNR kiekis nustatomas aukščiau aprašytu metodu. Norint nustatyti virusinės RNR kiekį, gautą infekcijos metu, kiekvienai mikrotitro plokštei nustatoma standartinė kreivė, gaunama pridedant žinomus pDAB 72 *in vitro* RNR transkripto kiekius į duobutes, kuriose yra lizuotos neinfekuotos ląstelės.

Norint standartizuoti viruso inokuliantą, naudojamą įvertinant junginio priešvirusinį aktyvumą, buvo pasirinkti viruso praskiedimai, kurie duoda IC₉₀ (junginio koncentracija, kurios reikia, kad ŽIV RNR kiekis sumažėtų 90 %) reikšmę 0,2 μ g/ml dideoksicitidino (ddC). IC₉₀ reikšmės kitiems priešvirusiniams junginiams, kurie yra daugiau arba mažiau veiksmingi už ddC, buvo gaunamos naudojant keletą ŽIV-1 (RF) ruošinių pagal šią metodiką. Ši viruso koncentracija atitiko $\approx 3 \times 10^5$ PFU (išmatuotą pagal plokštelių testą su MT-2 ląstelėmis) tiriamajai duobutei ir paprastai davė apie 75 % virusinės RNR maksimalaus kiekio, gaunamo esant bet kokiam virusiniam inokuliatui. ŽIV RNR testui IC₉₀ reikšmės buvo nustatomos iš gryno signalo (infekuotų ląstelių mėginių signalas minus neinfekuotų mėginių

signalas) procentinio sumažėjimo RNR teste, palyginus su grynu infekuotų nepaveiktų ląstelių signalu toje pačioje kultivavimo plokštelėje (8 duobučių vidurkis). Apie atskirų infekcijų ir RNR testų realizavimo reikšmingumą buvo sprendžiama remiantis trimis kriterijais. Buvo reikalaujama, kad virusinė infekcija duotų RNR testo signalą lygų arba didesnį nei signalas, gaunamas imant 2 ng pDAB 72 *in vitro* RNR transkripto. ddC IC_{90} reikšmė, nustatyta kiekviename bandyme turi būti tarp 0,1 ir 0,3 $\mu\text{g/ml}$. Pagaliau virusinės RNR, produkuotos esant efektyviam proteazės inhibitoriui, kiekis ties plato turi būti mažesnis nei 10 % kiekio, gaunamo neinhibuotos infekcijos atveju. Junginys buvo laikomas aktyviu, jei buvo nustatyta, kad jo IC_{90} yra mažesnė už 1 μM .

Priešvirusinio veiksmingumo testuose visos manipuliacijos mikrotitro plokštelėse, pridėjus iš pradžių 2x didesnes junginio tirpalo koncentracijas į atskirą duobučių eilutę, buvo vykdomos naudojant Perkin Elmer/Cetus ProPette.

DOZĖS IR VAISTINĖS FORMOS

Šio išradimo priešvirusiniai junginiai gali būti vartojami virusinių infekcijų gydymui bet kokiais būdais, kurie duoda veikliojo agento kontaktą su agento veikimo vieta, t.y. virusine proteaze, žinduolio organizme. Jie gali būti vartojami bet kokiais įprastais vaistams vartoti tinkamais būdais arba kaip individualūs terapiniai agentai, arba terapinių agentų derinyje. Jie gali būti vartojami vieni, bet geriausia juos vartoti su farmaciniu nešikliu, pasirinktu remiantis pasirinktu vartojimu būdu ir įprasta farmacine paktika.

Aišku, kad vartojamos dozės turi priklausyti nuo žinomų faktorių, tokių kaip konkretaus agento farmakodinaminės charakteristikos ir jo vartojimo būdas, recipiento amžius, sveikatos stovis ir svoris, simptomų prigimtis ir laipsnis; konkurentinio gydymo rūšis; gydymo dažnis ir norimas efektas. Galima laukti, kad veikliojo ingrediento dienos dozė bus nuo maždaug 0,001 iki maždaug 1000 mg kilogramui kūno masės, tinkamiausioms dozėms esant 0,1-30 mg/kg ribose.

Vartojimui tinkamų kompozicijų dozuotose formose yra nuo maždaug 1 mg iki maždaug 100 mg veikliojo ingrediento dozuotame vienetė. Šiose vaistinėse kompozicijose veikliojo ingrediento kiekis paprastai sudaro maždaug 0,5-95 % bendros kompozicijos masės. Veiklusis ingredientas gali būti vartojamas peroraliniu būdu kietų dozuotų formų, kaip antai kapsulių, tablečių ir miltelių, pavidalu arba skystų dozuotų formų, kaip antai eleksyrų, sirupų ir suspensijų, pavidalu. Jis taip pat gali būti vartojamas ir parenteriniu būdu sterilių skystų dozuotų formų pavidalu.

Želatinos kapsulėse yra veiklusis ingredientas ir miltelių pavidalo nešikliai, kaip antai laktozė, krakmolai, celiuliozės dariniai, magnio stearatas, stearino rūgštis ir pan. Panašūs skiedikliai gali būti naudojami gaminant presuotas tabletes. Ir tabletės, ir kapsulės gali būti pagaminamos kaip prailginto veikimo produktai, suteikiantys galimybę išsiskirti veikliajai medžiagai valandų bėgyje. Presuotos tabletės gali būti padengiamos cukrumi arba plėvele, norint paslėpti nemalonų skonį ir apsaugoti tabletę nuo atmosferos poveikio, arba padengiamos enteriniu apvalkalu, norint gauti selektyvų suirimą virškinimo trakte. Peroralinio vartojimo skystose dozuotose formose, norint padidinti jų priimtinumą pacientui, gali būti spalvą ir skonį suteikiančių medžiagų.

Parenterinių tirpalų atveju tinkamais nešikliais paprastai yra vanduo, tinkamas aliejus, fiziologinis druskos tirpalas, vandeninė dekstrozė (gliukozė) ir giminingų cukrų tirpalai, bei glikoliai, kaip antai propileno glikolis arba polietilenglikoliai. Parenterinio vartojimo tirpaluose paprastai yra vandenyje tirpi veikliojo ingrediento druska, tinkami stabilizavimo agentai ir, jeigu reikia, buferio medžiagos. Tinkamais stabilizavimo agentais yra antioksidantai, kaip antai rūgštusis natrio sulfatas, natrio sulfatas arba askorbo rūgštis, vieni arba jų deriniai. Taip pat naudojama citrinos rūgštis ir jos druskos bei natrio EDTA. Be to, parenteriniuose tirpaluose gali būti apsaugos medžiagos, kaip antai benzalkonio chloridas, metil- arba propil-parabenas ir chlorbutanolis. Tinkami farmaciniai nešikliai yra aprašyti *Remington's Pharmaceutical Sciences*, *supra*, kuris yra standartinis šios srities literatūros šaltinis.

Toliau parodytos tinkamos vartoti šio išradimo junginių farmacinės dozuotos formos:

Kapsulės

Daug vienetinių kapsulių gali būti pagaminama užpildant standartines dvipuses kietos želatinos kapsules, į kiekvieną jų įpilant 100 mg veikliojo ingrediento miltelių, 150 mg laktozės, 50 mg celiuliozės ir 6 mg magnio stearato.

Minkštos želatinos kapsulės

Gali būti pagaminamas veikliojo ingrediento mišinys maistiniame aliejuje, kaip antai sojos pupelių aliejuje, medvilnės sėklų aliejuje arba alyvų aliejuje, ir suleidžiamas išstumiančiu siurbliu į želatiną, pagaminant minkštas želatinos kapsules, kuriose yra 100 mg veikliojo ingrediento. Po to tokios kapsulės turi būti plaunamos ir džiovinamos.

Tabletės

Daug tablečių gali būti pagaminama pagal įprastas metodikas taip, kad dozuotame vienete būtų 100 mg veikliojo ingrediento, 0,2 mg koloidinio silicio dioksido, 5 mg magnio stearato, 275 mg mikrokristalinės celiuliozės, 11 mg krakmolo ir 98,8 mg laktozės. Priimtinumui padidinimui arba norint suteikti uždelstą absorbciją tabletės gali būti atitinkamai padengiamos.

Suspensijos

Vandeninės peroralinio vartojimo suspensijos gali būti pagaminamos taip, kad jų 5 ml tūryje būtų 25 mg smulkiai susmulkinto veikliojo ingrediento, 200 mg natrio karboksietilceliuliozės, 5 mg natrio benzoato, 1,0 g sorbitolio tirpalo (U.S.P) ir 0,025 g vanilino.

Tirpalas injekcijoms

Injekcijoms tinkama parenterinė kompozicija gali būti pagaminama maišant 1,5 masės % veikliojo ingrediento 10 tūrio % propileno glikolyje ir vandenyje. Šis tirpalas sterilizuojamas pagal įprastas metodikas.

(a) ir (b) KOMPONENTŲ DERINYS

Kiekvienas šio išradimo agentas nepriklausomai gali būti bet kokioje dozuotoje formoje, tokioje kaip aprašyta aukščiau, ir taip pat gali būti vartojamas įvairiais būdais kaip aprašyta aukščiau. Tolimesniame aprašyme laikoma, kad komponentas (b) atitinka vieną arba daugiau aukščiau aprašytų agentų. Taigi, jeigu komponentai (a) ir (b) turi būti traktuojami kaip tas pats komponentas arba nepriklausomai vienas nuo kito, kiekvienas (b) komponento agentas taip pat gali būti traktuojamas kaip tas pats arba nepriklausomai vienas nuo kito.

Šio išradimo (a) ir (b) komponentai gali būti sudedami kartu viename dozuotame vienete (t.y. sudėti vienoje kapsulėje, tabletėje, miltelyje, skystyje ir t.t.) kaip produktas-derinys. Jeigu (a) ir (b) komponentai nėra sumaišyti kartu viename dozuotame vienete, (a) komponentas gali būti vartojamas tuo pačiu metu kaip ir (b) komponentas arba bet kokia tvarka; pavyzdžiui, šio išradimo (a) komponentas gali būti vartojamas pirmas, o po to vartojamas (b) komponentas, arba jie gali būti vartojami atvirkščia tvarka. Jeigu (b) komponente yra daugiau nei vienas agentas, pvz. vienas AT inhibitorius ir vienas proteazės inhibitorius, šie agentai gali būti vartojami kartu arba bet kokia tvarka. Jeigu vartojama ne vienu metu, geriausia (a) ir (b) komponentus vartoti mažiau nei vienos valandos bėgyje vieną nuo kito. Tinkamiausias (a) ir (b) komponentų vartojimo būdas yra peroralinis. Čia naudojami terminai "peroralinis agentas", "peroralinis inhibitorius", "peroralinis junginys" arba pan. reiškia junginius, kurie gali būti vartojami peroraliniu būdu. Nors pageidautina, kad (a) ir (b) komponentai būtų vartojami tuo pačiu būdu (t.y., pavyzdžiui, abu peroraliniu būdu) arba dozuota forma, jeigu norima, jie gali būti vartojami skirtingais būdais (t.y. vienas produkto-derinio komponentas

gali būti vartojamas peroraliniu būdu, o antrasis komponentas gali būti vartojamas intraveniniu būdu) arba dozuotomis formomis.

Patyrusiam gydytojui-praktikui bus aišku, kad dozės tokioje šio išradimo kombinuotoje terapijoje gali kisti priklausomai nuo įvairių faktorių, tokių kaip konkretaus agento farmakodinaminės charakteristikos ir jo vartojimo būdas bei forma, recipiento amžius, sveikatos stovis ir svoris, simptomų prigimtis ir laipsnis, konkurentinio gydymo rūšis, gydymo dažnis ir norimas efektas, kaip aprašyta aukščiau.

Tinkamas šio išradimo (a) ir (b) komponentų dozės nesunkiai nustatys patyręs gydytojas-praktikas remiantis šiuo aprašymu. Pagal bendrus nurodymus tipiška kiekvieno komponento dienos dozė gali būti maždaug 100 mg - 1,5 g. Jėgu (b) komponentas yra daugiau nei vienas junginys, tada tipiška kiekvieno (b) komponento agento dienos dozė gali būti maždaug 100 mg - 1,5 g. Pagal bendrus nurodymus, jeigu (a) komponento ir (b) komponento junginiai yra vartojami derinyje, kiekvieno komponento dozės gali būti sumažintos maždaug 70-80 %, lyginant su įprasta komponento doze, kai jis vartojamas vienas kaip atskiras agentas ŽIV infekcijai gydyti.

Šio išradimo produktai-deriniai gali būti pagaminami taip, kad nors veiklieji ingredientai yra sukomponuoti viename dozuotame vienete, fizinis kontaktas tarp veikliųjų ingredientų yra minimizuotas. Norint minimizuoti kontaktą, pavyzdžiui, kai produktas yra vartojamas peroraliniu būdu, vienas veiklusis ingredientas gali būti padengiamas enteriniu apvalkalu. Padengus vieną iš veikliųjų ingredientų enteriniu apvalkalu, galima ne tik minimizuoti kontaktą tarp derinio veikliųjų ingredientų, bet taip pat ir kontroliuoti vieno iš šių komponentų išsiskyrimą virškinimo trakte taip, kad vienas iš šių komponentų neišsiskirs skrandyje, bet išsiskirs žarnyne.

Kitame šio išradimo įgyvendinimo variante, kuriame yra pageidautinas peroralinis vartojimas, pateikiamas produktas-derinys, kurio vienas veiklusis ingredientas yra padengtas prolanguota išsiskyrimą suteikiančia medžiaga, užtikrinančia prolanguotą išsiskyrimą per visą virškinimo traktą, ir taip pat tarnaujančia fizinio kontakto tarp derinio veikliųjų ingredientų minimizavimui. Be to, prolanguoto išsiskyrimo komponentas gali būti padengtas dar ir

enteriniu apvalkalu, kad šio komponento išsiskyrimas būtų tik žarnyne. Dar viena strategija galėtų apimti produkto-derinio vaistinę formą, kurioje vienas komponentas yra padengtas prolanguoto išsiskyrimo medžiaga ir/arba enterinio išsiskyrimo polimeru, o antrasis komponentas yra taip pat padengtas polimeru, tokiu kaip mažo klampumo hidroksipropilmetilceliulioze arba kita šioje srityje žinoma atitinkama medžiaga, norint dar geriau atskirti veikliuosius komponentus. Padengimas polimerais sukuria papildomą barjerą sąveikai su kitu komponentu. Kiekvienoje vaistinėje formoje, kurioje apsaugoma nuo kontakto tarp (a) ir (b) komponentų dėl padengimo arba dėl kokios nors kitos medžiagos, taip pat galima apsaugoti ir nuo (b) komponento atskirų agentų kontakto.

Šio išradimo produktų-derinių dozuotos formos, kuriose vienas veiklusis ingredientas yra padengtas enteriniu apvalkalu, gali būti tabletės, kuriose enteriniu apvalkalu padengtas komponentas ir kitas veiklusis ingredientas yra sumaišyti ir po to supresuoti į tabletę, arba kuriose enteriniu apvalkalu padengtas komponentas yra supresuotas viename tabletės sluoksnyje, o antrasis veiklusis ingredientas yra supresuotas kitame sluoksnyje. Esant reikalui, norint dar labiau atskirti šiuos abu sluoksnius, gali būti vienas arba daugiau placebo sluoksnių taip, kad tarp veikliųjų ingredientų sluoksnių yra placebo sluoksnis. Be to, šio išradimo dozuotos formos gali būti kapsulės, kuriose vienas veiklusis ingredientas yra supresuotas į tabletę arba daugelio mikrotablečių, dalelių, granulių arba apsaugotų dalelių formoje, kurios yra padengtos enteriniu apvalkalu. Tokios enteriniu apvalkalu padengtos mikrotabletės, dalelės, granulės arba apsaugotos dalelės yra sudedamos į kapsulę arba įpresuojamos į kapsulę granuliuojant antrąjį veiklųjį ingredientą.

Remiantis šiuo aprašymu šie ir kiti kontakto tarp produkto-derinio komponentų, kai vartojama atskiroje dozuotoje formoje arba vartojama atskirų formų pavidalu, bet tuo pačiu metu arba tuo pačiu būdu kartu, minimizavimo būdai yra nesunkiai suprantami šios srities specialistams.

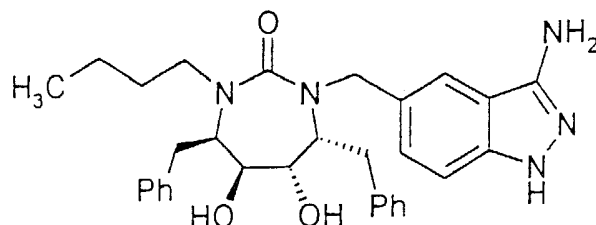
Šis išradimas taip pat apima ŽIV infekcijai gydyti tinkančius farmacinius rinkinius, kuriuose yra farmacinės kompozicijos, turinčios (a)

komponento junginio ir vieno arba daugiau (b) komponento junginių, terapiškai efektyvus kiekis vienoje arba keliose steriliose talpose. Šios talpos gali būti sterilizuojamos panaudojant įprastą, specialistams gerai žinomą sterilizavimo metodiką. Komponentas (a) ir komponentas (b) gali būti toje pačioje sterilioje talpoje arba atskirose steriliose talpose. Sterilios medžiagų talpos gali būti atskiros talpos arba, jeigu pageidaujama, viena arba daugiau talpų, susidedančių iš kelių skyrių. Komponentas (a) ir komponentas (b) gali būti atskiri arba fiziškai sujungti į vieną dozuotą formą arba vienetą, kaip aprašyta aukščiau. Į tokius rinkinius, jeigu pageidaujama, gali įeiti dar ir vienas arba daugiau įvairių įprastų farmacinių rinkinių komponentų, tokių kaip, pavyzdžiui, vienas arba daugiau farmaciškai tinkamų nešiklių, papildomų indų komponentams sumaišyti ir t.t., kas yra nesunkiai suprantama šios srities specialistams. Į rinkinį taip pat gali įeiti instrukcijos (arba kaip įdėtiniai lapeliai, arba kaip etiketės), nurodančios vartojamų komponentų kiekius, kaip vartoti vaistą ir/arba nurodymus kaip sumaišyti komponentus.

Savaime suprantama, kad aukščiau duotų patarimų pagrindu yra galimos įvairios šio išradimo modifikacijos. Todėl turi būti suprantama, kad toliau duodamos apibrėžties ribose šis išradimas gali būti įgyvendinamas ir kitaip nei čia konkrečiai aprašyta.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Junginys, kurio formulė I:



I

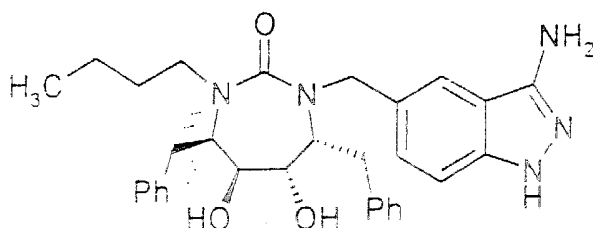
jo farmaciškai tinkama druska arba jo provaisto forma, kur I formulės provaistas yra junginys, kuriame abi hidroksilo grupės yra sujungtos, susidarant epoksidui, $-OCH_2SCH_2O-$, $-OC(=O)O-$, $-OCH_2O-$, $-OC(=S)O-$, $-OC(=O)C(=O)O-$, $-OC(CH_3)_2O-$, $-OC((CH_2)_3NH_2)(CH_3)O-$, $-OC(OCH_3)(CH_2CH_2CH_3)O-$, arba $-OS(=O)O-$ grupei.

2. Junginys pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jo formulė yra I.

3. Farmacinė kompozicija, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad ji susideda iš farmaciškai tinkamo nešiklio ir terapiškai efektyvaus kiekio junginio pagal 1 punktą, jo farmaciškai tinkamos druskos arba jo provaisto formas.

4. Kompozicija pagal 3 punktą, b e s i s k i r i a n t i tuo, kad junginio formulė yra I.

5. Junginio, kurio formulė I:



I

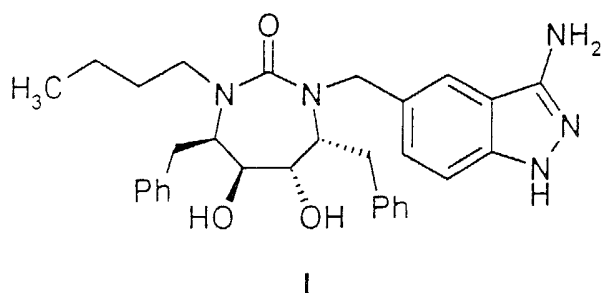
jo farmaciškai tinkamos druskos arba jo provaisto formas, kur I formulės provaistas yra junginys, kuriame abi hidroksilo grupės yra sujungtos, susidarant epoksidui, $-OCH_2SCH_2O-$, $-OC(=O)O-$, $-OCH_2O-$, $-OC(=S)O-$, $-OC(=O)C(=O)O-$, $-OC(CH_3)_2O-$, $-OC((CH_2)_3NH_2)(CH_3)O-$,

-OC(OCH₃)(CH₂CH₂CH₃)O-, arba -OS(=O)O- grupei, panaudojimas ŽIV infekcijai gydyti skirto vaisto gamyboje.

6. Panaudojimas pagal 5 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad junginio formulė yra I.

7. (a) ir (b) derinio, kuriame:

(a) yra junginys, kurio formulė I:



jo farmaciškai tinkama druska arba jo provaisto forma, kur I formulės provaistas yra junginys, kuriame abi hidroksilo grupės yra sujungtos, susidarant epoksidui, -OCH₂SCH₂O-, -OC(=O)O-, -OCH₂O-, -OC(=S)O-, -OC(=O)C(=O)O-, -OC(CH₃)₂O-, -OC((CH₂)₃NH₂)(CH₃)O-, -OC(OCH₃)(CH₂CH₂CH₃)O-, arba -OS(=O)O- grupei, ir

(b) yra bent vienas junginys, pasirinktas iš grupės, susidedančios iš ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitorių ir ŽIV proteazės inhibitorių, panaudojimas ŽIV infekcijai gydyti skirto vaisto gamyboje.

8. Panaudojimas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad junginio formulė yra I.

9. Panaudojimas pagal 7 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra nukleozidinis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius.

10. Panaudojimas pagal 9 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad nukleozidinį atvirkštinės transkriptazės inhibitorių pasirenka iš AZT, 3TC, ddI, ddC ir d4T, o proteazės inhibitorių pasirenka iš sakvinaviro, ritonaviro, indinaviro, VX-478, nelfinaviro, KNI-272, CGP-61755 ir U-103017.

11. Panaudojimas pagal 10 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad nukleozidinį atvirkštinės transkriptazės inhibitorių pasirenka iš AZT ir 3TC, o proteazės inhibitorių pasirenka iš sakvinaviro, ritonaviro ir indinaviro.

12. Panaudojimas pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad nukleozidinis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius yra AZT.

13. Panaudojimas pagal 11 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad proteazės inhibitorius yra indinaviras.

14. Farmacinis rinkinys, tinkantis ŽIV infekcijai gydyti, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad jis susideda iš terapiškai efektyvaus kiekio:

(a) junginio pagal 1 punktą ir

(b) bent vieno junginio, pasirinkto iš grupės, susidedančios iš ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitoriaus ir ŽIV proteazės inhibitoriaus, esančių vienoje arba daugiau sterilių talpų.

15. Rinkinys pagal 14 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad (a) komponentas yra I formulės junginys.