

(19)



SUOMI - FINLAND

(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 901903 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE
PUBLIC**

(21) Patentihakemus - Patentansökan - Patent application **901903**

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation -
International patent classification
**C07D473/00
C07D405/04
C07H 19/04**

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **12.04.1990**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **12.04.1990**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **18.10.1990**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

17.04.1989 GB 8908646 20.09.1989 GB 8921266

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 •Efamol Holdings PLC, Efamol House, Woodbridge Meadow Guildford, Surrey GU1 1BA, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 •Horrobin, David Frederick, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
2 •Stewart, John Charles Marshall, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)
3 •Winther, Michael David, United Kingdom, ISO-BRITANNIA, (GB)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Berggren Oy Ab, Antinkatu 3 C, 00100 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention

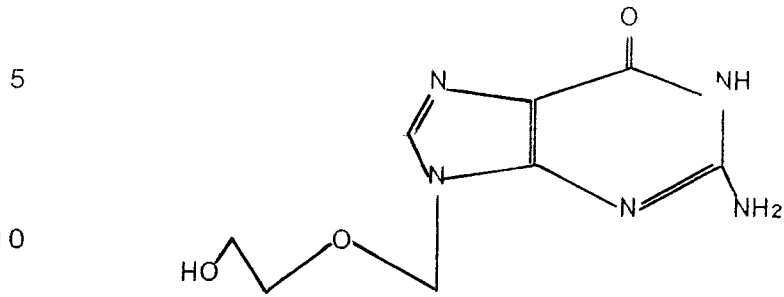
Virusenvastaisia aineita

Antivirala ämnen

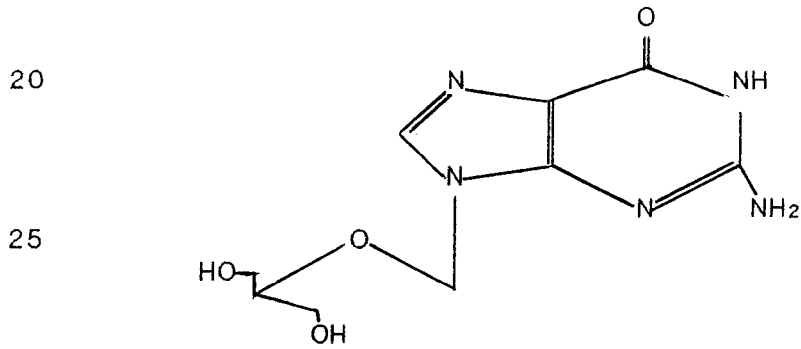
Virustenvastaiset aineet

Keksintö koskee virustenvastaisia aineita, jotka ovat rasvahapponukleosideja ja nukleosidianalogijohdannaisia ja vastaavia yhdisteitä, joissa rasvahapporyhmät ovat
5 liittyneinä pikemminkin nukleosidin tai nukleosidiana-
login funktionaaliseen amino- kuin hydroksiryhmään.

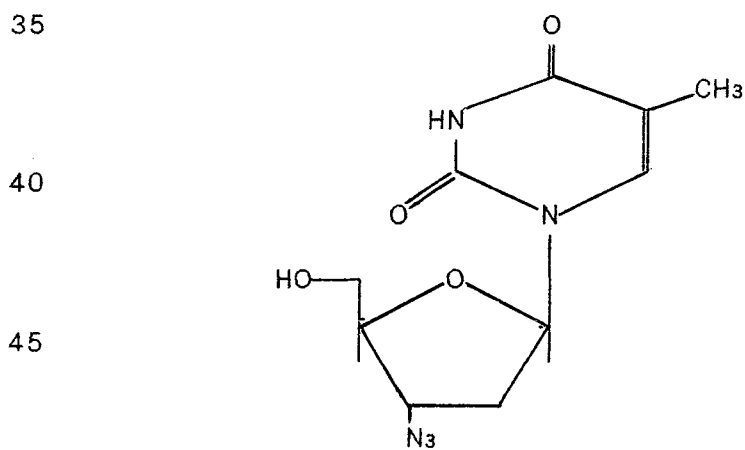
Useilla yhdisteillä on osoitettu olevan virustenvastaista vaikutusta sekä in vitro että in vivo, erityisesti
tällaisia ovat erilaiset puriini- ja pyrimidiinijohdan-
10 naiset, jotka ovat rakenteeltaan glykosideja tai glykosi-
dianalogeja. Esimerkkejä ovat:



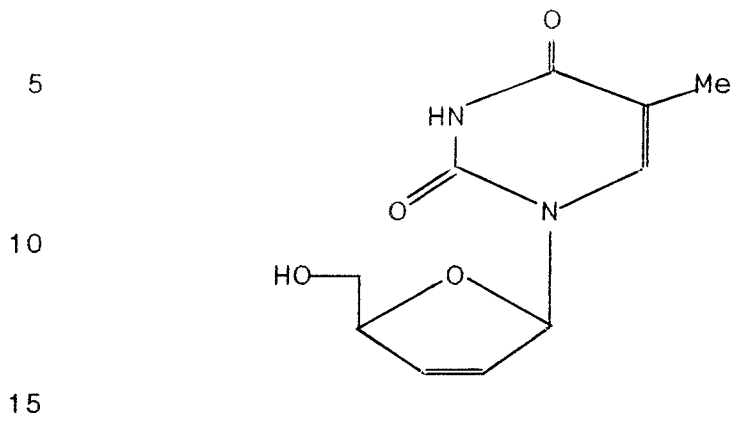
15 ACV (asykloviiri;
9-(2-hydroksietoksimetyyli)guaaniini)



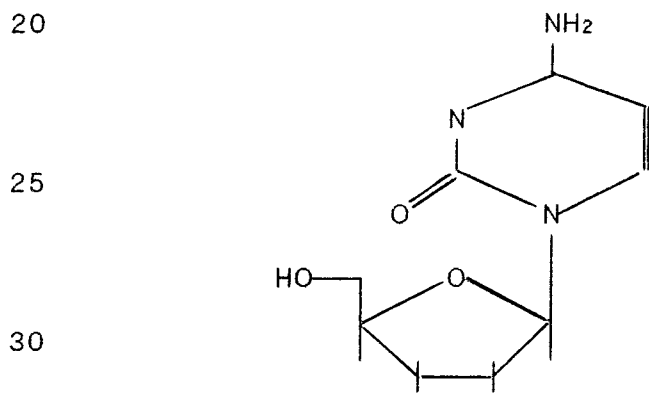
30 DHPG (gansykloviiri; 9-(1,3-dihydroksi-s-
propoksimetyyli)guaaniini)



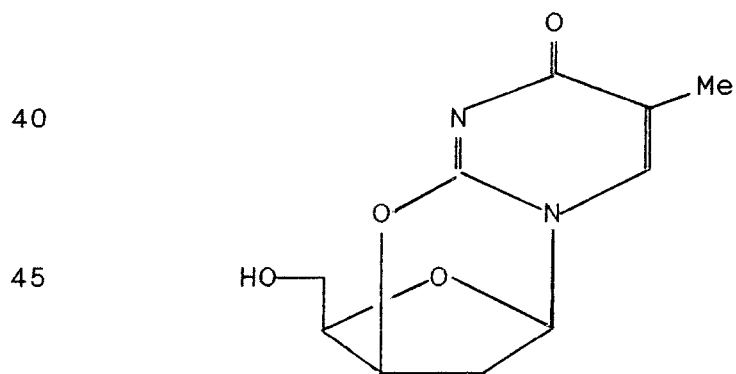
50 AZT (atsidotymidiini; tsidovudiini)



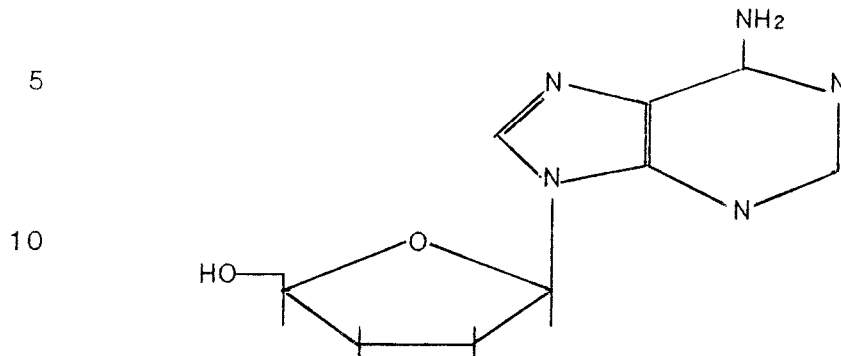
D4T (dideoksi-didehydrotymidiini)



ddC (dideoksisytidiini)



AHT (anhydrotymidiini)



ddA (dideoksiadenosiini)

Kaikilla näillä yhdisteillä, jotka ovat luonnollisten
 20 nukleosidien analogeja, on rajoitettu käyttöalue ja in
 vitro -olosuhteissakin niillä on vaikutusta vain rajoi-
 tettuun määrään viruksia. Niiden vaikutustapana on ensi-
 sijaisesti virusten replikaation ja tuotannon jonkin vai-
 heen häiritseminen, johon viitataan tässä termillä repli-
 25 kaation estäminen. Ne eivät inaktivoi virusta, kun se on
 solun ulkopuolella ja niillä on vähän tai ei ollenkaan
 vaikutusta aktiivisen viruksen välittymiseen solusta
 soluun.

On olemassa toisentyyppisiä aineita, jotka pystyvät inak-
 30 tivoimaan virukset ja estämään niiden välittymisen, eri-
 tyisesti tämä koskee kuorellisia viruksia. Näihin ainei-
 siin kuuluvat pitkäketjuiset tyydyttymättömät rasvahapot
 ja niiden johdannaiset kuten esterit, suolat, amidit ja
 glyseridit. Näiden aineiden vaikutukseen viitataan tässä
 35 käyttäen termiä viruksen inaktivointi, mutta aineet saat-
 tavat myös rajoitetusti estää replikaatiota. Arvellaan,
 että viruksen inaktivoitumisen päätekijä on yksinkertai-
 sesti virusta suojaavan kuoren merkittävä hajoaminen.

Keksinnöllä on useita erillisiä, mutta osittain päällekkäisiä ja toisiinsa liittyviä аспектеja, joita on kuvattu etupäässä AZT:hen, AHT:hen ja asykloviirijohdannaisiin liittyen, mutta ulottuen samoin ddC:hen, ddA:han, D4T:hen ja gansykloviirijohdannaisiin.

Laajimmassa mielessä keksintö tarjoaa uusia virustenvastaisia yhdisteitä, jotka ovat nukleosidien tai nukleosidianalogien pitkäketjuisia tyydyttymättömiä rasvahappoesteri- tai -amidijohdannaisia rasvahapon asyyliiryhmän liittyessä suoraan nukleosidin tai nukleosidianalogin heterosyklisen osan tai sokerin/sokerianalogin hydroksi- tai aminoryhmään. Rasvahapot ovat C:16 :sta ylöspäin, edullisesti monitydyttymättömiä, ja sopivia ovat linolyyli-, gamma-linolenyyli- tai muut luonnollisten n-9 - ja n-7 -sarjojen (C:16:sta ylöspäin) tai n-6 - ja n-3 -sarjojen (C:18:sta ylöspäin) tyydyttymättömät pitkäketjuiset rasvahappoasyyliiryhmät. Erityisiä esimerkkejä nukleosidianalogeista ovat AZT, AHT ja ACV.

Tässä suhteessa keksintö tarjoaa myös:

(i) Menetelmän, jolla edistetään virustenvastaisten aineiden siirtoa kehon lipidiesteiden läpi, ja erityisesti suolistosta lymfaattiseen järjestelmään tai soluihin solujen ulkopuolisesta nesteestä tai veri-aivo - esteen läpi tai ihon läpi paikallisesti annettavissa valmisteissa tai menetelmän, jolla estetään glukuronidatiota tai muita metabolisia lääkkeen tehoa heikentäviä muunnosreaktioita virusinfektioiden hoidossa, jossa mainittu virustenvastainen aine on yllämainittu yhdiste.

(ii) Tällaiseen käyttöön tarkoitettun lääkkeen valmistusmenetelmän, jossa yllämainittu yhdiste valmistetaan mai-

nituksi lääkkeeksi sellaisenaan tai farmaseuttisesti hyväksyttävään laimentimeen tai kantajaan yhdistettynä.

Toiseksi keksintö tarjoaa yhdisteitä, jotka ovat pentoosinukleosidien tai niiden analogien johdannaisia, joissa on asyklinen ryhmä pentoosin tilalla asyklisen ryhmän sisältäessä hydroksiryhmällä substituoidun hiilen pentoosin 5'-asemaa vastaavassa asemassa, mainittujen johdannaisten ollessa esteröityjä nukleosidin 5'-asemasta tai mahdollisen analogin hydroksiryhmällä substituoidun hiilen kohdalta yllämainittujen rasvahappojen kanssa ja erityisesti linoli-, gamma-linoleenihapon tai muiden n-9 - ja n-7 -sarjaan (C:16:sta ylöspäin) ja n-6 - ja n-3 -sarjaan (C:18:sta ylöspäin) kuuluvien tyydyttymättömien pitkäketjuisten rasvahappojen kanssa.

15 Erityisesti tässä mielessä keksintö tarjoaa tällaisten yhdisteiden muodossa AZT:n tai AHT:n tai ACV:n tai ddA:n, ddC:n tai D4T:n.

Tässä suhteessa keksintö tarjoaa edelleen:

(i) Virusinfektioiden hoitomenetelmän samoin edistävin tai estävin vaikutuksin kuin edellä, mutta ilman, että replikaatiota estävä vaikutus menetetään, missä mainittua virustenvastaista ainetta käytetään 5'- tai vastaavan esterijohdannaisen muodossa.

(ii) Tällaiseen käyttöön tarkoitettun lääkkeen valmistusmenetelmän, jossa yhdiste valmistetaan mainituksi lääkkeeksi sellaisenaan tai farmaseuttisesti hyväksyttävään laimentimeen tai kantajaan yhdistettynä.

Kolmanneksi keksintö tarjoaa AZT:n ja AHT:n tai ddA:n, ddC:n tai D4T:n yllämainittujen rasvahappojen ja erityisesti linoli-, gamma-linoleenihapon tai muiden n-9 - ja

n-7 -sarjaan (C:16:sta ylöspäin) ja n-6 - ja n-3 -sarjaan (C:18:sta ylöspäin) kuuluvien tyydyttymättömien pitkäketjuisten rasvahappojen esterijohdannaisena, joka on aktiivinen herpes- ja muita virusinfektioita vastaan.

5 Tässä suhteessa keksintö tarjoaa edelleen:

(i) Herpesvirus-, erityisesti herpes simplex - ja herpes zoster -virusinfektion tai muun herkän virusinfektion hoitomenetelmän, jossa potilaalle annetaan vaikuttava määrä tällaista AZT- tai AHT- tai ddA-, ddC- tai D4T-

10 johdannaista.

(ii) Herpesvirus-, erityisesti herpes simplex - ja herpes zoster -virusinfektion tai muun herkän virusinfektion hoitoon tarkoitettun lääkkeen valmistusmenetelmän, jossa tällainen AZT- tai AHT- tai ddA-, ddC- tai D4T-

15 johdannainen valmistetaan mainituksi lääkkeeksi sellaisenaan tai farmaseuttisesti hyväksyttävään laimentimeen tai kantajaan yhdistettynä.

Neljänneksi keksintö tarjoaa asykloviirin tai gansykloviirin yllämainittujen rasvahappojen, edelleen erityisesti linoli-, gamma-linoleenihapon tai muiden n-9 - ja n-7 -sarjaan (C:16:sta ylöspäin) ja n-6 - ja n-3 -sarjaan (C:18:sta ylöspäin) kuuluvien tyydyttymättömien pitkäketjuisten rasvahappojen viruksia tuhoavana esterinä tai amidina.

25 Tässä mielessä keksintö tarjoaa edelleen:

(i) Virusinfektion hoitomenetelmän, jossa potilaalle annetaan vaikuttava määrä tällaista asykloviiri- tai gansykloviirijohdannaista.

(ii) Virusinfektion hoitoon tarkoitetun lääkkeen valmistusmenetelmän, jossa tällainen asykloviiri- tai gansykloviirijohdannainen valmistetaan mainituksi lääkkeeksi sellaisenaan tai farmaseuttisesti hyväksyttävään laimentimeen tai kantajaan yhdistettynä.

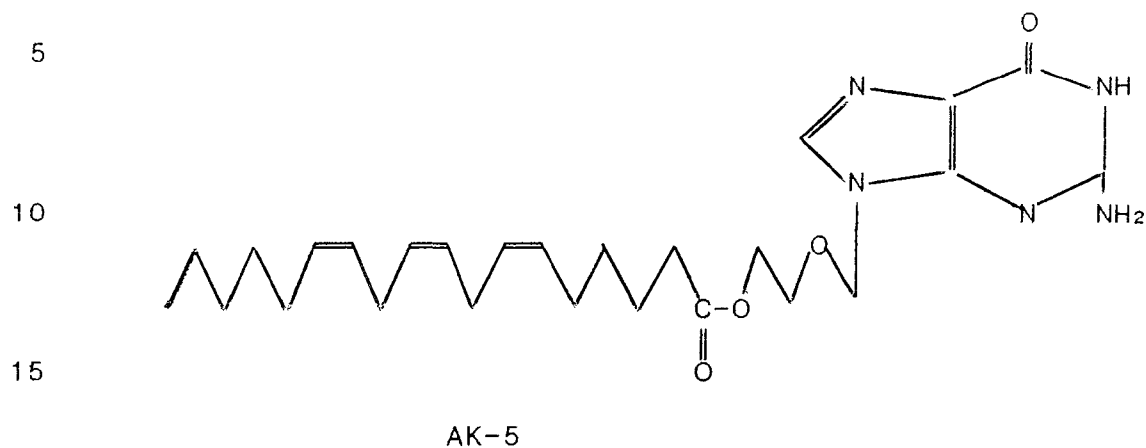
(iii) Tällaisen hoito- tai valmistusmenetelmän, kun infektiio on herpes simplex - tai herpes zoster- tai muu herkkä virusinfektio.

Keksinnön erityisiä puolia voidaan todeta olevan myös:

10 (i) Erityisten virustenvastaisten nukleosidianalogien erityiset johdannaiset, nimittäin AZT:n ja AHT:n ja tässä mainittujen n-9 -sarjan jne. pitkäketjuisten tyydyttymättömien rasvahappojen muodostamat esterit. Niiden katsotaan olevan uusia yhdisteitä, mutta keksintö koskee erityisesti niiden käyttöä herpesviruksia vastaan, herpes simplex ja herpes zoster mukaanlukien, missä AZT ja AHT ovat inaktiivisia. Tässä suhteessa keksintö koskee siis herpesinfektioiden hoitoa näillä estereillä tai tällaiseen hoitoon tarkoitettujen, estereitä sisältävien lääkkeiden valmistusta.

(ii) Erityisen virustenvastaisen nukleosidianalogin erityiset johdannaiset; nimittäin asykloviirin ja tässä mainittujen n-9 -sarjan jne. pitkäketjuisten tyydyttymättömien rasvahappojen muodostamat esterit tai amidit.

Esimerkiksi GLA-asykloviiri -esterin kaava on



20 missä AZT:n tai AHT:n pentoosirengasta edustavat 1'-, 4'-
ja 5'-hiiliatomeja vastaavat hiiliatomit. GLA-asykloviiri
-amidissa on gamma-linolenyyliiryhmä puriiniytimen amino-
substituenttiin liittyneenä ja di-GLA-asykloviirissä
molemmilla asemissa.

25 Nukleosidien rasvahappojohdannaisilla on lähtöainenukleo-
sideista huomattavasti poikkeavat fysikaaliskemialliset
ominaisuudet. Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet ovat
lipofiilisiä, ne liukenevat hyvin kloroformiin ja niillä
on suuri kloroformi-vesi -jakautumiskerroin (katso tau-
30 lukkoja 3 ja 4).

Nukleosidien rasvahappojohdannaisilla on yksi tai useam-
pia seuraavista eduista, jotka johtuvat uusista fysikaa-
lisista ja biologisista ominaisuuksista:

1. Yhdistetty viruksia tuhoava ja replikaatiota estävä
35 aktiivisuus.
2. Replikaatiota estävän aktiivisuuden laajeneminen eri
viruksiin.

3. Parantunut imeytyminen ihon läpi ja ihoon ja solujen sisälle (paikallisesti annettavat valmisteet).

4. Parantunut farmakokinetiikka (erityisesti suun kautta ja laskimonsisäisesti annettavat valmisteet).

5 Näitä etuja käsitellään yksityiskohtaisemmin jäljempänä.

1. Yhdistetty viruksia tuhoava ja replikaatiota estävä aktiivisuus

Se, että samaan molekyyliin voidaan yhdistää kaksi erillistä virustenvastaista vaikutustapaa, mistä useimmat
10 keksinnön mukaiset yhdisteet ovat osoituksena, on odottamaton havainto. Vaikka vapaililla pitkäketjuisilla tyydyttymättömillä rasvahapoilla on useimpien kuorellisten virusten vastaista vaikutusta, triglyserideillä ei tätä vaikutusta ole, joten selvästikin jotkin kemialliset
15 sidokset häiritsevät tämäntyyppistä aktiivisuutta. Triglyseridimuodossa olevalla LA:lla ei esimerkiksi ole rasvahappokomponentin viruksia tuhoavaa aktiivisuutta.

Asykloviirin GLA:n ja LA:n kanssa muodostamalla este-reillä (AK5 ja 6) ei ole myöskään tätä aktiivisuutta,
20 mutta AK:illa 1, 2, 3, 4, 10, 11, 12 ja 13 on kaikilla viruksia tuhoava vaikutus.

Yhdisteiden toinen odottamaton ominaisuus on se, että ne säilyttävät lähtöainenukleosidien replikaatiota estävän aktiivisuuden virusreplikaatiotesteissä in vitro. Tämä on
25 hämmästyttävää, koska monet johdannaisista ovat 5'-estereitä. AZT:n ja ACV:n osalta on osoitettu, että niiden solunsisäinen biologisesti aktiivinen muoto on trifosforyloitu 5'-hydroksiasemasta. Jos AZT:stä ja ACV:stä puuttuvat nämä fosfaattiryhmät, ne ovat inaktiivisia virus-
30 polymeraaseja vastaan.

5'-asemasta substituoitujen yhdisteiden vaikutustapa voidaan selittää kahdella tavalla. Luultavinta on, että rasvahapporyhmä, joka on tehnyt tehtävänsä edistäessään lääkkeen tunkeutumista membraanien läpi, lohkeaa nopeasti nukleosidista jonkin soluliman monien entsyymien vaikutuksesta. Deasyloitu yhdiste voi sitten toimia aktiivisen yhdisteen tuottamiseen tarvittavan fosforylaation substraattina.

Epätodennäköisempää on, että rasvahapporyhmä jollain tavoin korvaa rasvahapponukleosidin fosforylaation, jolloin muodostuu yhdiste, joka on aktiivinen ilman rasvahapporyhmän lohkeamista ja fosforylaatiota.

Virustenvastaisen seulontatyön tuloksia esitellään jäljempänä, ja tässä yhteydessä osoittautuu selkeimmin, että "AK10" ja "AK11" (disubstituoidut ACV-yhdisteet) ovat hyvin tehokkaita sekä virusten inaktivoinnissa että replikaation estämisessä. Yhdisteen AK10 konsentraation ollessa 1 mg/liuoslitra se inaktivoi 1 log-yksikön verran (ts. 90%) viruksista ja vähentää virusten replikaatiota 1 log-yksikön verran (90%).

2. Virusten vastaisen aktiivisuuden laajeneminen

Odottamaton havainto on edelleen se, että esimerkiksi GLA-AZT:lla on herpesviruksen replikaatiota estävä vaikutus, mitä ominaisuutta ei GLA:lla eikä AZT:llä ole yksinään (taulukko 5). Täsmällinen perussyy tähän retrovirusten vastaisen aineen aktiivisuuden laajenemiseen koskemaan herpesviruksia on tuntematon, mutta saattaa johtua parantuneesta solumembraanien läpäisykyvystä. Koska samanaikaisia usean viruksen aiheuttamia infektioita sattuu usein, on potentiaalisesti edullista hoitaa niitä yhdellä ainoalla aktiivisella yhdisteellä.

3. Parantunut tunkeutuminen ihon läpi

Paikalliset hoitoaineet olivat ensimmäisiä lääkevalmisteita, jotka kehitettiin tätä virusta vastaan. Kaikilla tällaisilla tähän mennessä tuotetuilla valmisteilla on
5 kuitenkin ollut rajoitettu käyttöarvo kahdesta syystä: ensiksi, koska virustenvastaiset aineet eivät ole lipofiilisiä, ne eivät tunkeudu helposti ihon läpi eikä niiden konsentraatio siksi aina kohoa lääkinnällisesti merkittäväksi viruksen replikaatiokohdassa. Tästä syystä
10 "edistäjinä" tunnettuja aineita (esimerkiksi dimetyyli-sulfoksidia ja propyleeniglykolia) on lisätty parantamaan imeytymistä ihoon. Useimmilla edistäjillä on kuitenkin paikallisia toksisia ja ärsyttäviä vaikutuksia, jos niitä käytetään pitkään. Virustenvastaisten aineiden lipofiiliset johdannaiset, jotka säilyttävät koko virusten
15 replikaatiota estävän vaikutuksensa, ovat siten haluttuja.

Toinen syy tunnetuilla paikallisilla hoidoilla saatuihin epätyytyttäviin tuloksiin on se, että virus replikoituu
20 varhain infektion luonnollisen kehityksen aikana, prodromaalivaiheessa, tavallisesti ennen kuin vauriot ovat näkyvissä. Siten aine, joka vaikuttaa vain viruksen polymeraasiin, ei pysty estämään vaurioiden etenemistä.

Virusia tuhoavan aineen, joka pystyy hajottamaan viruksen kuorirakenteen, voidaan kuitenkin olettaa pysäyttävän
25 vaurioiden laajenemisen tehokkaammin ja vähentävän infektion leviämismahdollisuuksia uusille alueille ja mahdollisesti vähentävän tästä seuraavaa uusia infektiota aiheuttavien latenttien virusten määrää.

30 Tämän keksinnön mukaiset yhdisteet, erityisesti AK:t 10, 11, 12 ja 13 ovat virusia tuhoavia ja lipofiilisiä, joten ne tunkeutuvat tehokkaasti stratum corneumin lipi-

dikerroksen läpi ja myös soluihin. Nämä yhdisteet ovat öljy-vesi - ja vesi-öljy -emulsioiden öljyfaasissa, mikä yksinkertaistaa tällaisten tuotteiden valmistusta ja käyttöä.

5

4. Parantunut farmakokinetiikka

Rasvahapponukleosidien metabolia ja farmakokinetiikka on poikkeaa merkittävästi lähtöainenukleosidien vastaavista ominaisuuksista. Tämän vaikutuksesta hoidon tehokkuuteen
10 esitetään muutamia esimerkkejä.

a. Lääkkeen imeytyminen

Lääkkeen liukenevuudella lipideihin on perustaavaa laatua oleva merkitys imeytymisen kannalta. Polaaristen yhdis-
teiden (jotka liukenevat helpommin veteen kuin lipidiin)
15 kuten lähtöainenukleosidien, on vaikea läpäistä huokose-
tonta lipidimembraania diffusoitumalla ja siten tästä
prosessista tulee rajoittava tekijä. Lipidiliukoiset
aineet läpäisevät helpommin ruuansulatuskanavan estemem-
braanit, mikä lisää suun kautta annettuna niiden biolo-
20 gista saatavuutta. Niillä on myös ainakin osittainen tai-
pumus absorboitua lymfaattiseen järjestelmään. Tällä vii-
meksimainitulla reitillä on se merkittävä etu, että se
välttää maksan, kun taas vesiliukoiset aineet absorboitu-
vat porttilaskimoon ja joutuvat siten kulkemaan maksan
25 läpi ennen kuin ne pääsevät yleiseen verenkiertoon.

"Ensimmäisen läpikulun metabolia", johon aine joutuu kul-
keutuessaan maksan kautta on pääasiallinen lääkkeiden
muuntumisreitti, joka johtaa inaktiivien metaboliittien
erittymiseen.

30 Tiedetään, että tyydytetyt rasvahapot voivat edistää
lääkkeiden siirtoa membraanien läpi, mutta tämän on otak-
suttu olevan tehokasta vain 6 - 12 hiiliatomia rungossaan

sisältävien lyhytketjuisten molekyylien ollessa kyseessä (katso esimerkiksi "Drug Delivery and Targeting Systems", 30.11.90. - 1.12.89, Lontoo, Conference Documentation IBC Technical Services Ltd, professori Y.W. Chienin artikkeliksi). Näiden tietojen perusteella olisi ollut odotettavissa, että tämän keksinnön mukaiset pitkäketjuiset tyydyttymättömät rasvahapot olisivat tehottomampia, eikä aktiivisia kuten ne ovat.

b. Veri-aivo -este

10 Monet virukset (kuten esimerkiksi HIV ja jotkut herpesvirukset) voivat levitä aivoihin ja aiheuttaa tulehduksia, jotka johtavat aivokalvontulehdukseen tai dementiaan. Ratkaiseva tekijä hoidossa on silloin lääkkeen kyky läpäistä veri-aivo -este. On toistuvasti havaittu, 15 että hydrofiiliset lääkkeet eivät helposti läpäise veri-aivo -estettä ja siten ainoastaan pieniä määriä sitä voidaan havaita aivo-selkäydinnesteessä. Lipofiilisten lääkkeiden pitoisuus saavuttaa helpommin lääkinnällisesti merkittävän tason aivoissa. Asianlaita on näin erityisesti 20 sesti silloin, kun tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä annetaan laskimonsisäisesti.

c. Muuttunut metabolia

Viidestätoista kahteenkymmeneen prosenttiin tsidovudii-
nista erittyy muuttumattomana virtsaan ja seitsemänkym-
25 mentäviisi prosenttia metaboloituu maksan glukuronidaa-
tiossa, jolloin muodostuu 3'-atsido-2'-3'-dideoksi-5'-
glukuronylytymidiiniä (inertti metaboliitti). Koska joh-
dannaisilla kuten AK1:llä (GLA-AZT) ja AK2:lla (LA-AZT)
on esterisidos tässä 5'-asemassa, ne eivät metaboloidu
30 saman reitin kautta. Tämä kohottaa aineen tehokasta
pitoisuutta veressä ja mahdollistaa pienemmät lääkeannok-
set saman hoidollisen edun saavuttamiseksi.

Paremmen biologisen saatavuuden ja vähentyneen metaboloitumisen yhdistelmä johtaa vähäisempiin farmakokineettiin eroihin eri yksilöiden välillä ja siten alhaisempiin annoksiin ja vähäisempiin toksisiin sivuvaikutuksiin.

- 5 Virustenvastaisten aineiden ddC ja ddA amidijohdannaisten valmistukseen liittyy lisäetuja. Esteri- ja amidisidosten yhdistelmä kasvattaa molempien lääkeaineiden lipofiilisyyttä ja vaikka entsyymattinen metabolia poistaisikin toisen rasvahapon jäljellejäävä molekyyli on edelleen
10 lipofiilinen ja sillä on edelläkuvatut edut.

ddA:n amidijohdannaisilla on se erityinen lisäetu, että tämä sidos estää ddA:n konversion ddI:ksi (dideoksiinosiini), joka seuraa adenosiinideaminaasin katalysoimaa deaminaatiota, joka puolestaan tapahtuu muutamassa minuutissa kosketuksessa ihmisen plasman kanssa. Jos ddA:n
15 rasvahappojohdannainen pääsee HIV:n infektoimaan soluun, se voi muuntua ddA:ksi ja sen jälkeen aktiiviseen trifosfaattimuotoon. Sitä vastoin ddI:n täytyy lopuksi käydä läpi entsyymattisia muunnosreaktioita ddA-trifosfaatin
20 (aktiivinen metaboliitti solussa) muodostamiseksi.

Ollakseen täysitehoisia useiden virustenvastaisten aineiden täytyy lisäksi olla läsnä sekä solujen sisä- että ulkopuolella. Koska solumembraanin lipidipitoisuus on korkea, lipofiiliset yhdisteet pääsevät helpommin solujen
25 sisään kuin hydrofiiliset. Siten tässä keksinnössä esitettyjen lääkeaineiden solunsisäinen pitoisuus kohoaa todennäköisemmin tehokkaalle tasolle kuin niiden lähtöaineyhdisteiden.

Sopiviin tyydyttymättömiin rasvahappoihin kuuluvat luonnolliset n-7 -, n-9 -, n-6 - ja n-3 -sarjan rasvahapot,
30 jotka on esitetty C:22:een asti taulukossa 1.

Taulukko 1

	n-7 Ravinto tai syn- teesi kehossa	n-9 Ravinto tai syn- teesi kehossa	n-6 Ravinto	n-3 Ravinto
5				
10	16:0 (palmi- tiini)	18:0 (stea- riini)		
15	delta-9- desaturaasi			
	16:1 n-7 (palmi- oleiini)	18:1 n-9 (öljy)	18:2 n-6 (linoli)	18:3 n-3 (alfa- linoleeni)
20	delta-6- desaturaasi			
25	16:2 n-7	18:2 n-9	18:3 n-6 (gamma- lino- leeni)	18:4 n-3
30	18:2 n-7	20:2 n-9	20:3 n-6 (dihomo- gamma- lino- leeni)	20:4 n-3
35	delta-5- desaturaasi			
40	18:3 n-7	20:3 n-9	20:4 n-6 (ara- kidoni)	20:5 n-3
45	20:3 n-7	22:3 n-9	22:4 n-6 (adreeni)	22:5 n-3
50	delta-4- desaturaasi			
	20:4 n-7	22:4 n-9	22:5 n-6	22:6 n-3

n-6 - ja n-3 -sarjan hapot on saatava ravinnosta, joten ainakin linolihappo (LA) ja alfa-linoleenihappo (ALA) ovat välttämättömiä rasvahappoja. n-7 - ja n-9 -sarjat muodostuvat kehon sisällä vastaavasti palmitiinihaposta (16:0) ja steariinihaposta (18:0) delta-9-desaturaasin sen jälkeen muiden desaturaasien katalysoimissa reaktioissa.

Kaksoissidosten paikka n-7 -, n-9 - jne. nimitysjärjestelmässä lasketaan ei-karboksyyli- eli omegapäästä, tyydyttymättömien kohtien esiintyessä ketjussa kaavion $(-CH=CH-CH_2-)_M$ mukaisesti, missä $M = 1-6$, kuten terminologiassa 18:1, 22:3 jne. esitetään. Kuvaavia esimerkkejä ovat:

Taulukko 2

15	n-6 -sarjan välttämättömät rasvahapot
	18:2 delta-9,12 (linolihappo)
	18:3 delta-6,9,12 (gamma-linoleenihappo)
	20:3 delta-8,11,14 (dihomo-gamma-linoleenihappo)
	20:4 delta-5,8,11,14 (arakiidonihappo)
20	22:4 delta-7,10,13,16 (adreenihappo)
	22:5 delta-4,6,10,13,16
	n-3 -sarjan välttämättömät rasvahapot
	18:3 delta-9,12,15 (alfa-linoleenihappo)
	18:4 delta-6,9,12,15
25	20:4 delta-8,11,14,17
	20:5 delta-5,8,11,14,17
	22:5 delta-7,10,13,16,19
	22:6 delta-4,7,10,13,16,19

Hapot nimetään systemaattisesti vastaavien heksadekaani-, oktadekaani-, eikosaani- tai dokosaanihappojen johdannaisiksi, esimerkiksi delta-9,12-oktadekadieenihappo tai delta-4,7,10,13,16,19-dokosahekseenihappo, numeeriset nimitykset, kuten esimerkiksi 18:2 n-6 tai 22:6 n-3 edellisiä vastaten, ovat sujuvia. Myös alkukirjaimia käytetään, esimerkiksi AA vastaten arakidonihappoa ja systemaattisemmin DHA vastaten happoa 22:6 n-3 (dokosahekseenihappo) tai EPA vastaten happoa 20:5 n-3 (eikosapenteenihappo), mutta viimeksimainittua tapaa ei käytetä, jos on olemassa n-3 - ja n-6 -sarjojen happoja, jotka ovat ketjupituudeltaan yhtä suuria ja joiden tyydyttymättömyysaste on sama, joista esimerkkinä ovat 22:5 -hapot. Enemmän tai vähemmän yleisessä käytössä olevat n-6 -sarjan triviaalinimet on esitetty edellä. n-3 -sarjasta vain 18:3 n-3:lla on yleisessä käytössä oleva triviaalinimi, alfa-linoleenihappo. Se karakterisoitiin aiemmin kuin gamma-linoleenihappo ja pelkästään linoleenihappoon tehdyt viittaukset, varsinkin vanhemmassa kirjallisuudessa esiintyvät, tarkoittavat alfa-happoa.

Keksinnön mukaiseen käyttöön sopivia rasvahappoja voidaan saada luonnollisista lähteistä, jotka ovat sinänsä tunnettuja eivätkä ole osa keksintöä, tai kemiallisin synteesein. Esimerkiksi eräiden kasvien kuten Oenothera biennis, Borago officinalis ja Ribes-suvun jäsenien siemenistä saaduissa öljyissä on usein runsaasti 18:3 n-6 -happoa. Eräistä levistä kuten Spirulina spp ja eräistä sienistä kuten Mortierella spp ja Rhizopus spp saatavat öljyt voivat myös sisältää 18:3 n-6:tta. 20:4 n-6 -happoa on kananmunan keltuaisessa, eräiden sienien ja levien lipideissä, erityisesti lämpimän veden kaloista ja muista merieläimistä saatavissa öljyissä. 18:3 n-3 -happoa on useissa kasviöljyissä, kun taas 18:4 n-3 -happoa on

Ribes-sukuun kuuluvien kasvien siemenöljyissä. 20:5 n-3 - ja 22:6 n-3 -happoja on usein runsaasti merieläimistä saatavissa öljyissä. 22:4 n-6:n ja 22:5 n-6:n luonnollisiin lähteisiin kuuluvat teurastamoilta saatavat lisämu-
5 nuaiset (22:5 n-6) ja munuaiset (22:4 n-6).

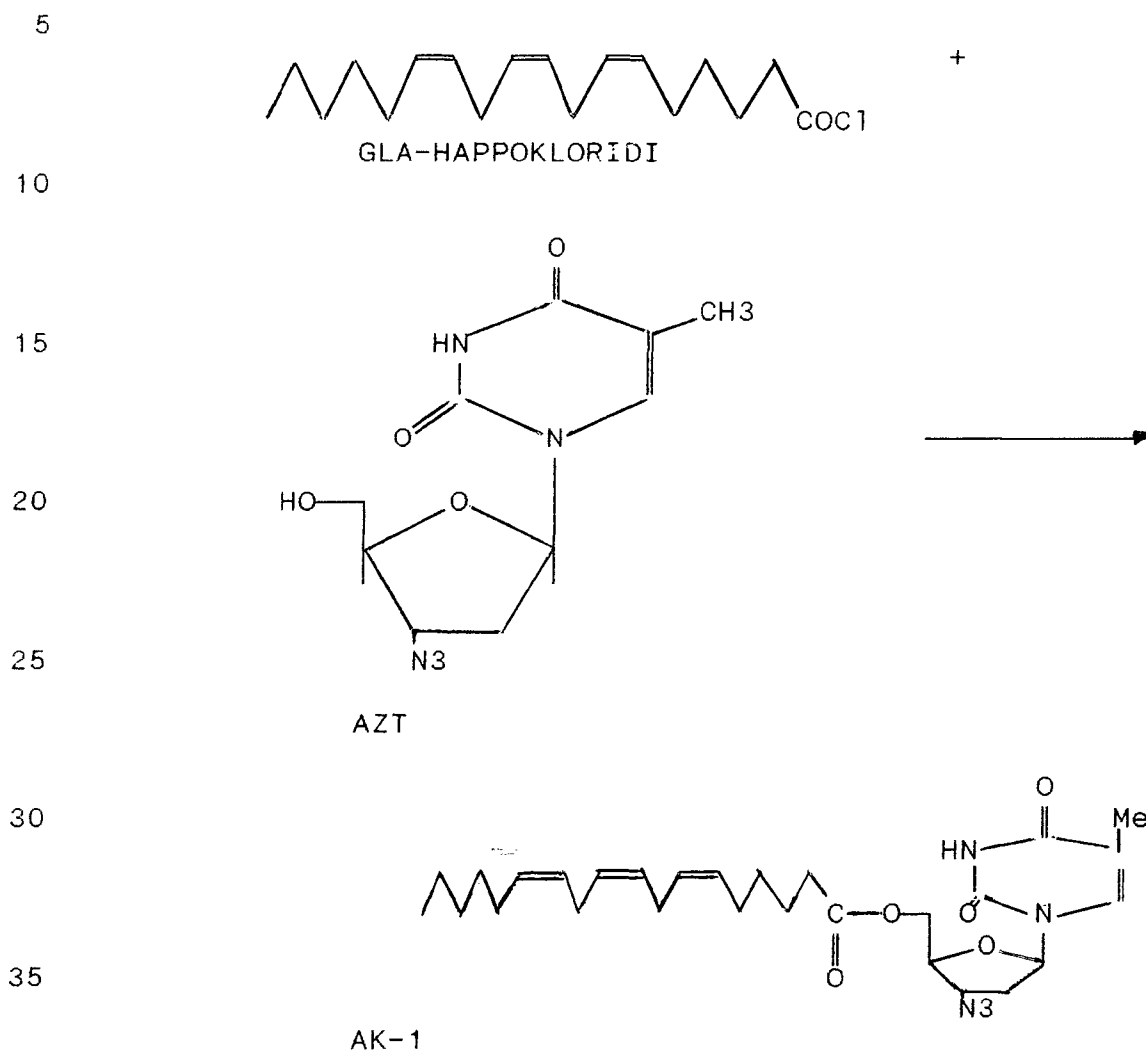
n-9 -sarjan rasvahappoa, öljyhappoa (18:1 n-9) voidaan saada monista kasviöljyistä, varsinkin oliiviöljystä, ja palmitoleiinihappoa (16:1 n-7) on myös useimmissa kasviöljyissä.

- 10 On tarkoitus, ettei missään annostusyksikön sisältämä aktiivisten materiaalin absoluuttinen määrä ole suurempi kuin käytettävä antotapa ja -nopeus huomioonottaen on soveliaista, mutta toisaalta sen halutaan olevan riittävä suuri halutun antonopeuden saavuttamiseksi pientä
15 annoslukumäärää käyttäen. Antonopeus riippuu lisäksi halutusta täsmällisestä farmakologisesta vaikutuksesta.

Annettavien yhdisteiden määrä on 1 mg:sta 20 g:aan päivässä annoksiin jaettuna, edullisesti 10 m:sta 4 g:aan päivässä ja edullisemmin 50 mg:sta 1 g:aan päivässä ja
20 yksikköannokset saadaan sopivasti näistä määristä tai niiden osittaisista kerrannaisista. Yhdisteitä voidaan antaa suun kautta, paikallisesti, suoliston kautta, parenteraalisesti (laskimonsisäisesti, suonensisäisesti, intraperitoneaalisesti, lihaksensisäisesti tai ihonalaisesti) tai millä tahansa muulla sopivalla, sinänsä tunnetulla tavalla ja käyttäen sinänsä tunnettuja antotapoja, vaikka, kuten tässä selitetään, joillain erityisillä antotavoilla on etuja. Siten yhdisteitä voidaan antaa
25 tabletteina, esimerkiksi enterisesti päällystettyinä
30 tabletteina, jotta hajoaminen mahassa estyisi, kovina tai pehmeinä gelatiinikapseleina, siirappeina, emulsioina, liuoksina tai missä tahansa suun kautta tai parenteraa-

lisesti annettavaksi sopivassa muodossa; tai missä tahansa paikalliseen antotapaan sopivassa muodossa kuten salvoina, voiteina, shampoina, liuoksina; tai pessaareina ja muina peräaukon tai emättimen kautta annettavaksi tarkoitetuina lääke­muotoina tai puikkoina. Paikallisesti annettavien tuotteissa olevien aktiivisten yhdisteiden konsentraatio voi olla 0,001 – 20, edullisesti 0,1 – 10 ja erityisen edullisesti 1 – 5 paino-%. Tällaista valmista­ tetta käytetään halutusti niin, että saavutetaan enintään yllämainitut päivittäiset annostukset ja halutusti vaihteluvälien alarajaa vastaavat annostukset, esimerkiksi 20 mg/päivä.

Esimerkki 1. GLA-3'-atsido-3'-deoksitymidiini, GLA-AZT
 ("AK 1") (Menetelmä A)



Valmistustapa: 1,05 mmol AZT:tä (IV 0,280 g) liuotettiin
 40 3 ml:aan vedetöntä pyridiiniä ja tähän liuokseen lisät-
 tiin 1,15 mmol GLA-happokloridia (III 0,340 g). Liuosta
 sekoitettiin 0 °C:ssa tunnin ajan ja sen jälkeen reaktio-
 seos haihdutettiin kuiviin siirapiksi, joka liuotettiin
 dikloorimetaaniin (30 ml) ja pestiin kylläisellä natrium-
 45 bikarbonaattiliuoksella (20 ml). Orgaaninen kerros pois-

tettiin ja haihdutettiin vakuuissa. Raaka oranssinväri-
nen siirappi pantiin 10 g:n silikageelipylvääseen.
Eluointi kloroformilla ja sen jälkeen CHCl_3 :MeOH -seok-
silla seossuhteiden ollessa 20:1, 20:1 ja 10:1, mahdol-
5 listi halutun tuotteen (V) erottamisen. Saanto = 391 mg,
71%. Ainoa ero muiden rasvahappojen ollessa kyseessä on
vastaavan happokloridin käyttö.

Esimerkki 2. GLA-anhydrotymidiini, GLA-AHT ("AK 3")
(Menetelmä A)

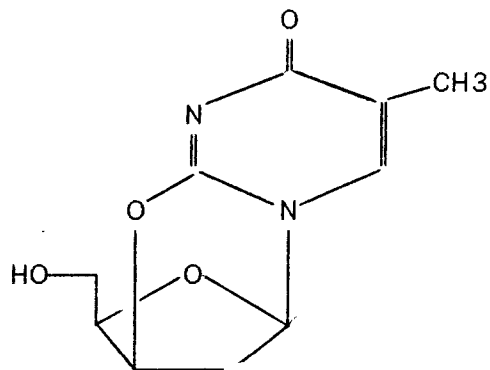
10



15

GLA-HAPPOKLORIDI

20

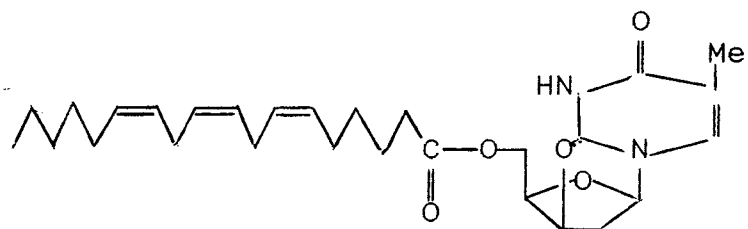


25

30

AHT

35



40

AK-3

Valmistustapa: Kuten GLA-AZT:n, paitsi että kromatografiassa tarvitaan 10 %:sta MeOH:a; otsikonmukaisen tuotteen VIII saanto 70 %. Kuten GLA-AZT:n kohdalla on mainittu, ainoa ero muiden rasvahappojen ollessa kyseessä on
5 vastaavan happokloridin käyttö.

Esimerkki 3. GLA-AZT ("AK 1") (Menetelmä B)

Sekoitettuun AZT:n (0,684 g, 2,58 mmol TLC-homogeenisena kumimaisena aineena) pyridiiniliuokseen (vedetöntä pyridiiniä 10 ml) lisättiin GLA-happokloridia (1,200 g, 4,00
10 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin kuivassa typpi-ilma-kehässä huoneen lämpötilassa kuuden tunnin ajan. Tämän jälkeen TLC (ohutkerroskromatografia) osoitti, että lähtöaine oli hävinnyt täysin ja pyridiini poistettiin vakuuissa haihdutuslämpötilan ollessa alle 45 °C. Tuot-
15 teeksi saatu raaka siirappi liuotettiin kloroformi:petroli -seokseen (2:1, v:v) ("petroli" tarkemmin) ja pantiin silikageelipylvääseen (30 g), joka oli esitasapainotettu kloroformi:petroli -seoksella (2:1). Eluointi kloroformi:petroli -seoksella (2:1)
20 poisti ei-toivotut suuren r.f.-arvon (r.f. lyhentämättömänä) omaavat tuotteet. AK-1 saatiin värittömänä homogeenisena siirappina eluoimalla kloroformi:petroli -seoksella (4:1). Saanto 57 % (0,777 g, 1,47 mmol).

25 Esimerkki 4. LA-AZT ("AK 2")

Tämän tuotteen valmistustapa on täsmälleen sama kuin yllä. Seuraavia ainemääriä käytettiin: AZT 0,723 g, 2,70 mmol, LA-happokloridi 1,3 g, 4,36 mmol, 10 ml vedetöntä pyridiiniä. Saanto 54 % (0,770 g, 1,458 mmol).

30 Esimerkki 5. GLA-AHT ("AK 3") (Menetelmä B)

Anhydrotymidiiniä (0,520 g, 2,319 mmol kuivana valkoisena jauheena) liuotettiin kuivaan pyridiiniin (10 ml) kui-

vassa typpi-ilmakehässä, ja tähän huoneen lämpötilassa sekoitettuun liuokseen lisättiin GLA-happokloridia (0,900 g, 3,02 mmol). Sekoitusta jatkettiin yön yli, minkä jälkeen TLC osoitti lähtöaineen hävinnän täysin.

5 Pyridiini haihdutettiin vakuuissa (alle 45 °C) ja jäljelle jäänyt siirappi liuotettiin kloroformiin ja pantiin silikageelipylvääseen (30 g). Eluoimalla kloroformi:petroli -seoksella (4:1 v:v), sen jälkeen kloroformilla ja kloroformi:etanol -seoksella (50:1)

10 saatiin haluttu johdannainen AK-3 värittömänä TLC-homogeenisena kumimaisena aineena. Saanto 51 % (0,573 g, 1,18 mmol).

Esimerkki 6. LA-AHT ("AK 4")

Tämän tuotteen valmistustapa on täsmälleen sama kuin

15 yllä. Seuraavia ainemääriä käytettiin: AHT 0,643 g, 2,86 mmol, La-happokloridi 1,20 g, 4,00 mmol, 10 ml vedetöntä pyridiiniä. Saanto 55 % (0,765 g, 1,573 mmol).

Esimerkki 7. Di-GLA-ACV ("AK 10") (Menetelmä A)

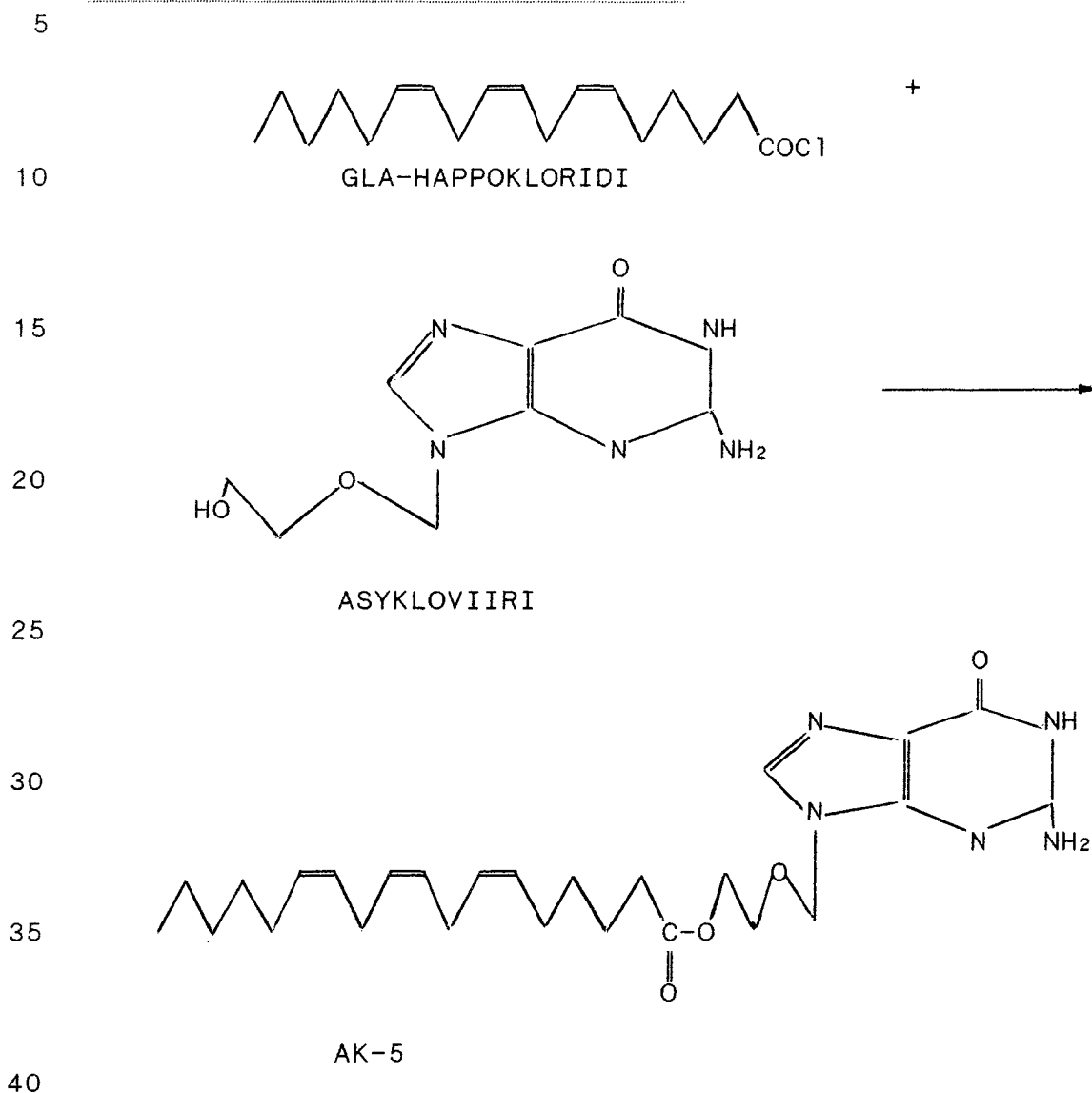
Asykloviiriä (0,85 g) lietetettiin sekoitettuun pyridiini-
20 liuokseen (30 ml) ja gamma-linolenyylikloridi (2,5 g) lisättiin hitaasti. Asykloviiri, joka sinänsä on pyridiiniliukenematon, muuttuu vähitellen liukenevaan muotoon, kun gamma-linolenyyliesterit muodostuu. Liuosta sekoitettiin yön yli ja kaadettiin sitten 200 ml:aan kyl-

25 läistä natriumbikarbonaattiliuosta. Natriumkarbonaattiliuosta uutettiin kahdesti 150 ml:lla kloroformia. Kloroformifraktio kuivattiin vedettömällä natriumsulfaatilla ja haihdutettiin sitten kuiviin vakuuissa. Tuotteeksi saatu kumimainen aine pantiin silikageelipylvääseen (200

30 mesh) heksaanissa ja erotettiin heksaani/kloroformi -seoksella käyttäen kasvavia kloroformiosuuksia, ja haihdutuksen jälkeen saatiin di-gamma-linolenyyliasykloviiri.

Ainoa ero muiden rasvahappojen ollessa kyseessä on vastaavan, esimerkiksi EPA-, LA- tai AA- happokloridin käyttö.

Esimerkki 8. o-GLA - ACV ("AK 5")

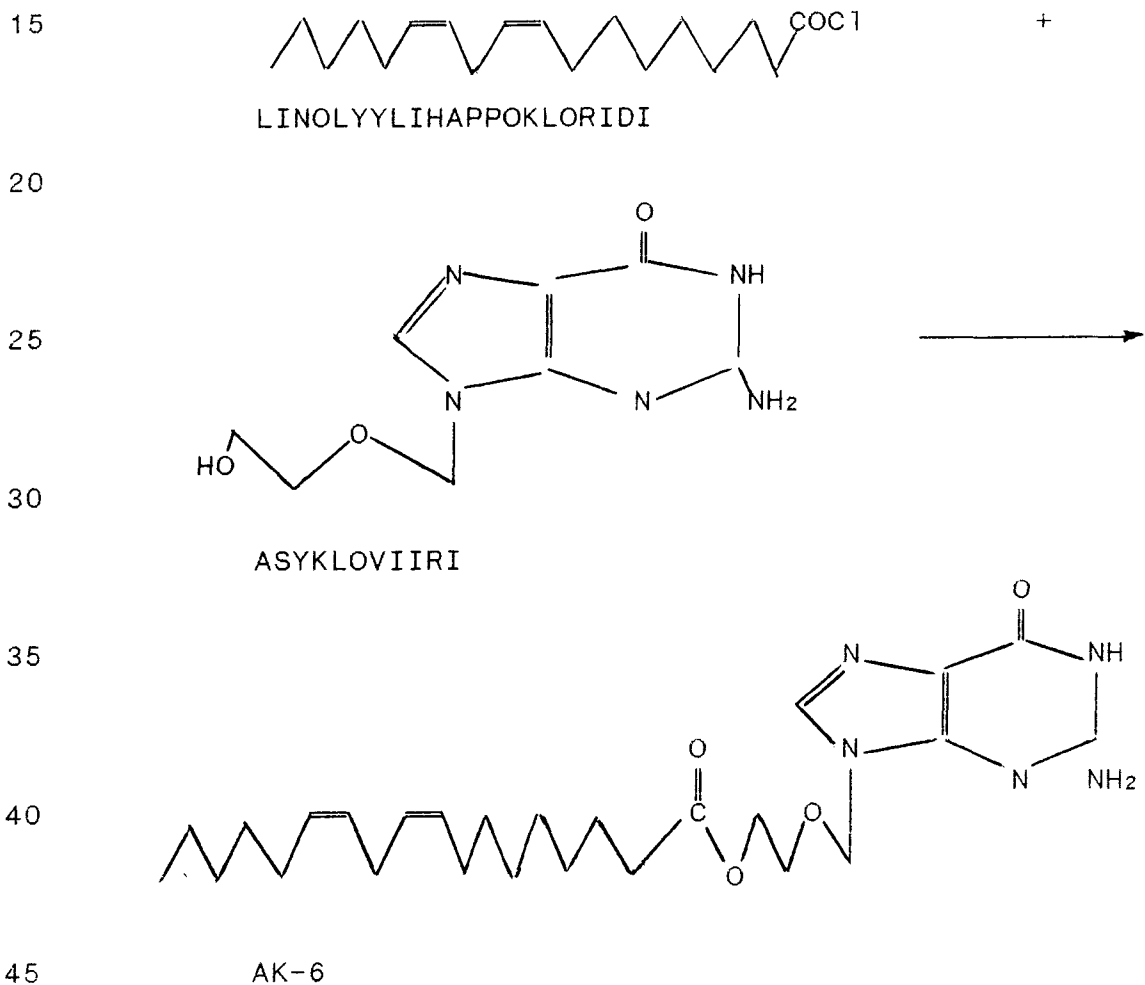


Asykloviiriä (ACV, 0,5 g, 2,22 mmol kuivana valkeana jauheena) lietettiin vedettömään pyridiiniin (10 ml) ja kuivassa typpi-ilmakehässä sekoitettuun seokseen lisättiin GLA-happokloridia (0,788 g, 2,664 mmol). Reaktioseosta sekoi-

45 sekoiettiin yli yön huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen

TLC osoitti, että haluttu tuote oli muodostunut. Pyridiini poistettiin vakuumissa ja jäljelle jäänyt siirappi liuotettiin kloroformiin. Tämä pantiin silikageelipylväeseen (30 g), joka oli esitasapainotettu kloroformi:etanoli - seoksella (30:1, v:v). Eluoimalla kloroformilla ja sen jälkeen sen jälkeen kloroformi:etanoli -seoksilla (30:1), (20:1) ja lopuksi (15:1), saatiin haluttu tuote AK-5 TLC-homogeenisena puolikiinteänä aineena. Saanto 48 % (0,517 g, 1,065 mmol).

10 Esimerkki 9. o-LA - ACV ("AK 6")

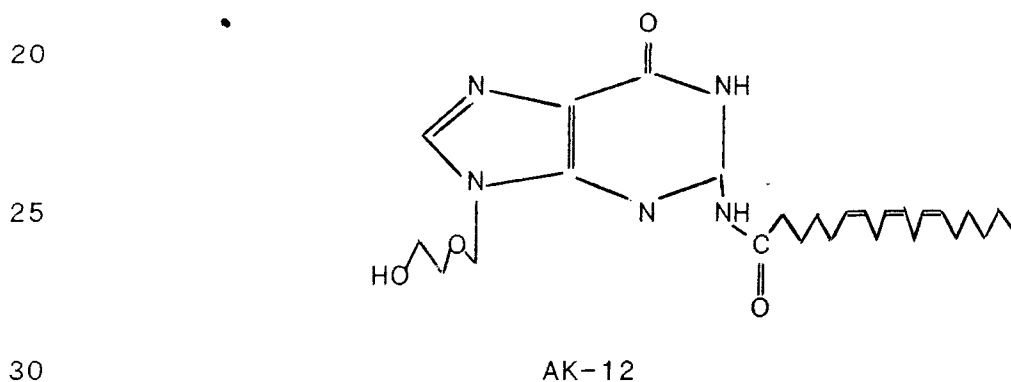
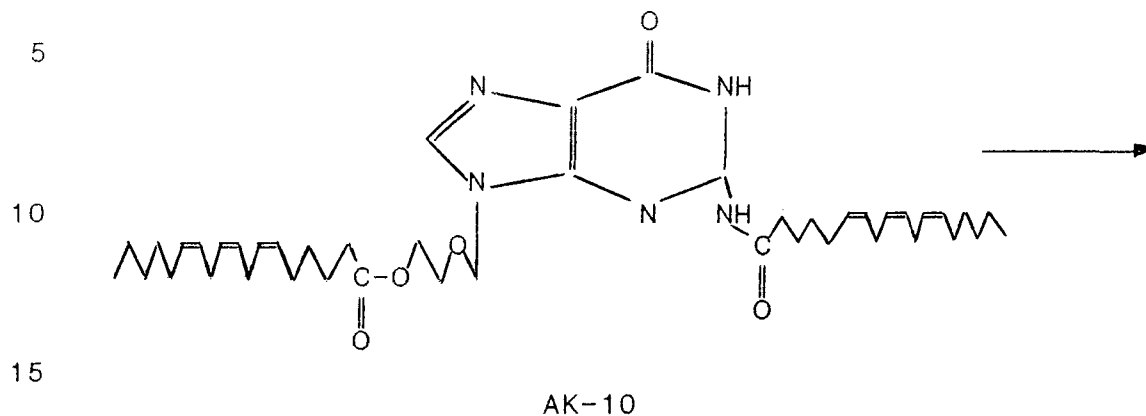


Tämän tuotteen valmistustapa on täsmälleen sama kuin yllä. Seuraavia ainemääriä käytettiin: ACV 0,5 g, 2,22 mmol, LA-happokloridi 0,77 g, 2,58 mmol, 10 ml vedetöntä pyridiiniä. Saanto 45 % (0,487 g, 1,0 mmol).

- 5 Esimerkki 10. Di-GLA-ACV ("AK 10") (Menetelmä B)
Asykloviiriä (ACV, 0,5 g, 2,22 mmol kuivana valkoisena jauheena) lietetttiin vedettömään pyridiiniin (10 ml). Kuivassa typpi-ilmakehässä sekoitettuun seokseen lisätttiin GLA-happokloridia (1,6 g, 5,37 mmol) ja 4-dimetyyliaminopyridiiniä (0,061 g, 0,5 mmol). Reaktioseosta sekoitettiin yön yli huoneen lämpötilassa, minkä jälkeen TLC osoitti halutun tuotteen muodostuneen. Pyridiini poistettiin vakuuissa ja jäljellejäänyt siirappi liuotettiin kloroformiin. Tämä liuos pantiin silikageelipylvääseen
10 (30 g), joka oli esitasapainotettu kloroformilla. Eluomalla kloroformi:petroli -seoksella (3:1, v:v) ja sen jälkeen kloroformilla saatiin haluttu tuote AK-10 TLC-homogeenisena siirappina. Saanto 58 % (0,962 g, 1,20 mmol).

- 20 Esimerkki 11. Di-LA-ACV ("AK 11")
Tämän tuotteen valmistustapa on täsmälleen sama kuin yllä. Seuraavia ainemääriä käytettiin: ACV 0,5 g, 2,22 mmol, LA-happokloridi 1,5 g, 5,1 mmol, 10 ml vedetöntä pyridiiniä. Saanto 60 % (1,001 g, 1,332 mmol).

Esimerkki 12. n-GLA-ACV ("AK 12")



Erä AK-10:tä (0,520 g, 0,698 mmol) liuotettiin vedettömään metanoliin (10 ml) ja vedettömään dioksaaniin (2 ml). (Dioksaani auttaa lähtöaineen liuottamisessa). Liuos

35 jäädytettiin sen jälkeen 0 °C:seen ja 0,25 ml NaOH-liuosta (Aldrichilta, 30 paino-%) lisättiin. Sekoitusta jatkettiin viidentoista minuutin ajan 0 °C:ssa, minkä jälkeen TLC osoitti, että lähtöaine oli hävinnyt kokonaan ja että oli muodostunut hieman pienemmän r.f.-arvon

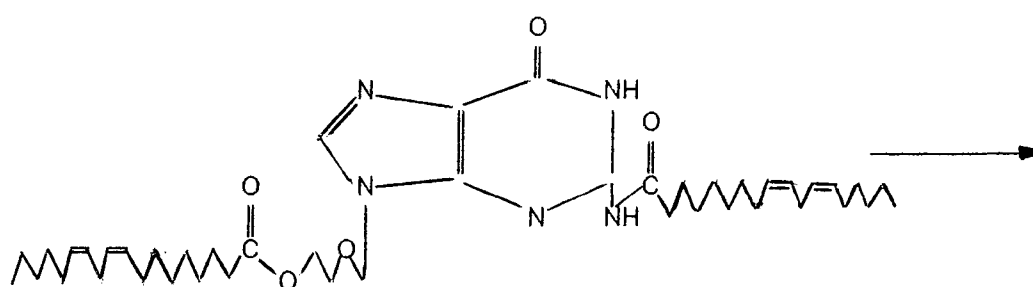
40 omaavaa tuotetta. Dowexin ionivaihtohartsia (20 ml, H⁺ -muodossa) lisättiin ja sekoitusta jatkettiin huoneen lämpötilassa vielä 10 minuuttia. Dowex suodatettiin ja pestiin metanolilla ja suodos yhdistettynä pesuliuoksiin haihdutettiin vakuumissa, jolloin saatiin raakatuote

vaaleankeltaisena kumimaisena aineena. Tuote liuotettiin mahdollisimman pieneen määrään kloroformia ja pantiin silikageelipylvääseen (5 g). Eluoimalla kloroformilla ja sen jälkeen kloformi:metanoli -seoksella (20:1) saatiin 5 haluttu tuote valkeana kiinteänä aineena. Saanto oli 63 % (0,214 g, 0,441 mmol).

Esimerkki 13. n-LA-ACV ("AK 13")

10

15

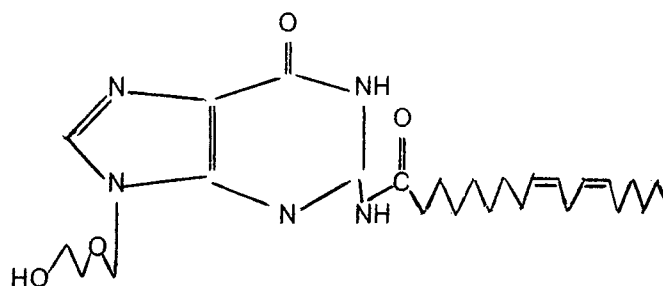


20

AK-11

25

30

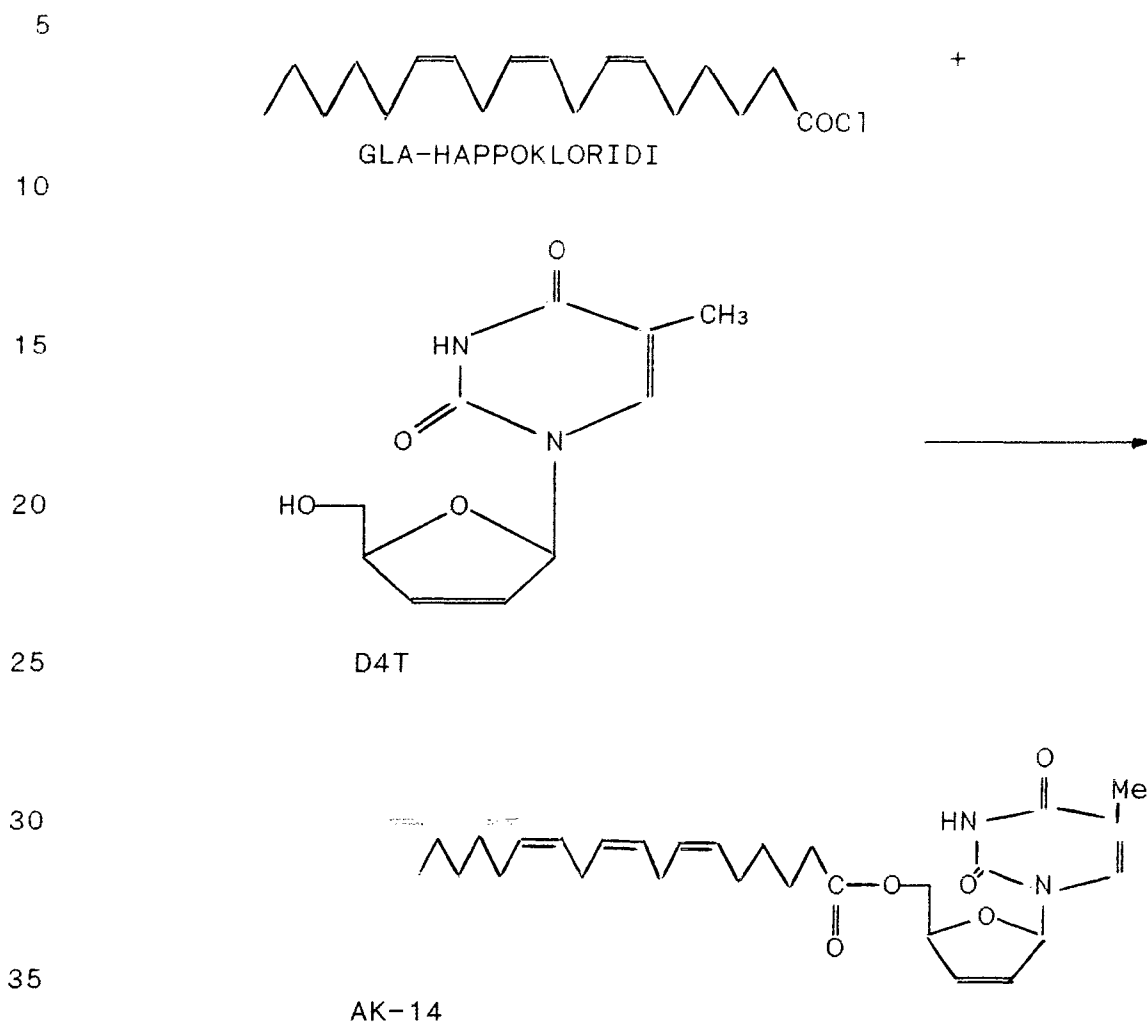


35

AK-13

Tämän tuotteen valmistustapa on täsmälleen sama kuin yllä. Seuraavia ainemääriä käytettiin: AK-11 0,786 g, 1,100 mmol ja 0,30 ml NaOMe-liuosta. AK-13:n saanto oli 40 kromatografoinnin jälkeen 61 % (0,326 g, 0,67 mmol).

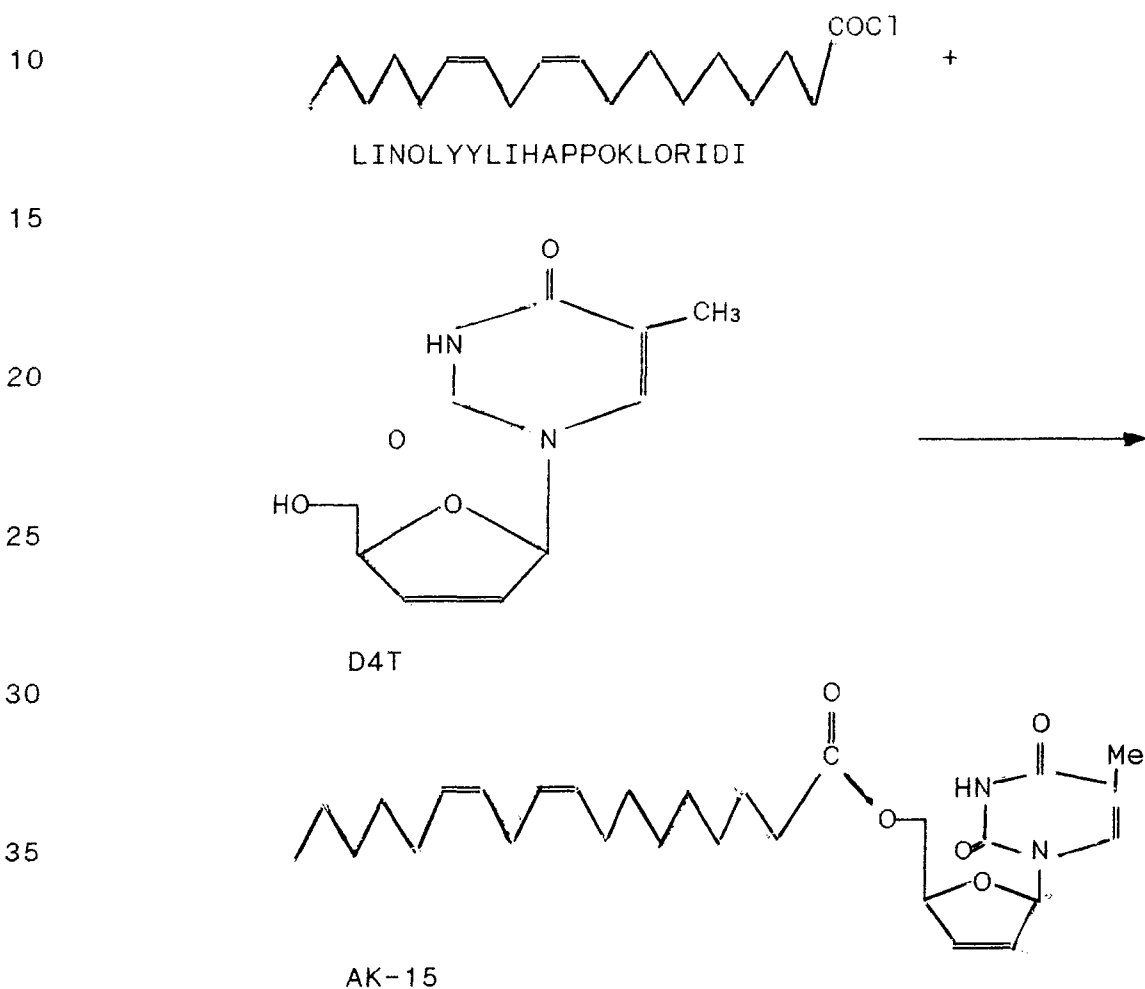
Esimerkki 14. GLA-D4T ("AK 14")



Dideoksididehydrotymidiinin (0,420 g, 1,910 mmol) pyri-
 diiniliuos (8 ml vedetöntä pyridiiniä) jäädytettiin 0
 40 °C:seen ja tähän liuokseen lisättiin GLA-happokloridia
 (1,138 g, 3,818 mmol). Liuosta sekoitettiin yön yli kui-
 vassa typpi-ilmakehässä, minkä jälkeen TLC osoitti läh-
 töaineen hävinneen täysin. Pyridiini poistettiin vakuu-
 missa ja jäljellejäänyt siirappi liuotettiin
 45 kloroformi:petroli -seokseen (2:1). Tämä liuos pantiin
 silikageelipylväaseen (20 g), joka oli esitasapainotettu

kloroformi:petroli -seoksella (2:1). Eluoimalla kloroformi:petroli -seoksella (2:1), (3:1) ja lopuksi kloroformilla saatiin haluttu tuote TLC-homogeenisena siirappina. Saanto 59 % (0,542 g, 1,13 mmol).

5 Esimerkki 15. LA-D4T ("AK 15")



Tämän tuotteen valmistustapa on täsmälleen sama kuin yllä. Seuraavia ainemääriä käytettiin: D4T, 0,380 g, 1,727 mmol ja linolylylikloridia (1,033 g, 3,45 mmol) vedettömässä pyridiinissä (10 ml). Kromatografoinnin jäl-
45 keen saanto oli 53 % (0,442 g, 0,92 mmol).

Seuraavat synteesiesimerkit on esitetty lyhennetyssä muodossa ja niissä käytetään samoja menetelmiä, mutta eri lähtöaine-emäksiä. Ne on kirjoitettu LA-johdannaisten valmistusta kuvaamaan, mutta muita n-6 -sarjan kuten esimerkiksi erityisesti GLA:n johdannaisia ja n-9 -, n-7 -, ja n-3 -sarjojen johdannaisia voidaan kaikkia, samoin kuin esimerkeissä 1 - 15, valmistaa käyttäen haluttujen happojen happoklorideja erityisesti mainittujen LA:n ja GLA:n sijasta.

10 Esimerkki 16. o-LA-ddC "NL 1"

Tämän synteesin toteutustapa on AK2:n synteesiä vastaava, mutta tässä käytetään lähtöaineena ddC:tä; tavanomainen suojaryhmä lisätään ensin emäksen aminoasemaan rajoittamaan seuraavan reaktion tapahtuvaksi linolyylihappokloridin ja 5'-hydroksiryhmän välillä. Esterisidoksen muodostumisen jälkeen suojaryhmä poistetaan, jolloin saadaan otsikon mukainen tuote ("o" viittaa rasvahappoasyyli-ryhmän sitoutumiseen 5'-hydroksiryhmän happiatomiin).

Esimerkki 17. n-LA-ddC "NL 2"

20 Tämän synteesin toteutustapa on myös AK2:n synteesiä vastaava; mitään aminoryhmän suojaryhmää ei kuitenkaan käytetä. Koska pyrimidiinirenkaan aminoasema on reaktiivisempi kuin hydroksiasema, ensimmäinen muodostuva asyyliyhdiste on n-LA-ddC (amidisidos, "n" viittaa rasvahappoasyyli-ryhmän sitoutumiseen heterosyklisen aminoryhmän typpi-atomiin).

Esimerkki 18. di-LA-ddC "NL3"

Tämän synteesin toteutustapa on täsmälleen sama kuin ylläesitetty, mutta se viedään loppuun asti. Molemmat, 30 sekä hydroksyyli- että amiiniryhmä reagoivat linolyylihappokloridin kanssa.

Esimerkki 19. o-LA-ddA "NL 4"

Tämän synteessin toteutustapa on sama kuin NL1:n paitsi että ddA:ta käytetään lähtöaine-emäksenä.

Esimerkki 20. n-LA-ddA "NL 5"

- 5 Tämän synteessin toteutustapa on sama kuin NL2:n paitsi että ddA:ta käytetään lähtöaine-emäksenä.

Esimerkki 21. di-LA-ddA "NL 6"

Tämän synteessin toteutustapa on sama kuin NL3:n paitsi että ddA:ta käytetään lähtöaine-emäksenä.

10 Esimerkki 22. n-LA-DHPG "NL 7"

- Tämän synteessin toteutustapa on sama kuin AK13:n paitsi että gansykloviiriä käytetään asykloviirin tilalla. Reak-
tion alkuolosuhteet johtavat sekä esterisidosten muodostumiseen kuten NL 8:n valmistusreaktiossa,
15 mutta esterisidokset hydrolysoidaan myöhemmin alkalisissa olosuhteissa.

Esimerkki 23. tri-LA-DHPG "NL 8"

(kaksi esterisidosta, yksi amidisidos)

Tämän aineen valmistustapa on vastaava kuin AK 11:n.

20 Esimerkki 24. o-di-LA-DHPG "NL 9"

Tämän aineen valmistustapa on vastaava kuin AK 6:n.

Seuraavat lääkevalmiste-esimerkit valaisevat keksinnön hoidollista sovellusta, lääkevalmisteiden valmistustavan ollessa sinänsä tavanomainen kuten jäljempänä esitetään:

a. Suspensiosiiirappi

	aktiivinen aines	0,25 g
	sorbitoliliuos	1,5 g
	glyseroli	0,005 g
5	dispersoituva selluloosa	0,005 g
	natriumbentsoaatti	0,010 ml
	vesi	5 litraa

Sekoita sorbitoli ja glyseroli osaan vettä. Liuota natriumbentsoaatti veteen ja lisää liuokseen, lisää sen
 10 jälkeen selluloosa ja aktiivinen aines ja dispersoi ne. Täytä lopputilavuuteen.

b. Peräpuikko

		mg/peräpuikko
	aktiivinen aines	250
15	kova rasva, BP (Witepsol H15- Dynamit Nobel (kauppamerkki))	1770
		<hr/>
		2020

Yksi viidesosa Witepsol H15:stä sulatetaan 45 °C:ssa ja aktiivinen aines lisätään sulatettuun perusmassaan
 20 sekoittaen. Loppuosa Witepsol H15:stä lisätään ja seos homogenisoidaan sekoittaen. Koko suspensio viedään ruostumattomasta teräksestä valmistetun 250 µm seulan läpi, jäähdytetään 38 - 40 °C:seen ja täytetään muovisiin muotteihin.

25 Lääkkeen anto peräpuikkona mahdollistaa sen pääsyn verenkiertoon ilman kulkua porttilaskimon kautta maksaan, jossa glukuronidaatio ja muut aktiivista lääkeainetta hävittävät prosessit pääasiallisesti tapahtuvat.

c. Pessaarit

	mg/pessaari
aktiivinen aines	250
vedetön glukoosi	380
5 perunatärkkelys	363
magnesiumstearaatti	7
	<hr/>
	1000

Yllämainitut ainekset sekoitetaan ja pessaari valmistetaan saadusta seoksesta puristamalla.

Pessaarit kuten esimerkeissä d), e) ja j) esitetyt lääkevalmisteetkin ovat esimerkkejä paikallisista lääkevalmisteista, joilla on edullinen imeytymiskyky ihoon johtuen keksinnön mukaisten johdannaisten yhteensopivuudesta rasvojen kanssa.

d. Voide

	paino (g)
aktiivinen aines	5,0
glyseroli	2,0
20 setostearyylialkoholi	6,8
natriumlauryylisulfaatti	0,8
valkoinen pehmeä parafiini	12,5
nestemäinen parafiini	5,0
kloorikresoli	0,1
25 puhdistettu vesi	100,00

Aktiiviset yhdisteet liuotetaan puhdistetun veden ja glyserolin seokseen ja kuumennetaan 70 °C:seen. Muita aineksia kuumennetaan yhdessä 70 °C:ssa. Nämä kaksi osaa yhdistetään ja emulsoidaan. Seos jäädytetään ja täytetään säiliöihin.

e. Salva

	paino (g)
aktiivinen aines	12
valkoinen pehmeä parafiini	88
5	<hr/>
	100

Valkoinen pehmeä parafiini sulatetaan 60 °C:ssa. Aktiivinen aines lisätään ja dispersoidaan, annetaan jäähtyä ja täytetään taitettaviin metalliputkiloihin.

10 f. Injektio

	paino
aktiivinen aines	250 mg
intralipidi (Kabi-Vitrium)	10 ml

Tämä seosta voidaan käyttää esimerkiksi laskimonsisäiseen
15 injektioon.

g. Tabletti

	mg/tabletti
aktiivinen aines	100
laktoosi	235
20 tärkkelys	50
polyvinyylipyrrolidoni	50
magnesiumstearaatti	5
	<hr/>
	500

25 Sekoita aktiivinen aines laktoosin ja tärkkelyksen kanssa ja märkägranuloi polyvinyylipyrrolidoniliuoksella. Kuvaa, seulo, sekoita jyvät magnesiumstearaattiin ja purista.

Nämä lääkevalmisteet g), h) ja i) ovat esimerkkeinä
30 siitä, miten keksinnön mukaisten johdannaisten yhteen-

sopivuus lipidien kanssa johtaa lääkkeen imeytymiseen osittain suoraan lymfaattiseen järjestelmään välttämällä näin edullisesti suoran läpikulun maksan kautta, mihin on jo viitattu.

5 h. Kapseli (I)

	mg/kapseli
aktiivinen aines	200
laktoosi	189
natriumtärkkelysglykolaatti	8
10 polyvinyylipyrrolidoni	6
magnesiumstearaatti	2
	<hr/>
	400

Sekoita aktiivinen aines laktoosin ja natriumtärkkelys-
15 glykolaatin kanssa ja märkägranuloi polyvinyylipyrrolidoniliuoksella. Kuivaa, seulo, sekoita jyvät magnesiumstearaattiin ja täytä kovagelatiinikapseleihin.

i. Kapseli (II)

	mg/kapseli
20 aktiivinen aines	100
arakiöljy	500 ml

Aktiivinen aines sekoitetaan arakiöljyyn ja täytetään
pehmeä- tai kovagelatiinikapseleihin.

Arakiöljylääkeyhdistelmiä voidaan käyttää esimerkiksi
25 silmän herpesinfektioita vastaan.

j. Paikalliseen hoitoon tarkoitettu valmiste (neste)

aktiivinen aines	0,5 %
propyleeniglykoli	50,0 %
etanoli	49,5 %

Seuraavassa on lueteltu yllämainittujen lääkevalmisteiden erityisiä käyttöesimerkkejä:

Esimerkki (1) 300 mg GLA-AZT:tä sisältävät tabletit. Otetaan 1 tai 2 tablettia joka 4-6 tunti herpes simplex - tai HIV- tai samantyyppisiä retrovirusinfektioita vastaan.

Esimerkki (2) Tabletit kuten esimerkissä (1), mutta niiden valmistuksessa käytetään AZT:n EPA- tai arakidonihappojohdannaista.

10 Esimerkki (3) 150 mg GLA-AZT:tä sisältävät kovage-latiinikapselit. Otetaan 1 tai 2 kapselia joka 4-6 tunti herpes simplex - tai retrovirusinfektioita vastaan.

Esimerkki (4) Suun kautta annettava siirappi, joka sisältää 150 mg GLA-AZT:tä / 5 ml. Otetaan 5 ml joka 4-6 tunti herpes simplex - tai retrovirusinfektioita vastaan.

Esimerkki (5) Suun kautta annettava tai lihakseen tai laskimoon injektoitava liuos, joka sisältää 200 mg GLA-AZT:tä 3 ml:ssa, annetaan joka 4-6 tunti herpes simplex - tai retrovirusinfektioita vastaan. Laskimon-sisäinen injektio on edullinen menetelmä esimerkiksi haluttaessa saada aikaan hoidollisesti merkittävä pitoisuus aivokudokseen veri-aivo -esteen läpi.

Esimerkki (6) Paikallisesti annettava salva tai voide herpes simplexia vastaan, sisältäen 2 paino-% GLA-AZT:tä. Sitä voidaan antaa ihmiselle, jota vaivaavat herpesksen aiheuttamat vauriot 1 - 5 mg/cm² kolme kertaa päivässä viikon ajan vaurioituneisiin kohtiin. Vaurioituneiden alueiden koon pieneneminen voidaan havaita kolmen päivän kuluttua.

Esimerkit (7) - (18) Vastaavasti GLA-AHT:tä tai joko LA-AHT:tä tai LA-AZT:tä käytetään erikseen edellämainituin määrin edellämainituissa lääkevalmisteissa. Muita samoihin lääkevalmisteisiin ja käyttötarkoituksiin sopivia vaihtoehtoja ovat vastaavat valmisteet, jotka perustuvat synteesisimerkkien 14 - 21 ddC-, ddA- ja D4T-johdannaisiin, nimittäin AK14:ään ja 15:een ja yhdisteisiin NL1 - 6.

Esimerkki (19) 800 mg GAL-AZT:tä sisältävät kovagelatiinikapselit. Otetaan 1 tai 2 kapselia joka 4-6 tunti herpes zosteria vastaan.

Esimerkki (20) 300 mg di-GLA- tai o-GLA-asykloviiriä (synteesisimerkit (7) ja (8)) sisältävät tabletit; otetaan 1 tai 2 tablettia joka 4-6 tunti virusinfektioita vastaan. Synteesisimerkin 11 mukainen n-GLA-asykloviiri on vaihtoehtoinen yhdiste.

Esimerkki (21) Tabletit kuten esimerkissä (20), mutta valmistettu käyttäen vastaavia asykloviirin LA-, EPA- tai arakidonihappojohdannaisia.

Esimerkki (22) 150 mg o-GLA-asykloviiriä tai muita johdannaisia sisältävät kovagelatiinikapselit; otetaan 1 tai 2 kapselia joka 4-6 tunti virusinfektioita vastaan.

Esimerkki (23) 150 mg o-GLA-asykloviiriä tai muita johdannaisia / 5 ml sisältävä suun kautta annettava siirappi; otetaan 5 ml joka 4-6 tunti virusinfektioita vastaan.

Esimerkki (24) Paikallisesti annettava, 2 paino-% o-GLA-asykloviiriä tai muita johdannaisia sisältävä salva tai voide virusinfektioita vastaan.

Esimerkit (25) - (29) DHPG- (gansykloviiri-) johdannaisia käytetään vastaavasti kuten esimerkeissä (22) - (24) on esitetty.

Herpes simplex ja herpes zoster kuuluvat virusinfektioihin, joita vastaan yllämainittuja lääkevalmisteita (20) - (29) voidaan käyttää.

Eräiden uusien yhdisteiden fysikaaliset ominaisuudet on mitattu seuraavasti:

Taulukko 3

10		Vesi-kloroformi -jakautumiskertoimet	
	Yhdiste		% kloroformifaasissa
	AK 1	GLA - AZT	> 99 %
	AK 2	LA - AZT	> 99 %
	AK 3	GLA - AHT	> 98 %
15	AK 4	LA-AHT	> 99 %
	AK 5	GLA-ACV	> 99 %
	AK 6	LA - ACV	> 99 %
	AK 7	AZT (vertailu)	15 %
	AK 8	AHT (vertailu)	4 %
20	AK 9	ACV (vertailu)	< 1 %
	AK 10	di-GLA-ACV	> 99 %
	AK 11	di-LA-ACV	> 99 %

Taulukko 4

		Absoluuttiset liukoisuudet	
		Veteen	CHCl ₃ :een *
5	AK 5 GLA - ACV	0,028 g/l	> 50 g/l
	AK 6 LA-ACV	0,014 g/l	> 50 g/l
	AK 9 ACV	1,590 g/l	0,006 g/l

10 * 98 - 99 %:sti puhdas, 1 % stabiloivaa etanolia

Kuten on jo mainittu, rasvahappo-ACV -yhdisteiden merkittävästi ACV:n verrattuna kasvanut liukoisuus kloroformiin, AZT/AHT:n liukoisuuden ollessa tähän verrannollinen, on tärkeä ominaisuus lääkkeen farmakokinetiikkaa
 15 ajatellen. Lipofiiliset yhdisteet kulkevat solumembraanien läpi ja vaikuttavat sytoplasmassa. Vesiliukoiset yhdisteet eivät normaalisti läpäise helposti solumembraaneja ja vaativat erityisiä kuljetusmekanismeja membraanin läpi, jotta niiden solunsisäinen pitoisuus kohoaa korkeaksi.
 20 keaksi. Rasvahaponukleosidianalogijohdannaisten öljymäiset ominaisuudet sinänsä helpottavat edelleen virustenvastaisten lääkevalmisteiden valmistusta, muotoilua ja käyttöä (erityisesti paikallista).

A. Viruksen replikaation estäminen, menetelmä

25 1. Hamsterinpoikasen munuaissolut (BHK-21) valmistetaan yksisoluisiksi kerrokseksi petriمالجoihin, joissa on ETC-alustaa (Eaglen välttämätön minimaalialusta + 10 % tryptosifosfaattiliientä + 10 % vastasyntyneen vasikan seerumia).

2. Inkuboinnin jälkeen alusta kaadetaan pois, jolloin jäljelle jää solukerros, joka on kiinnittynyt petrimaljaan. Liuos, jossa on virusta, erityisesti esimerkiksi herpes simplex -virusta tyyppiä I (HSV I) ETC -alustassa lisätään sen jälkeen maljaan ja inkuboidaan heiluttaen ajoittain tunnin ajan, jotta virus adsorboituisi soluihin. Kiinnittymätön virus poistetaan kaatamalla virusta sisältävä alusta ja pesemällä kahdesti uudella steriilillä alustalla. Tässä vaiheessa voidaan lisätä alustaan eri pitoisuuksia lääkeainetta.

3. Viruksen annetaan lisääntyä vielä 24 tunnin ajan soluissa, joihin se on kiinnittynyt, minkä jälkeen viljelmiä käsitellään niin, että tuotettujen virusten määrä voidaan määrittää. Ensin maljat jäädytetään -70°C :seen ja sulatetaan, jotta solukerrokset ja solut hajoavat. Sen jälkeen alusta ja hajonneet solut siirretään bijou-pul-loihin ja käsitellään ultraäänellä, niin että solut rikkoutuvat täydellisesti ja kaikki niiden sisältämät viruspartikkelit vapautuvat. Käsitelty alusta laimennetaan sen jälkeen tuoreella steriilillä ETC-alustalla siten, että saadaan alkuperäisen petrimaljanesteen laimennokset 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} ja 10^{-8} .

4. Viruspartikkelien lukumäärä (laikun muodostusyksiköinä) laimennoksissa määritetään. Vakioitu lukumäärä BHK-soluja (tavallisesti 8×10^6) lisätään 2 ml:aan laimennettuja liuoksia ja inkuboidaan tunnin ajan ravistaen samalla varovasti ja lisätään sen jälkeen 8 ml Eaglen välttämätöntä minimaalialustaa + 2 % vastasyntyneen vasikan seerumia + karboksymetyyliselluloosaa solususpensioon. Tällä alustalla on hyödyttäviä ominaisuuksia, jotka estävät viruksen leviämisen alustan kautta ja jotka edistävät erillisten laikkujen muodostumista yksisolukeroksiin. Kutakin laimennosta vastaava alusta siirretään

petrimaljoihin ja inkuboidaan kahden - kolmen päivän ajan.

5. Muodostuneiden laikkujen lukumäärä lasketaan ja aktiivisen viruksen määrä ilmaistuna laikunmuodostusyksikköinä (pfu) seuraavasti. Alusta kaadetaan pois ja yksisolukerros kiinnitetään käyttäen 10 %:sta formaldehydi-suolaliuosta ja värjätään laimealla karbolifuksiinilla. Laikkujen lukumäärä kussakin petrimaljassa lasketaan. Laimennoksiin perustuen lasketaan laikun muodostavien viruspartikkelien lukumäärä alkuperäisissä liuoksissa.

B. Viruksen inaktivointi, menetelmä

1. Fosfaattipuskuroituun suolaliuokseen (Dulbeccon A) valmistetaan virusliuos, joka sisältää 2×10^5 pfu/ml.
- 15 2. Testattavasta yhdisteestä tehdään Dulbeccon A -alustaan sopivat laimennokset.
3. Yhtä suuret tilavuudet virus- ja lääkeaineliuosta sekoitetaan keskenään. Kontrolliliuoksia, joissa ei ole lääkeainetta, käytetään myös.
- 20 4. Virusta ja lääkeainetta inkuboidaan sopivan ajan, tässä esimerkissä 30 minuuttia.
5. Aktiivisten viruspartikkeleiden lukumäärä liuoksessa määritetään saman tapaan kuin kohdissa 4 ja 5 osassa A on esitetty.

25 C. Tulokset, AZT ja AHT

On tunnettua, että AZT:llä ei yksinään ole mitään vaikutusta herpes simplex -viruksen replikaatioon eikä inaktivoi virusta, katso esimerkiksi E. de Klerk et al.,

Biochemical Pharmacology 29: 1849, (1980) ja sama pätee myös AHT:hen. Keksijät ovat kuitenkin tutkineet alkoholi-
muotoisen GLA:n , LA:n, ja tässä esitetyllä tavalla val-
mistettujen GLA-AZT:n ja GLA-AHT:n sekä vastaavien LA-
5 yhdisteiden vaikutusta tyyppin 1, Troisbelin kannan herpes
simplex -virukseen.

Ensimmäisessä tutkimuksessa testattiin, voiko joko GLA-
AZT tai GLA-alkoholi estää viruksen replikaation ja tämä
toteutettiin käyttäen ylläesitettyä menetelmää. GLA-alko-
10 holilla ei havaittu olevan mitään vaikutusta. GLA-AZT:llä
saadut tulokset on esitetty alla (taulukko 5). Taulukossa
esitetyt luvut ovat viruspartikkelien pitoisuuksia
soluissa + alustassa replikaatiovaiheen (3) lopussa,
yksikkönä pfu/ml.

15 Taulukko 5

Replikaation estäminen

	GLA-AZT:n pitoisuus µg/ml	molaarisuus	Virustiitteri (pfu/ml)
	0	0	9,0 x 10 ⁸
20	25	47,5 x 10 ⁻⁶	1,02 x 10 ⁸
	50	95,0 x 10 ⁻⁶	< 1,0 x 10 ²

Luvut osoittavat, että täysin päinvastoin kuin AZT tai
GLA-alkoholi yksin, yhdiste GLA-AZT pystyi estämään
viruksen replikaation tehokkaasti. Uusilla yhdisteillä
25 osoittautui siten olevan ominaisuus, joita ei ollu kum-
mallakaan rakenneosalla, nimittäin kyky estää herpes-
viruksen replikaatio. Vastaavia tuloksia saadaan testat-
taessa AHT- tai LA-yhdisteitä.

Toisessa tutkimuksessa testattiin, inaktivoiko joko GLA-AZT tai GLA-alkoholi herpesviruksen. Tulokset on esitetty alla (taulukko 6). Taulukossa esitetyt luvut ovat viruspartikkeleiden pitoisuuksia sen jälkeen, kun virusta on 5 inkuboitu 30 minuutin ajan lääkeaineliuoksissa.

Taulukko 6

Viruksen inaktivaatio

(a) GLA-alkoholi		
$\mu\text{g/ml}$	molaarisuus	virustiitteri
10	0	$5,4 \times 10^4$
	5	$3,0 \times 10^3$
	10	$2,2 \times 10^2$
	25	$< 1,0 \times 10^2$
(b) GLA-AZT		
$\mu\text{g/ml}$	molaarisuus	virustiitteri
15	0	$4,5 \times 10^4$
	5	$2,7 \times 10^3$
	10	$< 1,0 \times 10^2$
	25	$< 1,0 \times 10^2$

20 Luvut osoittavat, että sekä GLA-alkoholi että GLA-AZT pystyivät inaktivoimaan herpes simplex -viruksen, mutta GLA-AZT oli tehokkaampi. Vastaavasti LA on aktiivinen vastaavissa pitoisuuksissa kuin GLA, ja LA-AZT pitoisuuksissa 1 - 3 $\mu\text{g/ml}$, AHT-johdannaisilla saatujen tulosten 25 ollessa vastaavia. Muiden viruksia tuhoavien rasvahappojen voi tästä seuraten olettaa säilyttävän aktiivisuutensa johdannaismuodossa käytettynä.

Yhteenvetona voidaan todeta, että AZT:llä ja AHT:llä ei ole yksinään mitään vaikutusta herpes simplex I -viruksen

replikaatioon eivätkä ne inaktivoi sitä, ja kun GLA yksinään tai muut hapot kuten LA pystyvät jossain määrin inaktivoimaan herpesviruksen, ne eivät pysty lainkaan estämään viruksen replikaatiota. Sitä vastoin sellaiset yhdisteet kuten esimerkiksi AZT-GLA ja AZT-LA ja vastaavat AHT-johdannaiset pystyvät sekä inaktivoimaan herpesviruksen että estämään sen replikaation. Jälkimmäistä vaikutusta ei erityisesti olisi voitu ennustaa kahden aineen tunnettujen erillisten vaikutusten perusteella.

10 D. Tulokset, ACV ja aineet yleensä

Yllämainittuja menetelmiä käyttäen saatiin seuraavassa taulukossa esitetyt tulokset ACV:n ja sen johdannaisten ja samoin AZT:n ja AHT:n osalta.

Taulukko 7

Yhdisteiden virustenvastainen vaikutus
Herpes simplex I -virusta vastaan

	Yhdiste	Viruksen inaktivaatio (virustiitterin pieneneminen (log ₁₀))	Viruksen replikaation esto (virustiitterin pieneneminen (log ₁₀))
5			
10	AK 1 GLA-AZT	1,0 à 1 mg/l 2,0 à 5 mg/l	ei inhibitiota 100 mg:aan/l asti
	AK 2 LA-AZT	2,2 à 1 mg/l 2,8 à 5 mg/l	ei inhibitiota 100 mg:aan/l asti
15	AK 3 GLA-AHT	1,6 à 0,5 mg/l 2,7 à 1,0 mg/l	0,5 à 25 mg/l 0,9 à 50 mg/l 1,2 à 100 mg/l
	AK 4 LA-AHT	2,75 à 1 mg/l 2,9 à 5 mg/l	ei inhibitiota 100 mg:aan/l asti
	AK 5 GLA-ACV	ei inaktivaatiota 50 mg:aan/l asti	1 à 0,1 mg/l 2,2 à 0,5 mg/l
20	AK 6 LA-ACV	ei inaktivaatiota 50 mg:aan/l asti	2,4 à 1 mg/l 4,2 à 5 mg/l
	AK 7 AZT	ei inaktivaatiota 50 mg:aan/l asti	ei inhibitiota 100 mg:aan/l asti
25	AK 8 AHT	ei inaktivaatiota 10 mg:ssa/l	ei replikaation estoa
	AK 9 ACV	ei inaktivaatiota 50 mg:aan/l asti	2 à 0,1 mg/l 2,3 à 0,5 mg/l
30	AK 10 di-GLA-ACV	0,94 à 1 mg/l 1,54 à 5 mg/l	0,45 à 0,1 mg/l 0,86 à 0,5 mg/l 1,13 à 1,0 mg/l
	AK 11 di-LA-ACV	0,15 à 1 mg/l 1,55 à 5 mg/l	1,69 à 1 mg/l 2,46 à 5 mg/l
	AK 12 n-GLA-ACV	0,6 à 1 mg/l 1,4 à 5 mg/l	1,9 à 0,1 mg/l 3,9 à 1 mg/l
35	AK 13 n-LA-ACV	1,3 à 1 mg/l 1,8 à 5 mg/l	2,45 à 0,1 mg/l 4,3 à 1 mg/l

HIV:n vastaisen aktiivisuuden määrittäminen

HIV-virusta koskevat tulokset saatiin Pauwelsin et al menetelmällä, Journal of Virological Methods 20, 309-321 (1988), seuraavasti:

5 Menetelmä

MT-4 -solut ($2,5 \times 10^4$ / kyvetti) infektoitiin HIV:llä (100 CCID₅₀) ja niitä inkuboitiin testattavien yhdisteiden eri pitoisuuksissa (lisättiin välittömästi virusinfektion jälkeen). Viiden päivän inkuboinnin jälkeen 37 °C:ssa CO₂-inkubaattorissa, elinkykyisten solujen lukumäärä määritettiin MTT- (tetratsolium) menetelmällä. Yhdisteiden virustenvastainen aktiivisuus ja toksisuus soluille on ilmaistu käyttäen vastaavasti ED₅₀:ttä (50 %:sti tehokas annos) ja CD₅₀:ttä (50 %:sti soluille toksinen). SI (selektiivisyysindeksi) = CD₅₀/ED₅₀.

Tulokset

HTLV-III_B - ja LAV-2_{ROD} viruksia koskevat tulokset on esitetty taulukoissa 8 ja 9 jäljempänä.

Taulukko 8

Tulokset: HTLV-III_B

5		CD ₅₀ (µg/ml)	ED ₅₀ (µg/ml)	Selektiivisyys- indeksi (SI)
10	AK 1	6,0270	0,000754	7993
	AK 2	9,429	0,000365	26008
	AK 3	17,7480	> 40	< 1
	AK 4	18,1641	> 40	< 1
	AK 5	17,2134	> 40	< 1
15	AK 6	30,7272	> 40	< 1
	AK 7	1,5368	0,000372	4131
	AK 8	771,20	13,10	59
	AK 9	300,0550	> 1000	< 1
	AK 10	4,4160	> 8	< 1
20	AK 11	13,0923	> 40	< 1
	AK 14	10,26	0,076	134
	AK 15	16,50	0,064	256
	AK 16 (D4T)	44,41	0,077	574
25				

Taulukko 9

Tulokset: LAV-2_{ROD}

		CD ₅₀ (µg/ml)	ED ₅₀ (µg/ml)	Selektiivisyys- indeksi (SI)
5				
	AK 1	8,3825	0,000858	9770
10	AK 2	5,9512	0,000744	7999
	AK 3	16,8593	> 40	< 1
	AK 4	17,4332	> 40	< 1
	AK 5	18,7751	> 40	< 1
	AK 6	62,4323	> 100	< 1
15	AK 7	1,5633	0,000534	2928
	AK 8	330,40	21,80	15
	AK 9	397,5805	> 10000	< 1
	AK 10	11,4641	> 40	< 1
	AK 11	10,1674	> 40	< 1
20	AK 14	8,84	0,080	110
	AK 15	24,23	0,064	378
	AK 16 (D4T)	46,65	0,039	1196

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä sellaisen virustenvastaisen yhdisteen valmistamiseksi, jossa n-6-sarjan tyydyttymättömän rasvahapon, joka on 18:3 tai korkeampi, tai n-3-sarjan tyydyttymättömän rasvahapon, joka on 18:4 tai korkeampi, rasvahappoasyyliryhmä on suoraan liittynyt nukleosidin tai nukleosidianalogin sokerin/sokerianalogin tai heterosyklisen osan hydroksi- ja/tai aminoryhmään, **tunnettu** siitä, että nukleosidin tai nukleosidianalogin sokerin/sokerianalogin tai heterosyklisen osan hydroksi- ja/tai aminoryhmä asyloidaan mainitulla rasvahappoasyyliryhmällä edellä määritellyn virustenvastaisen yhdisteen muodostamiseksi, minkä jälkeen haluttaessa saatu yhdiste, joka sisältää useampia kuin yhden asyyliryhmän, deasyloidaan, jolloin jäljelle kuitenkin jää vähintään yksi asyyliryhmä.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan virustenvastainen yhdiste, joka on AZT:n tai AHT:n rasvahappoasyyliesteri.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan virustenvastainen yhdiste, joka on asykloviirin rasvahappoasyyliesteri, -amidi tai -estერი/amidi.

4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, **tunnettu** siitä, että valmistetaan virustenvastainen yhdiste, joka on ddC:n, ddA:n, D4T:n tai gansykloviirin rasvahappoasyylijohtannainen.