



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: P 95 02238

(22) A bejelentés napja: 1995. 07. 26.

(30) Elsőbbségi adatok:

08/281,893 1994. 07. 28. US

(40) A közzététel napja: 1996. 07. 29.

(45) A megadás meghirdetésének a dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 1999. 09. 28.

(11) Lajstromszám:

216 867 B

(51) Int. Cl.⁶

C 07 D 473/18

A 61 K 31/52

(72) Feltalálók:

Maag, Hans, Menlo Park, Kalifornia (US)

Nestor, John J., Cupertino, Kalifornia (US)

Womble, Scott W., Fremont, Kalifornia (US)

(73) Szabadalmas:

F. Hoffmann-La Roche AG., Bazel (CH)

(74) Képviselő:

dr. Tóth-Urbán László és dr. Jalsovszky

Györgyné ügyvédek, Budapest

(54) **2-(2-Amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiol-származék,
eljárás ennek előállítására és az e vegyületet tartalmazó
gyógyászati készítmény**

KIVONAT

A 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-
1,3-propándiol L-monovalin-észter-származéka és e ve-

gyület gyógyászati lag alkalmas sói vírusellenes szer-
ként alkalmazhatók és javított felszívódást mutatnak.

A találmány tárgya 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiol-származék, eljárás ennek előállítására és az e vegyületet tartalmazó gyógyászati készítmény.

Találmányunk új vírusellenes gyógyszerre, és pedig egy purinszármazék aminosav-észterére vonatkozik. Találmányunk tárgya közelebbről a ganciclovir L-valinnal képezett észtere és e vegyület gyógyászati alkalmas sói. A találmány továbbá közbelső termékekre, a fenti vírusellenes gyógyszer előállítási eljárására, valamint a fent említett vírusellenes hatóanyagot tartalmazó gyógyászati készítményekre, és az új vegyületnek vírusellenes fertőzések és azokkal kapcsolatos betegségek kezelésére történő felhasználására vonatkozik.

Találmányunk tárgya ennek megfelelően a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiol L-monovalin-észtere és e vegyület gyógyászati alkalmas sói.

Az 1 523 865 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban a 9-helyzetben aciklikus láncot tartalmazó vírusellenes hatású purinszármazékok kerültek ismertetésre. E vegyületek közül az aciclovir nemzetközi szabad nevű (INN) 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-etanol herpeszvírusok (például herpes simplex) ellen jó aktivitást mutat. Az aciclovir helyi vagy parenterális alkalmazása során nagyon hatékonynak bizonyult, ugyanakkor azonban orális adagoláskor csupán mérsékelten szívódik fel.

A 4 355 032 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban a ganciclovir nemzetközi szabad nevű (INN) 9-[(2-hidroxi-1-(hidroxi-metil)-etoxi)-metil]-guanin vagy 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiol került ismertetésre.

A ganciclovir a herpeszcsaládhoz tartozó vírusokkal (például herpes simplex és citomegalovírus) szemben igen hatékony. E vegyület orális adagolás során viszonylag gyengén szívódik fel és ezért orális felhasználáskor magas dózisok beadására van szükség. A ganciclovirt ezért általában intravénás infúzió segítségével adják be. Ez az adagolási mód azonban hátrányos, mint-hogy a beteg számára nagyon kényelmetlen és gyakran orvos, ápolónő vagy más egészségügyi szolgáltatások alkalmazását igényli. Bizonyos fertőzésveszély is fennáll, ami különösen immunokompromisszumos betegek számára jelent problémát; ezek a betegek, ha ganciclovir kezelést kapnak, fertőzésekkel szemben mutatott ellenállásuk csekély. A gyakorlatban komoly igény mutatkozott javított orális felszívódást mutató ganciclovirkészítmények iránt.

A 2 122 618 számú nagy-britanniai szabadalmi leírásban a 9-(2-hidroxi-etoxi-metil)-guanin (V) általános képletű származékai (mely képletben X jelentése oxigén- vagy kénatom; R¹ jelentése hidroxil- vagy aminosocsoport; R² jelentése hidrogénatom vagy -CH₂OR³_a képletű csoport és R³ és R³_a azonos vagy különböző lehet és jelentésük valamely aminosav acilgyöke) és ezek gyógyászati alkalmas sói kerültek ismertetésre. Ezek a vegyületek vírusos fertőzések kezelésére alkalmazhatók, vízben kitűnően oldódnak és ezért vizes gyógyászati készítmények előállítására különösen al-

kalmasak. Bár az idézett nagy-britanniai szabadalmi leírás általános képlete az R² helyén -CH₂OR³_a képletű csoportot tartalmazó vegyületeket magában foglalja, az e csoportba tartozó specifikus vegyületeket ténylegesen nem írták le. A szabadalmi leírásban továbbá a fenti, jó vízoldhatóságú vegyületeket tartalmazó orális, rektális, nazális, helyi, vaginális vagy parenterális készítményeket ismertették.

A 2 104 070 számú nagy-britanniai szabadalmi közrebocsátási iratban (VI) általános képletű vírusellenes vegyületeket, gyógyászati alkalmas sóikat és észtereiket írták le (mely képletben R jelentése hidroxil- vagy aminosocsoport és X jelentése oxigén- vagy kénatom). Az általános képlet a ganciclovirt és gyógyászati alkalmas sóit, valamint észtereit magában foglalja. Az észterek formil-oxi-származékok, 1-16 szénatomos (például 1-6 szénatomos) alkanol-oxi-származékok (például acetoxi- vagy propionil-oxi-csoport), adott esetben helyettesített aralkanol-oxi-származékok [például fenil-(1-4 szénatomos alkanol)-oxi-származékok, például fenil-acetoxi-csoport] vagy adott esetben helyettesített aroil-oxi-származékok (például benzoil-oxi- vagy naftoil-oxi-csoport) lehetnek. Az észtercsoportok a (VI) általános képletű vegyületek 9-helyzetű oldalláncában levő egyik vagy mindkét végállású hidroxilcsoporton alakíthatók ki. A fent említett aralkanol-oxi- vagy aroil-oxi-észter-csoportok helyettesítve lehetnek, így például egy vagy több halogénatomot (például klór- vagy brómatomot) vagy amino-, nitril- vagy szulfonamidocsoportot hordozhatnak. A fenti csoportokban levő arilcsoport előnyösen 6-10 szénatomot tartalmaz.

A 3 75 929 számú európai közrebocsátási iratban (VII) általános képletű vegyületek (mely képletben R és R¹ jelentése egymástól függetlenül hidrogénatom vagy valamely aminosav acilmaradék, azzal a feltétellel, hogy R és R¹ közül legalább az egyik valamely aminosav acilmaradékát képviseli és B jelentése valamely (VIII) vagy (IX) általános képletű csoport, ahol R² jelentése 1-6 szénatomos egyenes lánc, 3-6 szénatomos elágazó lánc vagy 3-6 szénatomos gyűrűs alkoxycsoport, vagy hidroxilcsoport, vagy aminosocsoport, vagy hidrogénatom) és gyógyászati alkalmas sóik kerültek ismertetésre. A közrebocsátási irat szerint ezek az előgyógyszer (prodrug) vegyületek orális adagolás esetén előnyös biológiai értékesülést mutatnak és a szervezetben az anyavegyület magas szintjét biztosítják.

A 3 75 329 számú európai közrebocsátási irat 3b) példájában a ganciclovir bisz(L-izoleucinát) észterének előállítását írják le; fehér habot kapnak. A 4b) példában a ganciclovir bisz(glicinát)-észterét fehér szilárd anyag formájában állítják elő. Az 5b) példa szerint szilárd anyag alakjában a ganciclovir bisz(L-valinát) észterét állítják elő. A 6b) példa szerint szirup alakjában a ganciclovir bisz(L-alaninát) észterét állítják elő; a szirup-szerű termék 90% biszésztert és 10% monoésztert tartalmaz. A leírt biszészterek nem kristályos anyagok, amelyek nehezen alakíthatók orálisan adagolható gyógyászati készítményekké.

A 8 829 571 számú nagy-britanniai szabadalmi bejelentésben (X) általános képletű aminosav-észtereket

(mely képletben R jelentése hidroxilcsoport, aminosocsoport vagy hidrogénatom) és gyógyászatilag alkalmas sóikat írták le. Az előnyös aminosavak, például alifás savak (például legfeljebb 6 szénatomos savak, mint például glicin, alanin, valin és izoleucin) lehetnek. Az aminosav-észterek a mono- és diésztereket egyaránt magukban foglalják. Ebben a szabadalmi bejelentésben, valamint a 375 329 számú európai közrebocsátási iratban és az 5043 339 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásban azonban monoészterek előállítását nem írták le és hasznosságukra utaló adatokat sem közöltek.

Jensen és társai [Acta Pharm. Nord. 3(4) 243–247 (1991)] a ganciclovir (XI) általános képletű N-helyettesített-4-(amino-metil)-benzoát-diészter előgyógyszereinek (prodrug) szintézisét, enzimikus hidrolízisét és fizikokémiai tulajdonságait ismertették. A képletben R jelentése (XII), (XIII), (XIV) vagy (XV) képletű csoport. Ezeket a diésztereket a ganciclovir leadási jellemzőinek javítása céljából szintetizálták és értékelték. Az észtereket humánplazma segítségével enzimatikusan az anyaggyógyszerré hidrolizálták; a hidrolízis a megfelelő monoészterek keletkezésén keresztül játszódik le. A szerzők a fenti észterek enzimikus hidrolízisét és lipofilicitását értékelték és arra a megállapításra jutottak, hogy a fenti tulajdonságok alapján a diészterek a ganciclovir ígéretes előgyógyszereinek (prodrug) tekinthetők és a hatóanyag-leadási jellemzőit (például parenterális adagolásnál) javítják.

Martin és társai: J. Pharm. Sci. 76(2), 180–184 (1987) a ganciclovir mono- és diacil-észtereit írták le és az orális adagolás után mutatott biológiai értékesülést vizsgálták. A szerzők megállapítása szerint a dipropionát-észter biológiai értékesülése körülbelül 42%-kal jobb a ganciclovir megfelelő értékénél.

A 158 847 számú európai közrebocsátási iratban foglaltak szerint – többek között – 6-deoxi-aciclovir és 6-deoxi-ganciclovir enzimatikusan könnyen aciclovirrá, illetve ganciclovirrá alakítható. Patkánykísérletek azt mutatták, hogy a fenti 6-deoxi-előgyógyszerek (prodrug) orális adagoláskor a gyomor-bélrendszerből hatékonyan szívódnak fel és az anyavegyületek magas plazmaszintjét biztosítják.

Maudgal és társai [Arch. Ophthalmol. 102, 140–142 (1984)] szerint az aciclovir glicin-észtere nyúlón 1%-os szemcsepp formájában az epitheliás (hám) és stromális (támasztőszövet) herpes simplex keratitis és ahhoz társuló iritis helyi kezelésében hatékonyak bizonyultak. A szerzők az aciclovir glicin-, alanin-, béta-alanin- és szukcinil-észterét írták le és megállapították, hogy a glicin-észter oldhatósága az aciclovirénál körülbelül 30-szor nagyobb és ezáltal a glicin-észter szemcseppekben 6%-ig terjedő koncentrációkban alkalmazható, míg az aciclovir csupán kenőcs formájában használható, amely a stromális betegség vagy iritis kezelése során alig mutat hatást.

Colla és társai [J. Med. Chem. 98, 602–604 (1983)] az aciclovir számos vízdoldható észterszármazékát és sóikat írták le, mint az aciclovir előgyógyszereit (prodrug). A szerzők közlése szerint az aciclovir gyenge vízdoldha-

tósága miatt szemcsepp vagy intramuszkuláris injekció formájában nem adagolható és ezért az anyavegyületnél jobb vízdoldhatóságú szintetikus aciclovirszármazékokra van szükség. A szerzők a glicil-észter hidroklorid-sóját, az alanil-észter hidroklorid-sóját, a béta-alanil-észter hidroklorid-sóját, a szukcinil-észter nátriumsóját és az azido-acetát-észterét írták le. A szerzők vizsgálatai szerint primer nyúlvesesejt-tenyészetekben különböző 1. típusú és 2. típusú herpes simplex vírustörzsekkel szemben az első négy észter csaknem olyan hatékonyak bizonyultak, mint az aciclovir. A szerzők megállapítása szerint a fenti aciclovir-észterek szemcsepp formájában végzett helyi kezelésre és intravénás aciclovir kezelésre kedvezően reagáló herpeszvírusfertőzések esetében szisztémás kezelésre a klinikai gyakorlatban az aciclovirnál jobban alkalmazhatók. A fenti észterek – az aciclovirral ellentétben – sokkal kisebb térfogatban adagolhatók és ezért intramuszkuláris injekciók formájában alkalmazhatók.

Beauchamp és társai [Antiviral Chemistry et Chemotherapy 3, 157–164 (1992)] az aciclovir nemzetközi szabad nevű herpeszellenes gyógyszer 18 aminosav-észterét ismertették és patkánykísérletben az aciclovir húgyúti visszanyerését mérték. 10 előgyógyszerből (prodrug) a vizeletben nagyobb mennyiségű aciclovir volt kimutatható, mint az aciclovir önmagában történő beadása esetén. A következő észterek fenti hatásáról számoltak be: glicil-, D,L-alanil-, L-alanil-, L-2-amino-butírá-, D,L-valil-, L-valil-, D,L-izoleucil-, L-izoleucil-, L-metionil- és L-prolil-észter. Az L-aminosav-észterek jobb előgyógyszerek, mint a megfelelő D- vagy D,L-izomerek és ez sztereoselektív transzporter szerepére utal. Az idézett közlemény 1. táblázatában a fenti 18 aminosav-észter kémiai adatait és orális biológiai értékesülését ismertetik. Az adatok szerint a D-aminosav-észterek orális biológiai értékesülése alacsonyabb az aciclovir megfelelő értékénél. Minthogy a D-aminosav-észterek az aciclovirhoz képest semmilyen előnyt nem mutatnak, az aciclovir előgyógyszereként (prodrug) nem jöhetnek tekintetbe. Ezzel szemben az aciclovir akirális glicil-észtere orális adagolás mellett az aciclovirnál magasabb biológiai értékesülést mutat. (A húgyúton keresztül a glicil-észter formájában beadagolt aciclovir 30%-át nyerték vissza, míg aciclovir beadása esetén ez az érték csupán 19%). A szerzők szerint az aciclovir vizsgált észterei közül az L-valil-észter bizonyult a legjobb előgyógyszernek (prodrug).

A 308 065 számú európai közrebocsátási irat szerint az aciclovir valin- és izoleucin-észtere – különösen az L-forma – orális adagolás esetén a belekből nagyobb mértékben szívódik fel, mint a többi észter és az aciclovir.

Jelenleg a citomegalovírus-fertőzések kezelése során a ganciclovir tekinthető a vezető gyógyszernek. E vegyület biológiai értékesülése azonban orális adagolás esetén gyenge. A fenti tény és a hatóanyag lassú napi intravénás infúziója (vagy intravitreális injekciók vagy implantátumok) iránti igény a ganciclovir javított biológiai értékesülésű orális adagolási formáinak kidolgozását teszi szükségessé.

Találmányunk segítségével a fenti célkitűzést a ganciclovir javított orális felszívódású és alacsony toxicitású stabil előgyógyszerének (prodrug) kidolgozásával oldjuk meg. Ezek a jellemzők különösen immunokompromisszumos betegek esetén a herpeszes fertőzések visszaszorítása terén értékesek, amikor is az orális adagolás a legkedvezőbb gyógyászati alkalmazási forma. Ezenkívül a találmányunk szerinti új hatóanyag gyógyászati és gyógyszerészeti tulajdonságai javított jellemzőket és kedvezőbb gyógyszeripari feldolgozást biztosítanak. Meglepő módon azt találtuk, hogy a ganciclovir L-monovalin-észtere és e vegyület gyógyászati alkalmas sói a fenti kívánt jellemző tulajdonságokkal rendelkeznek.

Találmányunk tárgya egyrészt az (I) képletű vegyület és gyógyászati alkalmas sói. A fenti vegyület kémiai neve 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát vagy mono-L-valin-ganciclovir.

Találmányunk tárgya továbbá gyógyászati készítmény, amely a ganciclovir mono-L-valin-észterét vagy e vegyület gyógyászati alkalmas sóját vagy diasztereomerjét tartalmazza, előnyösen egy vagy több alkalmas excipiennel vagy hordozóanyaggal együtt. A találmányunk szerinti gyógyászati készítmény vírusellenes szerként és ezzel összefüggő betegségek kezelésére alkalmazható.

Találmányunk tárgya továbbá eljárás vírusos fertőzések és ezekkel összefüggő betegségek kezelésére vagy megelőzésére oly módon, hogy az ilyen kezelésre vagy megelőzésre rászoruló betegnek a ganciclovir mono-L-valin-észterét vagy e vegyület gyógyászati alkalmas sóját vagy az e vegyületet tartalmazó készítményt adunk be. A „beteg” kifejezésen ember és állat egyaránt értendő.

Találmányunk tárgya továbbá mono-L-valin-ganciclovir és e vegyület gyógyászati alkalmas sói előállításánál közbelső terméként felhasználható, a (II) általános képletnek megfelelő vegyületek (mely képletben P¹ jelentése valamely hidroxil-védőcsoport és P² jelentése valamely amino-védőcsoport).

Találmányunk tárgya továbbá eljárás a találmányunk szerinti előgyógyszer vegyület (prodrug) és gyógyászati alkalmas sói előállítására. Az eljárás során a ganciclovirt vagy származékait észterezzük; az L-valinnal észterezett ganciclovirból a védőcsoportokat eltávolítjuk; a ganciclovir bisz(L-valin-észter) az (I) képletű mono-L-valin-észterre alakítjuk részleges hidrolízissel; guanint valamely helyettesített glicerinnel kondenzálunk; az (I) képletű vegyületet optikai rezolválásnak vetjük alá, és az (I) képletű előgyógyszer (prodrug) sóit képezzük. Az eljárás részleteit az alábbiakban ismertetjük.

A leírásban és az igénypontokban használt egyes kifejezések jelentése a következő, feltéve, hogy más nem közlünk.

Az „alkilcsoport” kifejezés egyenes vagy elágazó láncú, telített, a megadott számú szénatomot tartalmazó szénhidrogéncsoportokra vonatkozik. Így például az „1–7 szénatomos alkilcsoport” kifejezés legalább 1 és

legfeljebb 7 szénatomot tartalmazó alkilcsoportokra vonatkozik (például metil-, etil-, izopropil-, n-butil-, n-pentil-, n-heptil-csoport stb.).

A „kis szénatomszámú alkilcsoport” kifejezésen 1–6 szénatomos alkilcsoportok értendők.

Az „arilcsoport” kifejezés aromás szénhidrogénekből egy hidrogénatom eltávolításával képezett szerves gyökökre vonatkozik. Az arilcsoportok az aromás gyűrűben előnyösen 6–12 szénatomot tartalmaznak.

Az „aralkilcsoport” kifejezés olyan aralkánokat jelöl, amelyekben az alkilcsoport egy hidrogénatomja helyén valamely fent meghatározott arilcsoport van jelen.

Az „acilcsoport” kifejezésen valamely szerves savból a hidroxilcsoport eltávolításával lezámaztatható szerves gyökök értendők (például ecetsav esetében az acetilcsoport; vagy propionil-, benzoilcsoport stb.). Az „acilcsoport” kifejezés az RCO általános képletű alkanoilcsoportokat is magában foglalja (ahol R jelentése egy fent meghatározott alkilcsoport).

A „kis szénatomszámú alkoxycsoport”, „kis szénatomszámú alkil-amino-csoport”, „di-(kis szénatomszámú alkil)-amino-csoport”, „kis szénatomszámú alkanoil-amino-csoport” olyan alkoxi-, alkil-amino-, dialkil-amino- és alkanoil-amino-csoportokra vonatkozik, amelyekben az alkilcsoport jelentése egy fentiekben meghatározott „kis szénatomszámú alkilcsoport”.

A „halogénatom” kifejezés a fluor-, klór-, bróm- és jódatomot öleli fel.

Hackh: Chemical Dictionary, McGraw-Hill Book Company (1969) című műve szerint egy vegyület „származékán” az eredeti vegyületből egyszerű kémiai eljárással előállítható vegyület értendő.

Egy vegyület „aktivált származéka” az eredeti vegyület olyan reakcióképes származéka, amely a kívánt kémiai reakcióban csupán mérsékelten reakcióképes vagy reakcióba nem lépő vegyületet reakcióképessé teszi. Az aktiválás során a molekulából az eredeti vegyületnél magasabb szabad energiatartalmú származékot vagy kémiai csoportot képezzük, amely a másik reagenssel könnyebben lép reakcióba. A jelen szabadalmi leírás keretein belül a karboxilcsoport aktiválása különösen jelentős és a karboxilcsoport aktiválására alkalmas ágenseket és csoportokat az alábbiakban részletesen ismertetjük.

Az L-valin aktivált származékai például a (III) általános képletű vegyületek (ahol P² jelentése valamely amino-védőcsoport és A jelentése valamely karboxil-védőcsoport, például halogénatom vagy kis szénatomszámú acil-oxi-csoport).

További példa egy aminosavanhidrid, amely az aminosav aktivált formája és az aminosavat (különösen L-valint) észterezési reakciókban különösen reakcióképessé teszi. További példa a későbbiekben részletesen ismertetésre kerülő „UNCA”-k.

A leírásban alkalmazott rövidítések jelentése a következő:

FMOC = N-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-csoport;

BOC = tercier butoxi-karbonil-csoport;

PYBOP = benzotriazol-1-il-oxi-tripirrolidino-foszfónium-hexafluorofoszfát.

A „védőcsoport” kifejezésen olyan kémiai csoportok értendők, amelyek (a) egy reakcióképes csoportot egy nemkívánatos kémiai reakcióban való részvételtől megvédnek; és (b) a kívánt reakció lezajlását követően könnyen eltávolíthatók. Így például a primer hidroxil-csoportok megvédésére a benzilcsoport különösen alkalmas.

Az „amino-védőcsoport” kifejezésen egy reakcióképes aminocsoportot bizonyos kémiai reakciókban való részvételtől megvédő csoportok értendők. E csoportok képviselőiként az alábbi védőcsoportokat említjük meg: formilcsoport vagy 2–4 szénatomos kis szénatomszámú alkanoilcsoportok (különösen acetil- vagy propionilcsoport), tritilcsoport vagy helyettesített tritilcsoportok (például mono-metoxi-tritil-csoport, dimetoxi-tritil-csoportok, mint például 4,4'-dimetoxi-tritil- vagy 4,4'-dimetoxi-trifenil-metil-csoport), trifluor-acetil-csoport, N-(9-fluorenil-metoxi-karbonil-csoport) vagy „Fmoc” csoport, allil-oxi-karbonil-csoport vagy halokarbonátokból leszármaztatható más védőcsoportok, például (6–12 szénatomos aril)-kis szénatomszámú alkil-karbonátok (például klór-hangyasav-benzil-észterből leszármaztatható N-benzil-oxi-karbonil-csoport) vagy bifenil-alkil-halogén-karbonátokból, tercier alkil-halogén-karbonátokból (például tercier butil-halogén-karbonátokból, különösen tercier butil-klór-karbonátokból) vagy di-(kis szénatomszámú alkil)-dikarbonátokból [például előnyösen di-(tercier-butil)-dikarbonátból] leszármaztatható védőcsoportok, vagy a ftalil-csoport.

A „hidroxil-védőcsoport” kifejezésen egy hidroxilcsoportot nemkívánatos kémiai reakciókban való részvételtől megvédő csoportok értendők. A hidroxil-védőcsoportok előnyös képviselőiként a kívánt reakció lezajlását követően könnyen eltávolítható éterképző csoportokat említjük meg. Idetartoznak például a benzilcsoport vagy a fenilgyűrűn adott esetben helyettesített tritil-csoportok. Más előnyös hidroxil-védőcsoportok, például az alkil-éter-csoportok, valamint a tetrahidropirán-, szilil-, trialkil-szilil-éter- és allilcsoport.

A „kilépőcsoport” kifejezésen egy kémiai reakcióban más csoportra lecserezhető csoportok értendők. A kilépőcsoportok példaként a halogénatomokat, adott esetben helyettesített benzil-oxi-csoportokat, az izopropoxi-, meziloxi-, toziloxi-csoportot és az acil-oxi-csoportokat említjük meg.

Az (I) általános képletű vegyületek előállításánál felhasznált valamennyi aktiváló és védő ágensnek az alábbi követelményeket kell kielégíteni:

- (1) a csoportok bevétele kvantitatíven és az L-valin komponens racemizálása nélkül játszódjék le;
- (2) a kívánt reakció folyamán jelen levő védőcsoport az alkalmazott reakciókörülmények között stabil, állandó maradjon;
- (3) a csoport olyan körülmények között könnyen eltávolítható legyen, amelyek alatt az észterképzés stabil marad és az észter L-valin-komponensének a racemizálódása nem játszódik le.

A „kiralitás” kifejezés a molekula szimmetrialemeinek jelenlétére vagy távollétére utal. A szimmetria-

elemeket nélkülöző molekula „királis”. A valamennyi szimmetrialemtől – beleértve az egyszerű tengelyt is – mentes molekula elnevezése „aszimmetrikus”.

- 5 Az „akirális” kifejezés arra utal, hogy a molekula legalább egy szimmetrialemet (például egyszerű tengelyt) tartalmaz.

- 10 Az „izoméria” olyan vegyületekre utal, amelyek azonos atomtömeggel és atomszámmal rendelkeznek, azonban egy vagy több fizikai vagy kémiai tulajdonságuk különbözik. Az izomerek egyes típusai az alábbiak:

- 15 A „sztereoizomer” kifejezés azt jelenti, hogy egy kémiai vegyület ugyanolyan molekulatömeggel, kémiai összetétellel és szerkezettel rendelkezik, mint egy másik vegyület, azonban az atomok csoportosítása eltérő. Bizonyos azonos kémiai szerkezeti részek a térben más orientációban helyezkednek el, és tiszta állapotban a poláros fény síkját elforgatni képesek. Azonban bizonyos tiszta sztereoizomerek optikai forgatóképessége olyan csekély, hogy a jelenlegi műszerekkel nem mutatható ki.

- 20 Az „optikai izomer” kifejezés a sztereoizoméria egyik típusára vonatkozik. Az izomer – tiszta formában vagy oldatban – a polarizált fény síkját elforgatja. Ezt sok esetben az okozza, hogy a molekulában levő legalább egyik szénatomhoz négy különböző atom vagy csoport kapcsolódik, vagy – alternatív módon – a molekula fentiekben leírt kiralitásának tulajdonítható.

- 25 Az egymás tükörképeit képező sztereoizomereket vagy optikai izomereket „enantiomerek”-nek nevezzük és ezek enantiomerek. Az egymás tükörképeit képező királis csoportokat enantiomer csoportoknak nevezzük.

- 30 Azokat az enantiomereket, amelyeknek az abszolút konfigurációja nem ismert, jobbra forgatónak (+) vagy balra forgatónak (–) nevezzük, attól függően, hogy meghatározott körülmények között a polarizált fény síkját milyen irányban forgatják el.

- 35 Az enantiomer molekulákat azonos mennyiségben tartalmazó terméket „racém”-nek nevezzük, függetlenül attól, hogy kristályos, folyékony vagy gáz alakban van-e jelen. Az enantiomer molekulákat ekvimoláris mennyiségben tartalmazó homogén szilárd fázist „racém vegyület”-nek nevezzük.

- 40 Az enantiomer molekuláknak különálló szilárd fázis formájában jelen levő ekvimoláris keverékét „racém keverék”-nek nevezzük. Az enantiomer molekulák ekvimoláris mennyiségét tartalmazó homogén fázis neve „racémát”.

- 45 A két aszimmetriás szénatomot (királis centrumok) tartalmazó vegyületek 4 sztereoizomerrel rendelkeznek, amelyek két enantiomer párt képeznek. Az enantiomerek egymás tükörképei, azonban a két külön pár enantiomerjei nem tükörképek; ezek elnevezése „diasztereoizomer”. A diasztereoizomerek hasonló, azonban nem azonos kémiai viselkedést mutatnak és fizikai tulajdonságaik (például olvadáspont, oldhatóság) eltérőek.

- 50 Az optikailag aktív vegyületek elnevezése számos konvenció szerint történhet. Így az alábbi konvenciókat említjük meg: Cahn és Prelog R- és S-szekvencia szabályai; eritro- és treo-izomerek; D- és L-izomerek; d- és

l-izomerek; és (+)- és (–)-izomerek, amely a polarizált fény síkjának a kémiai szerkezet által okozott elforgatását – tiszta állapotban vagy oldatban – jelzi. A fenti konvenciók az irodalomból jól ismertek és részletesen E. L. Eliel: Stereochemistry of Carbon Compounds, McGraw-Hill Book Company, Inc. New York (1962) c. művében kerültek ismertetésre; ez az irodalmi hely hivatkozásként a jelen szabadalmi leírás részét képezi. Így az izomerek elnevezése – az alkalmazott nomenklatura rendszertől függően – d-, l- vagy d,l-pár; D-, L- vagy D,L-pár; vagy R-, S- vagy R,S-pár lehet. Általában az aminosav (valin) jelölésére a (D), (L) és (D,L) jelölést, míg a ganciclovir-váz aszimmetriás szénatomjának jelölésére az (R), (S) és (R,S) jelölést alkalmazzuk.

Az (I) képletű vegyület és a (II) általános képletű vegyületek két aszimmetriacentrumot (2 szénatom) tartalmaznak, egyet a valinkomponensben és egyet a ganciclovirkomponens oldalláncában; utóbbi a propanilcsoport 2-helyzetű szénatomja. Ezért az (I) képletű vegyület és a (II) általános képletű vegyületek diasztereoizomerek és diasztereoizomer keverékek alakjában vannak jelen. Találmányunk értelmében bármely diasztereomer vagy diasztereomer keverék felhasználható. Az igénypontok oltalmi köre az összes diasztereomerre és keverékekre kiterjed, feltéve, hogy mászt nem közlünk. Az (I) képlet az (I) képletű vegyület két diasztereomerjét és keverékeit is magában foglalja.

Az „adott esetben” vagy „kívánt esetben” kifejezés azt jelenti, hogy a leírt eset vagy körülmény vagy bekövetkezik, vagy nem; a szabadalmi leírás minden ilyen esetre vagy körülményre kiterjed, akár bekövetkezik, akár nem. Így például az „adott esetben helyettesített fenilcsoport” kifejezés a helyettesítetlen és helyettesített fenilcsoportot egyaránt magában foglalja. Az „a szabad bázist adott esetben savaddíciós sóvá alakítjuk” kifejezés azt jelenti, hogy a sóképzést vagy végrehajtjuk, vagy pedig nem, és a találmány az eljárás mindkét kiviteli alakjára kiterjed. A savaddíciós só képzése tehát nem kötelezően elvégzendő művelet.

A „gyógyászati alalmas” kifejezés azt jelenti, hogy általában biztonságos és nem toxikus, a humán- és állatgyógyászatban egyaránt felhasználható anyagról vagy műveletről van szó.

A „gyógyászati alalmas só” kifejezésen a kívánt gyógyászati hatással rendelkező olyan sók értendők, amelyek sem biológiai, sem más szempontból sem tekinthetők nemkívánatosnak. Ezek a sók szervetlen savakkal (például hidrogén-klorid, hidrogén-bromid, kénsav, salétromsav, foszforsav) vagy szerves savakkal (például ecetsav, propionsav, hexánsav, heptánsav, ciklopentánpropionsav, glikolsav, piroszőlősav, tejsav, malonsav, borostyánkősav, almasav, maleinsav, fumársav, borkősav, citromsav, benzoészav, o-(4-hidroxi-benzoil)-benzoészav, fahéjsav, mandulasav, metánszulfonsav, etánszulfonsav, 1,2-etándiszulfonsav, 2-hidroxi-etánszulfonsav, benzolszulfonsav, p-klór-benzolszulfonsav, 2-naftalinszulfonsav, p-toluolszulfonsav, kámforszulfonsav, 4-metil-biciklo[2.2.2]okt-2-én-1-karbonsav, glükohéptánsav, 4,4'-metilén-bisz(3-hidroxi-2-naftoesav), 3-fenil-pro-

pionsav, trimetil-ecetsav, tercier butil-ecetsav, lauril-kénsav, glükonsav, glutaminsav, hidroxi-naftoesav, szalicilsav, sztearinsav, mukonsav stb.) képezett savaddíciós sók értendők. Előnyösek a sósavval, kénsavval, foszforsavval, ecetsavval, metánszulfonsavval, etánszulfonsavval, 1,2-etándiszulfonsavval, 2-hidroxi-etánszulfonsavval, benzolszulfonsavval, p-klór-benzolszulfonsavval, 2-naftalinszulfonsavval, p-toluolszulfonsavval és kámforszulfonsavval képezett addíciós sók.

10 Az „állat” kifejezés az embert, nem humán emlőst (például kutya, macska, nyúl, szarvasmarha, ló, birka, kecske, sertés és őz) és nem emlőst (például madarak, halak stb.) foglalja magában.

15 A „betegség” kifejezés az állat vagy részei bármely nem egészséges állapotára kiterjed. Így a „betegség” kifejezés a mono-L-valin ganciclovirral vagy gyógyszerileg alkalmas sóival kezelhető bármely vírusos vagy azzal kapcsolatos betegségre kiterjed.

20 A „kezelés” kifejezésen az állat betegségeinek kezelésére szolgáló bármely módszer értendő, így például az alábbiak:

(1) A fellépő betegség kialakulásának megakadályozása olyan stádiumban, amikor a tünetek még nem jelentkeznek (például a klinikai tünetek jelentkezésének megakadályozása).

25 (2) A betegség gátlása (például a kifejlődés megállítása).

(3) A tünetek enyhítése (például a betegség tüneteinek regressziója).

30 A „hatékony mennyiség” kifejezésen a betegség hatékony kezeléséhez szükséges hatóanyag-mennyiség értendő.

A leírás értelmében a reakciókat általában atmoszférikus nyomáson és 5–170 °C-os hőmérsékleten (előnyösen 10–50 °C-on, különösen előnyösen szobahőmérsékleten, azaz 20–30 °C-on) végezzük, feltéve, hogy mászt nem közlünk. Bizonyos reakciókat azonban a fenti hőmérséklet-tartománynál magasabb vagy alacsonyabb hőmérsékleten hajtunk végre. A reakcióidők és -körülmények továbbá hozzátétőleges jellegűek feltéve, hogy mászt nem közlünk. Így például a reakciókat körülbelül atmoszférikus nyomáson, körülbelül 5 °C és körülbelül 100 °C közötti hőmérsékleten (előnyösen körülbelül 10 °C és körülbelül 50 °C közötti hőmérsékleten, különösen előnyösen körülbelül 20 °C-on) körülbelül 1 óra és körülbelül 100 óra közötti idő alatt (előnyösen körülbelül 5–60 óráig) végezzük. A példákban megadott paraméterek azonban specifikusak és nem hozzátétőlegesek.

45 A vegyületek és közbenső termékek izolálását és tisztítását kívánt esetben bármely megfelelő elválasztási vagy tisztítási módszerrel végrehajthatjuk (például szűrés, extrakció, kristályosítás, oszlopkromatográfia, vékonyréteg-kromatográfia, vastagrég-kromatográfia vagy ezek kombinációi). A megfelelő elválasztási és izolálási módszereket a példákban részletesen ismertetjük. Természetesen más egyenértékű elválasztási és izolálási módszereket is alkalmazhatunk.

50 Az (I) általános képletű vegyületeket és gyógyszerileg alkalmas sóikat több módszerrel állíthatjuk elő. A szintetikus eljárásokat az 1. reakciósémán tün-

tetjük fel [jelölésük: (a)–(f)]. Az alábbiakban ezeket a módszereket részletesen ismertetjük. A zárójelben levő betűk az eljárási igénypont megfelelő lépésére utalnak.

<i>Reakció típus</i>	<i>Módszer</i>
(a)	védőcsoport eltávolítása
(b)	sóképzés
(c)	észterezés
(d)	kondenzáció
(e)	részleges hidrolízis
(f)	optikai rezolválás/diasztereomerek szétválasztása

Fentiek értelmében a találmányunk tárgyát képező eljárás szerint az (I) általános képletű vegyületeket vagy gyógyszerileg alkalmas sóikat oly módon állíthatjuk elő, hogy

- (a) valamely (IV) általános képletű vegyületből az amino- és/vagy hidroxivédőcsoportot eltávolítjuk (mely képletben P¹ jelentése valamely hidroxilvédőcsoport vagy hidrogénatom; P² jelentése valamely amino-védőcsoport és P³ jelentése hidrogénatom vagy P²) az (I) képletű vegyület keletkezése közben; vagy
- (b) valamely (I) általános képletű vegyületet gyógyszerileg alkalmas sóvá alakítunk; vagy
- (c) a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiolt (ganciclovir) vagy sóját az L-valin aktivált származékával észterezzük; vagy
- (d) valamely, adott esetben helyettesített (V) általános képletű guanint, adott esetben perszilizett formában (mely képletben P³ jelentése hidrogénatom vagy valamely amino-védőcsoport) valamely (VI) általános képletű 2-helyettesített glicerinnel (mely képletben Y¹ és Y² jelentése egymástól függetlenül halogénatom, kis szénatomszámú acil-oxi-, kis szénatomszámú alkoxi- vagy aralkoxicsoport és Z jelentése kilépőcsoportként valamely kis szénatomszámú acil-oxi-, metoxi-, izopropoxi-, benzil-oxi-csoport, halogénatom, mezil-oxi- vagy toziloxi-csoport stb.) reagáltatunk, adott esetben Lewis-sav katalizátor jelenlétében, az (I) képletű vegyület keletkezése közben; vagy
- (e) a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiil-bisz(L-valinát) biszésztert vagy sóját részleges hidrolízisnek vetjük alá, az (I) képletű vegyület keletkezése közben; vagy
- (f) az (I) képletű vegyületet optikai rezolválásnak vetjük alá vagy a diasztereomereket szétválasztjuk.

Az (I) képletű vegyület és gyógyszerileg alkalmas sói gyógyászati hatással rendelkeznek, közelebbről vírusellenes hatást fejtenek ki. Az (I) képletű vegyületet és gyógyszerileg alkalmas sóit a gyógyászatban – különösen humángyógyászatban – különböző állapotok kezelésére alkalmazhatjuk.

A találmányunk szerinti vegyületekkel például az alábbi állapotok kezelhetők: herpeszfertőzések, például 1, 2 és 6 típusú herpeszek, varicella Zoster, Epstein–Barr-vírus, különösen cytomegalovírus és hepatitis B és rokon vírusok, a humán- és állatgyógyászatban, különösen a humángyógyászatban. A fenti vírusok által

okozott klinikai állapotok közül például az alábbiakat említjük meg: herpeszes keratitis, herpeszes encephalitis, hideg sores, genitáliák fertőzései (herpes simplex által előidézve), bárányhimlő, övsömör (varicella Toster idézi elő), CMV-tüdőgyulladás és -retinitis, különösen immunokompromisszumos betegeken, ideértve a transzplantátumok befogadóit (például szív-, vese- és csontvelő-átültetések) és szerzett immunhiány szindrómában (AIDS) és Epstein–Barr-vírus által előidézett fertőzőses mononukleózisban szenvedő betegeken. A találmányunk szerinti vegyület vírusos fertőzések által okozott vagy azokkal összefüggő bizonyos karcinómák vagy limfómák (például nazofaringeális rák, immunoblaszt limfóma, Burkitt-féle limfóma és szőrös leukoplázia) kezelésére alkalmazhatók.

- 5 Találmányunk tárgya továbbá eljárás a fentiekben ismertetett vírusos fertőzésekkel összefüggő állapotoknak kitett, illetve azokban szenvedő emberek és állatok kezelésére vagy a fenti állapotok megelőzésére oly módon, hogy a fenti fertőzések veszélyének kitett vagy a fenti állapotokban szenvedő embert vagy állatot hatékony mennyiségű mono-L-valin-ganciclovirral vagy gyógyszerileg alkalmas sójával kezeljük. A kezelést az orvos vagy állatorvos előírásainak megfelelően végezzük el. A mono-L-valin-ganciclovir vagy gyógyszerileg alkalmas sója hatékony mennyiségén az állapot – azaz betegség – hatékony kezeléséhez szükséges mennyiség értendő. A pontos hatóanyag-mennyiség számos tényezőtől függ (például a kezelendő állapot jellege és súlyossága, a kezelendő egyén kora és testtömege, a kezelendő egyén egészségi állapota, a gyógyászati készítmény típusa stb.). Orális kezelés esetén a napi hatóanyag dózis körülbelül 1–250 mg/kg testtömeg, előnyösen körülbelül 7–100 mg/kg testtömeg. A különösen előnyös napi hatóanyag dózis körülbelül 10–50 mg/kg testtömeg, különösen CMV retinitis és tüdőgyulladás kezelése esetén. Ennek megfelelően 70 kg testtömegű egyénnek orálisan napi 70–7000 g, előnyösen napi körülbelül 500–5000 mg, különösen előnyösen körülbelül 700–3500 mg hatóanyagot adhatunk be. Intravitrealis implantátumok esetében az előgyógyszer (prodrug) dózisa 0,5–25 mg, előnyösen 5–10 mg, egy implantátumra vonatkoztatva. A szakember számára nyilvánvaló, hogy más adagolási formák esetében más dózistartományok alkalmazandók.

- 45 A ganciclovir bevált vírusellenes gyógyszer. A találmányunk szerinti ganciclovir előgyógyszer (prodrug) hasznosságát oly módon igazoljuk, hogy az előgyógyszer (prodrug) orális beadása után a kísérleti állat (patkány és majom) vérében meghatározzuk a ganciclovir-koncentrációt. A vérplazmaszintet a 9. és 10. példában leírtak szerint határozzuk meg, és ennek során az alábbi irodalmi helyeken leírt eljárásokat módosítottuk [Sommadossi et al.: Reviews of Infectious Diseases 10(3), S507 (1988) és Journal of Chromatography, Biomedical Applications 414, 429–433 (1987)].

- 50 A találmányunk szerinti vegyületeket és gyógyszerileg alkalmas sóikat bármely szokásos és alkalmas módon adagolhatjuk, önmagukban vagy más gyógyászati hatóanyagokkal együtt. A találmányunk szerinti,

hatóanyagként az (I) általános képletű vegyületet vagy gyógyászatilag alkalmas sóját és gyógyászatilag alkalmas excipienseket tartalmazó gyógyászati készítményeket orálisan, szisztémásan (például transzdermálisan vagy kúp alakjában) vagy parenterálisan [például intramuszkulárisan (im), intravénásan (iv.), szubkutánisan (sc)] vagy intravitreálisan implantátum alakjában alkalmazhatjuk. A találmányunk szerinti hatóanyagot tartalmazó gyógyászati készítmény felszilárd, por alakú, aeroszol, oldat, szuszpenzió stb. lehet. Előnyösek az orálisan adagolható készítmények.

A találmányunk szerinti gyógyászati készítmények az (I) általános képletű vegyületet vagy gyógyászatilag alkalmas sóját és előnyösen gyógyászatilag alkalmas excipienseket tartalmaznak. E célra nem toxikus, szilárd, folyékony, felszilárd, gáz alakú (aeroszokok esetében) excipiensek alkalmazhatók. Bármely megfelelő, a hatóanyag aktivitását károsan nem befolyásoló excipiens felhasználható.

A találmányunk szerinti gyógyászati készítmények gyógyászatilag hatékony mennyiségben (I) képletű vegyületet vagy gyógyászatilag alkalmas sóját és legalább egy excipienst tartalmaznak. A készítmény hatóanyag-tartalma a készítmény típusától, a dóziségség nagyságától, az excipiens típusától és más tényezőktől függően tág határokon belül változhat. A készítmények körülbelül 1–99,5 tömeg%, előnyösen körülbelül 10,0–99 tömeg%, különösen előnyösen körülbelül 50–99 tömeg% hatóanyagot tartalmaznak; a 100 tömeg% további részét megfelelő excipiens(ek) teszi(k) ki. Az excipiensek szilárd, felszilárd, folyékony vagy gáz alakúak lehetnek. A találmányunk szerinti gyógyászati készítmények tabletták, pirulák, kapszulák, porok, kúpok, transzdermális tapaszok, késleltetett hatóanyag-leadású (retard) készítmények, intravitreális implantátumok, oldatok – előnyösen intravénás oldatok –, szuszpenziók, elixírek, aeroszokok stb. lehetnek. Szilárd gyógyászati excipiensként például keményítőfészeségek (például burgonyakeményítő, kukoricakeményítő), cellulóz, talkum, glükóz, laktóz, szacharóz, zselatin, maláta, rizs, liszt, kréta, szilikagél, magnézium-sztearát, nátrium-klorid, szárított, lefőlőztött tej stb. alkalmazhatók. Folyékony és felszilárd excipiensként például víz, etanol, glicerin, propilén-glikol, különböző olajok – ásványi, állati, növényi vagy szintetikus olajok (például mogyoróolaj, szójababolaj, ásványolaj, szezámolaj stb.) – használhatók. Különösen injekciós oldatok készítéséhez előnyösnek bizonyult a víz, konyhasóoldat, vizes dextrózoldat és a glikolok. További előnyös gyógyászati excipiensek és hordozóanyagok, illetve készítmények az alábbi irodalmi helyen kerültek ismertetésre: „Remington's Pharmaceutical Sciences”, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania (1980), E. W. Martin; ez az irodalmi hely referencia gyanánt a jelen szabadalmi leírás részét képezi.

A gyógyászati készítményeket előnyösen egyetlen dóziségség, különösen előnyösen orális gyógyszerforma alakjában adagolhatjuk. Folyamatos kezelést is alkalmazhatunk vagy a készítményt a tünetek megszüntetése céljából egyetlen dóziségség alakjában ad libitum adhatjuk be.

A találmányunk szerinti gyógyászati készítmények hatóanyagaként az (I) képletű vegyület és gyógyászatilag alkalmas sói a legtágabban értelmezendők. Előnyösen azonban az (R,S) keveréket és bizonyos sókat alkalmazhatunk.

Az (I) képletű vegyület előnyös sói az alábbi savakkal képezett addíciós sók: sósav, kénsav, foszforsav, ecetsav, metánszulfonsav, etánszulfonsav, 1,2-etándiszulfonsav, 2-hidroxi-etánszulfonsav, benzolszulfonsav, p-klór-benzolszulfonsav, 2-naftalinszulfonsav, p-toluolszulfonsav és kámforszulfonsav. Legelőnyösebbek az erős szervetlen savakkal (például sósav, kénsav vagy foszforsav) képezett sók.

Legelőnyösebb vegyület a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidroklorid és -acetát. Ezeket a vegyületeket kristályos formában állíthatjuk elő és ezért stabil orális készítmények gyártására alkalmazhatók. Előnyösek az orális és intravénás készítmények. Az orális készítmények előnye a magas biológiai értékesülés. Az intravénás készítmények előnye, hogy a találmányunk szerinti előgyógyszer (prodrug) – az intravénás ganciclovir-készítményekkel ellentétben – fiziológiailag kedvezőbb pH-értéken (4–6) állítható elő. Az intravénás ganciclovir-készítmények pH-értéke 11, és ez ingerlő hatású.

A fenti vegyületek a találmányunk szerinti gyógyászati készítmények és kezelési eljárások szempontjából különösen kedvezőek.

Az eljárási lépések szempontjából az (I), (II), (III), (IV), (V) vagy (VI) általános képletű vegyületeknél P¹, P², P³, A, Y¹, Y² és Z jelentése a legtágabb fenti értelmezésnek felel meg.

A találmányunk szerinti gyógyászati készítmények hatóanyagként előnyösen az (I) képletű előgyógyszer (prodrug) gyógyászatilag alkalmas sóját tartalmazzák. Ha a gyógyászati készítményeket oly módon állítjuk elő, hogy a gyógyászati excipienseket és a hatóanyagot só formájában bensőségesen összekeverjük, úgy előnyösen nem bázikus jellegű – azaz savas vagy semleges – gyógyászati excipienseket alkalmazunk.

A találmányunk szerinti előnyös eljárás szerint az (I) képletű vegyületet az (a) eljárással (előnyösen egyidejű sóképzéssel) vagy a (c) eljárással, vagy az (a) és (c) eljárás kombinálásával állíthatjuk elő (lásd az alábbiakban a III. és IV. lépés leírása).

Az (a) eljárás szerint a monoésztert oly módon állítjuk elő, hogy az előállításához a ganciclovir vagy származéka két primer hidroxilcsoportja közül az egyiket szelektíven meg kell védeni. Ennek során a guanin bázis 2-helyzetű aminocsoportját adott esetben meg kell védeni (lásd az I–III. lépés részletes leírása, védett aminocsoporttal elvégzett eljárás esetében). Ezenkívül, az észterezés (III. lépés) elvégzése előtt az aminosav reagens aminocsoportját meg kell védeni, nehogy az észterezési reakcióban részt vegyen (amidképzés). Az aminocsoport megvédését az alábbiakban ismertetjük.

A találmányunk szerinti eljárás elvégzése során a szintézis reakcióban részt nem vevő amino-, hidroxil- vagy karboxilcsoportokat meg kell védeni, amíg (1) a védőcsoport eltávolítása a kívánt végtermékhez vezet;

vagy (2) a szintézis következő lépésében egy specifikus védett csoport kialakítására van szükség; vagy (3) a végtermékhez vezető lépésben a védetlen csoport jelenléte a reakciót károsan nem befolyásolja. A fenti eseteket az alábbi példákkal világítjuk meg:

(1) A találmányunk szerinti monoészter készítése során a benzilcsoport a ganciclovir egyik primer hidroxilcsoportját megvédi, majd eltávolítható.

(2) A ganciclovir második primer hidroxilcsoportja második benzilcsoporttal megvédhető és ez a csoport közvetlenül az észterező lépés előtt eltávolítható.

(3) A ganciclovir guanin-gyűrűrendszerének aminosocsoportját védő acetyl-, trityl- vagy monometoxi-trityl-csoport, mivel a védetlen aminosocsoport az észterezési reakcióban nem vesz részt (III. lépés).

Az (I) képletű vegyület előállítása során felhasznált potenciális blokkoló ágensekkel szemben az alábbi követelményeket támasztjuk:

(1) A blokkoló csoport kvantitatíven, simán és az L-valin racemizálása nélkül legyen bevihető.

(2) A blokkolt közbelső termék az alkalmazott reakciókörülmények között, a védőcsoport eltávolításáig stabil legyen.

(3) A blokkoló csoport a molekula egyéb részeinek károsítása és az L-valin komponens racemizálódása nélkül könnyen eltávolítható legyen.

Az összes kiindulási anyag (ganciclovir és L-valin) és az (I) képletű vegyület előállításánál alkalmazott védő- és karboxilcsoportot aktiváló reagensek ismert vegyületek. Ismertek továbbá az aminosocsoporton védett különböző L-valin-származékok [például N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valin, BOC-L-valin, FMOC-L-valin, N-formil-L-valin és N-(benzil-oxi-karbonil)-N-karboxi-L-valinanhidrid]. Ezek kereskedelmi forgalomban levő vagy az irodalomban leírt [például N-(allil-oxi-karbonil)-L-valin] közbelső termékek.

A találmányunk szerinti vegyület előállításánál előnyösen az alábbi védett ganciclovir kiindulási anyagok alkalmazhatók: N²-acetyl-bis-O-benzil-ganciclovir [N²-acetyl-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-bis(benzil-oxi)-propán – lásd a 4355032 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás]. Előnyösen alkalmazható továbbá az N²-trityl-9-[(3-hidroxi-2-propoxi-1-trityl-oxi)-metil]-guanin [N²-trityl-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-trityl-oxi-propán-2-ol] és a N²-monometoxi-trityl-9-[(3-hidroxi-2-propoxi-1-mono-(metoxi-trityl-oxi)-metil)-guanin – e vegyületek előállítása a J. Pharm. Sci. 76(2), 180–184 (1987) közleményben került ismertetésre: ez az irodalmi hely hivatkozásként a jelen szabadalmi leírás részét képezi. Kiindulási anyagként továbbá 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiil-bis(L-valinát) alkalmazható, amely a részleges hidrolízis lépés kiindulási anyaga (375 329 számú európai közrebecsítási irat).

A III. lépés (észterezés) előtt az L-valin aminosocsoportját meg kell védeni, nehogy az észterezési reakcióban nemkívánatos amidképzéssel részt vegyen. Előnyösen az alábbi aminosocsoportokat alkalmazhatjuk: halogén-karbonátok, például (6–12 szénatomos aril)-kis szénatomszámú alkil-karbonátok (például a klór-han-

gyasav-benzil-észterből leszármaztatható karbobenzil-oxi-csoport), bifenil-alkil-halogén-karbonátok, tercier alkil-halogén-karbonátok (például tercier butil-halogén-karbonátok, különösen tercier butil-klór-karbonát), di-(kis szénatomszámú alkil)-dikarbonátok (különösen di-(tercier-butil)-dikarbonát), trifenil-metil-halogenidek (például trifenil-metil-klorid) és trifluor-ecetsavanhidrid. A védő lépést oly módon végezhetjük el, hogy L-valint kis szénatomszámú alkanolt tartalmazó alkálikus vizes oldatban oldunk vagy szuszpendálunk. A reakcióelegyet lehűtjük, miközben a védő ágenszt (például halogén-karbonátot, előnyösen vizes vagy kis szénatomszámú alkanolos oldat formájában) kis részletekben egyidejűleg hozzáadjuk. Az adagolás alatt a reakcióelegyet néhány órán át 0–30 °C-on – előnyösen 0–5 °C-on – tartjuk, majd a hőmérsékletet néhány óra alatt szobahőmérsékletre hagyjuk emelkedni. A reakcióelegyet szárazra pároljuk, a maradékot szerves oldószer és víz között megosztjuk. A vizes fázist megsavanyítjuk és a védett aminosavat szerves oldószerrel extraháljuk. A szerves fázist vízzel, majd konyhasóoldattal mossuk, magnézium-szulfát felett szárítjuk és szárazra pároljuk. Az N-védett aminosavat izoláljuk és tisztítjuk; e célra szokásos izolálási és tisztítási módszereket alkalmazhatunk.

Mono-L-valin ganciclovir előállítása

I. lépés

Az adott esetben védett 2-aminocsoportot és két védett primer hidroxilcsoportot tartalmazó ganciclovirról a védőcsoportokat részlegesen lehasítjuk. E célból például hidrogénezést alkalmazunk, amelynek során a védett 2-aminocsoport és az egyik védett primer hidroxilcsoport a molekulában megmarad. Az aminosocsoport megvédésére 2–4 szénatomos kis szénatomszámú alkanolcsoportok (előnyösen acetyl- vagy propionilcsoport) alkalmazhatók, vagy tritylcsoport vagy helyettesített tritylcsoportok (például monometoxi-trityl-csoport vagy 4,4'-dimetoxi-trityl-csoport) használhatók.

A hidroxilcsoport előnyösen a kívánt reakciólépések után könnyen eltávolítható éterképző csoportokkal védhető meg. E célra előnyösen benzil- vagy tritylcsoport alkalmazható. Ezek a csoportok a fenilgyűrűn helyettesítve lehetnek. A hidroxilcsoport továbbá allil-éter, tetrahidropiránil-éter, szilil-éter és trialkil-szilil-éterek formájában védhető meg: ezek a csoportok hidrogén-fluoriddal az irodalomból ismert módon távolíthatók el.

Az egyik hidroxil-védőcsoport eltávolítására szolgáló hidrogénezést előnyösen oly módon végezhetjük el, hogy a védett ganciclovirt megfelelő oldószerrendszerben oldjuk és katalizátor (például palládiumvegyületek, különösen palládium-hidroxid) jelenlétében hidrogénezük. Hidrogénező katalizátorként továbbá szokásos hidrogénező katalizátorok alkalmazhatók, például palládium, palládium-szén és homogén hidrogénező katalizátorok. Oldószerrendszerként kis szénatomszámú alkanolok (például metanol vagy etanol) és ciklohexén alkalmazhatók. A reakciót általában szobahőmérséklet és az oldószerrendszer forráspontja közötti hőmérsékleten végezhetjük el, így például visszafolyató hűtő alkalmazása mellett forrált etanolban és ciklohexénben, inert atmosz-

férában, az oxigén vagy levegő kizárása mellett, előnyösen nitrogénatmoszférában dolgozhatunk. A katalizátort szűrővel távolítjuk el. A szűrletet vákuumban bepároljuk. A kapott nyers reakcióelegy általában átalakulatlan kiindulási anyagot és főtermékként védett 2-aminocsoportot és egy védett alifás hidroxilcsoportot magában foglaló ganciclovirt tartalmaz. A két terméket általában az irodalomból ismert módszerekkel választhatjuk el; gyakran kromatográfiás módszereket alkalmazunk, előnyösen szilikagélen kromatografálunk, majd megfelelő eluálószerrel (például kis szénatomszámú alkanolok és halogénezett kis szénatomszámú alkánok elegyei, különösen etanol és diklór-metán elegye) eluálunk. Ily módon védett 2-aminocsoportot és egy védett alifás hidroxilcsoportot tartalmazó ganciclovirt kapunk.

II. lépés

A védett 2-aminocsoportot és egy védett alifás hidroxilcsoportot tartalmazó ganciclovirban a védett aminosocsoportot felszabadítjuk. Amennyiben az aminosocsoportot kis szénatomszámú alkanoilcsoport védi, a védőcsoport lehasítását bázikus körülmények között végezzük el (pH 9–14). Így például az N²-acetyl-mono-O-benzil-ganciclovirt alkálikus ágenssel (például ammónium-hidroxid, nátrium- vagy kálium-karbonát vagy nátrium- vagy kálium-hidroxid) az acetyl-csoport teljes eltávolításáig kezeljük. A reakciót általában megfelelő oldószer (például kis szénatomszámú alkanol) jelenlétében végezzük el. Előnyösen járhatunk el oly módon, hogy a kiindulási anyagot metanolban oldjuk és sztöchiometrikus mennyiségű ammónium-hidroxidot adunk hozzá. A reakcióhőmérsékletet 0 °C és 50 °C között tartjuk, előnyösen szobahőmérsékleten dolgozhatunk. A reakciót teljessé válása után – vékonyréteg-kromatográfiás úton követhetjük nyomon – a védőcsoportot már nem tartalmazó termék izolálásának megkönnyítése céljából másik oldószert (például dietil-etil-éter) adunk hozzá, majd a kiváló dezacilezett terméket szűrjük és más szokásos elválasztó módszerekkel izoláljuk.

III. lépés

Ebben a lépésben a (III) általános képletű, aminosocsoportján védett L-valint a II. lépés során kapott védett ganciclovirszármazékkal észterezzük. Az L-valin aminosocsoportját előnyösen N-benzil-oxi-karbonil-, ftalil-, tercier butoxi-karbonil- vagy N-(9-fluorenil-metoxi-karbonil)-csoporttal (vagy „Fmoc”-csoport) védhetjük meg.

Kiindulási anyagként legalább 1 ekvivalens védett aminosavat és 1 ekvivalens megfelelő kapcsoló ágenszt vagy dehidratáló ágenszt alkalmazunk (például 1,3-diciklohexil-karbodiimid vagy sói). Más karbodiimidek (például N,N'-karbonil-diimidazol) is alkalmazható. Dehidratálószerként továbbá trifluor-ecetsavanhidrid, vegyes anhidridek, savkloridok, 1-benzotriazolil-oxi-tris-(dimetil-amino)foszfónium-hexafluorofoszfát, PYBOP, 1-hidroxi-benzotriazol, 1-hidroxi-4-azabenzotriazol, 1-hidroxi-7-azabenzotriazol, N-etil-N'-[3-(dimetil-amino)-propil]-karbodiimid-hidroklorid, 3-hidroxi-3,4-dihidro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin, O-(benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-

tetrametil-uronium-hexafluorofoszfát, O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronium-hexafluorofoszfát, O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronium-tetrafluoroborát, O-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-bisz(tetrametilén)-uronium-hexafluorofoszfát vagy O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-(tetrametilén)-uronium-hexafluorofoszfát alkalmazható. A fenti kapcsoló ágensek a J. Am. Chem. Soc. 115, 4397–4398 (1993) irodalmi helyen, míg az uretáncsoporttal védett aminosav-N-karboxi-anhidridek (UNCA) Fuller és társai: J. Am. Chem. Soc. 112, 7414–7416 (1990) közleményében kerültek ismertetésre, ezek az irodalmi helyek hivatkozásként a jelen szabadalmi leírás részét képezik. Összefoglalva: kapcsoló ágensként bármely olyan szer felhasználható, amely enyhe körülmények között a védett aminosavból anhidrid vagy más aktivált származék képzésére alkalmas.

Az aminosocsoportján védett aminosavat inert oldószerben (például halogénezett kis szénatomszámú alkánok, előnyösen diklór-metán) inert atmoszférában (például nitrogén alatt) oldjuk és a kapcsoló ágenszt (előnyösen 1,3-diciklohexil-karbodiimid) hozzáadjuk. A reakcióelegyet 0–50 °C-on – előnyösen szobahőmérsékleten – keverjük. A reakcióelegyet szűrjük és a reakcióterméket (a védett aminosav anhidridje) izoláljuk. A kapott terméket vízmentes inert oldószerben (például vízmentes dimetil-formamid) oldjuk és nitrogén alá helyezzük. Az anhidrid ily módon kapott oldatához a II. lépésnél kapott termék ekvivalens mennyiségét tartalmazó oldatot hozzáadjuk. A reakciót 0–50 °C-on – előnyösen szobahőmérsékleten – 5–90 órán át folytatjuk. A reakcióterméket szokásos módszerekkel izoláljuk és tisztítjuk (például kromatográfiás úton). A termék általában reagálatlan N-védett aminosavat tartalmaz, amelyet oly módon távolíthatunk el, hogy a termék vízzel nem elegyedő oldószerezrel képezett oldatát (szerves fázis) vizes bázikus oldattal (például vizes nátrium-hidrogén-karbonát-oldat, nátrium-karbonát-oldat, konyhasóoldat vagy ezek elegye) kezeljük. A szerves fázisból a védett alifás hidroxilcsoportot és N-védett aminosavat tartalmazó ganciclovir-L-valin-észtert szokásos módszerekkel izoláljuk és tisztítjuk.

IV. lépés (védőcsoportok eltávolítása: az (I) képletű vegyület előállítás)

A III. lépésnél kapott termékben levő két védőcsoportot eltávolítjuk. A reakciót előnyösen savas közegben vagy oldószerben, különösen előnyösen hidrogénezéssel végezhetjük el. A védőcsoportok lehasítását előnyösen savas közegben hajtjuk végre; ilyen körülmények között a védőcsoport eltávolításakor felszabaduló aminosocsoport protonálódik, azaz a képződő (I) képletű bázist legalább sztöchiometrikus mennyiségű sav köti meg. Az (I) képletű vegyületet savaddíciós sója alakjában izoláljuk és ez az (I) képletű vegyület kívánt sztereokonfigurációját megvédi. Ezért a védőcsoport eltávolítását (a) lépés bemutató példák során egyidejűleg soképzés (b) lépés is lejártszódik.

A védőcsoportot oly módon távolíthatjuk el, hogy az észterezés során kapott terméket inert oldószerben (elő-

nyösen savas oldószerben) oldjuk, hidrogénező katalizátort (például palládium szénen vagy platina) adunk hozzá és magasabb hidrogénnyomás (1–2000 psi, előnyösen 20–200 psi) alá helyezzük. A reakció lejátszódását vékonyréteg-kromatográfiás elemzéssel követhetjük nyomon. A hidrogénezést az átalakulás teljessé válásáig végezzük, szükség esetén további mennyiségű katalizátor hozzáadása mellett. A katalizátort eltávolítjuk és mossuk. Az egyesített szűrleteket és mosófolyadékokat betöményítjük és liofilizáljuk. A ganciclovir L-valin észterét izoláljuk. A termék tisztítását és a kristályos észter izolálását átkristályosítással vagy más tisztítási módszerekkel (például folyadékkromatográfiás módszerek) végezzük el.

A tercier butoxi-karbonil-védőcsoportot savval (például sósavval) izopropanolos közegben, vagy trifluor-ecetsavval távolíthatjuk el.

A tritil- vagy helyettesített tritil-védőcsoportot vizes alkánkarbonsavval vagy trifluor-ecetsavval vagy sósavval, –20 °C és 100 °C közötti hőmérsékleten (például vizes ecetsavval) hasíthatjuk le.

Az allilcsoportot oly módon távolíthatjuk el, hogy ródiüm- vagy palládiumkatalizátorral történő kezeléssel vinil-éterre izomerizáljuk, majd savas vizes hidrolízist végzünk el.

Más előállítási eljárások [(b), (d) és (e) lépés]

A szakember számára nyilvánvaló, hogy az (I) képletű vegyület savaddíciós só vagy a megfelelő szabad bázis alakjában állítható elő. Az előállított savaddíciós só megfelelő bázissal (például ammónium-hidroxid-oldat, nátrium-hidroxid, kálium-hidroxid stb.) történő kezeléssel a szabad bázissá alakítható. Megjegyezzük azonban, hogy az (I) képletű vegyület a szabad bázis alakjában nehezebben jellemezhető, mint a savaddíciós sók formájában. A szabad bázis a korábbiakban ismertetett módon megfelelő szerves vagy szervetlen savval történő reagáltatással alakítható savaddíciós sóvá. A fenti reakciók során legalább sztöchiometrikus mennyiségű megfelelő savat (savaddíciós sók előállítása esetén), illetve bázist [az (I) képletű vegyület felszabadítása során] alkalmazunk. A sóképzést előnyösen oly módon hajthatjuk végre, hogy a szabad bázist poláros oldószerben (például víz vagy kis szénatomszámú alkanolok, előnyösen izopropanol, vagy ezek elegye) oldjuk és a megfelelő mennyiségű sav vízzel vagy kis szénatomszámú alkanollal képezett oldatát hozzáadjuk. A reakciót általában körülbelül 0–50 °C-on végezhetjük el, előnyösen szobahőmérsékleten dolgozhatunk. A képződő só spontán kiválik vagy a kiválást kevésbé poláros oldószer hozzáadásával, az oldószer bepárlással vagy vákuumban történő eltávolításával vagy az oldat lehűtésével segítjük elő.

A kondenzációs lépés (d) lépés reakciókörülményei a 187 297 számú európai közrebocsátási iratban kerültek ismertetésre. A kondenzációs eljárás a monoészter diasztereomerjeinek egyik legelőnyösebb előállítási módszere. Az eljárás során guanint – a 2-amino-csoport előnyösen védett – a glicerinszármazékkal reagáltatjuk. A glicerinszármazékot – például 1-halogén-3-(benzil-oxi)-2-(aciloxi-metoxi)-glicerint – guaninnal vagy a helyettesített guaninszármazékkal aprotikus

szénhidrogén oldószerben (például benzol, toluol vagy xilolok) vagy dimetil-formamidban és hexa-(kis szénatomszámú alkil)-szilazánnal (például hexametil-szilazán, hexaetil-szilazán stb.) és katalizátorral 30 °C és a reakcióelegy forráspontja közötti hőmérsékleten reagáltatjuk. Katalizátorként Lewis-savas sók (például trialkil-szilil-sók, mint például trifluor-alkil-szulfátok vagy trifluor-alkil-szulfonátok, klór-szilán, ammónium-szulfát vagy piridin) alkalmazhatók. A (d) lépés reakciókörülményei részletesebben a 187 297 számú európai közrebocsátási iratban kerültek ismertetésre; ez az irodalmi hely hivatkozásként szintén a jelen szabadalmi leírás részét képezi. Az Y¹ és Y² csoportot általában úgy választjuk meg, hogy az (I) képletű mono-L-valin-észter előnyösen legyen előállítható, Y¹ jelentése valamely, az aminocsoportot védett L-valinil-csoport, vagy L-valinil-csoporttá átalakítható csoport.

A találmányunk szerinti vegyületet továbbá a 375 329 számú európai közrebocsátási iratban leírt 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiil-bisz(L-valinát)-ból is előállíthatjuk. A fenti vegyületet oly módon alakíthatjuk a kívánt 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valináttá, hogy az egyik L-valin-észter-csoportot szabályozott körülmények között lehasítjuk. Az (e) lépés során tehát csak az egyik aminosav acilcsoportot lehasító részleges hidrolízist hajtunk végre. A 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiil-bisz-L-valinát valamely sóját (előnyösen bisz-acetát só) ionmentesített vízben oldjuk és gyenge bázissal (például híg ammónium-hidroxid-oldat) részlegesen semlegesítjük. A reakcióelegyet 1 nap és néhány nap közötti időtartamon át – előnyösen 48–72 órán keresztül – szobahőmérsékleten tartjuk.

Alternatív módon a részleges hidrolízist valamely észterázal (például sertés észteráz vagy peptidáz) végzett enzimikus hidrolízissel hajtjuk végre.

A monoésztert a biszésztertől enyhén savas körülmények között (pH 3–5, előnyösen 4) végzett preparatív kromatográfiával választhatjuk el. A kromatográfiás elválasztásnál alkalmazott oldószert eltávolítjuk és a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-9H-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanol-L-valinát só a két diasztereomer keveréke alakjában izoláljuk.

A sztereoizomerek izolálása

Az (I) képletű vegyület a propanilláncban egy aszimmetriás szénatomot (királis központ) és az L-valin részben is egy aszimmetriás szénatomot tartalmaz. Ennek megfelelően a Cahn és társai által kidolgozott szabályok szerint két diasztereomer forma – (R)- és (S)-forma – van jelen.

A diasztereomerek számos módszerrel választhatóak szét, azonban előnyösen a két diasztereomer eltérő fizikai tulajdonságain alapuló eljárásokat alkalmazhatunk. A diasztereomereket általában kromatográfiás úton választhatjuk szét, azonban az oldhatóságkülönbségek alapján más elválasztó/rezolváló módszereket (például frakcionált kristályosítás) is alkalmazhatunk.

Az (I) képletű vegyület diasztereomerjeinek előállítására szolgáló elválasztó módszerek az alábbi irodalmi helyen kerültek ismertetésre; Jean Jacques, André Collet, Samuel H. Wilen: *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981); ez az irodalmi hely hivatkozásként a jelen szabadalmi leírás részét képezi.

Alternatív módon a találmányunk szerinti vegyületet optikailag aktív reagensek felhasználásával állíthatjuk elő. A mono-L-valin-ganciclovir tiszta diasztereomerjeinek előállítására előnyösen a (d) kondenzációs lépést alkalmazhatjuk. Optikailag aktív reagensek felhasználása esetén azonban a pH 6 feletti tartomány kerülendő, mert ennél magasabb pH-értéken a szabad (I) képletű vegyület belső átalakulása játszódik le. Így például pH 7 értéken és 40 °C-on az (I) képletű diasztereomer keverékek felezési ideje egy óránál rövidebb.

Az (I) képletű vegyület második királis központjának sztereokonfigurációja cirkuláris dikroizmussal (előnyösen egy nehézfém-származék egyetlen kristály röntgenanalízisével) vagy ismert konfigurációjú egyetlen glicerinenantiomerből totálszintézissel készített anyaggal történő összehasonlítás útján határozható meg.

Kristályos 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát előállítás

A találmányunk szerinti vegyület kristályos formában állítható elő. Ez döntő előnyt jelent az irodalomban leírt, nem kristályos terméként jellemzett anyagokkal szemben. A fenti előny eredményeként a találmányunk szerinti kristályos termék könnyebben dolgozható fel gyógyászati készítményekké. A kristályos hatóanyag hatékonyabban dolgozható fel és jobban reprodukálható módon jellemezhető, mint a nem kristályos anyag. A találmányunk szerinti kristályos vegyület minősége is jobban jellemezhető és határozható meg, mint a nem kristályos anyagok esetében.

Kristályos anyag előállításához előnyösen a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát valamely sóját alkalmazzuk. A kristályos sók közül különösen az acetát és a hidroklorid előnyös. A kristályosítás beindítása során előnyösen oly módon járhatunk el, hogy a hidroklorid vagy acetát sót vízben oldjuk és vízzel elegyedő szerves oldószert (például metanol, etanol, izopropanol, tetrahydrofurán vagy acetonitril) adunk hozzá. Alternatív módon a hidroklorid-sót vízmentes kis szénatomszámú alkanolos oldatból (például metanol, etanol) más szerves oldószer (például etil-acetát, izopropanol, tetrahydrofurán vagy toluol) hozzáadásával kristályosíthatjuk.

Találmányunk további részleteit az alábbi példákban ismertetjük anélkül, hogy találmányunkat a példákra korlátoznánk.

1. példa

(S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-(benzil-oxi)-propán-1-ol

A) (R)-[1-klór-2-(acetoxi-metoxi)-3-(benzil-oxi)]-propán

500 mg (3,06 millimól) (S)-(+)-(benzil-oxi-metil)-oxirán és 201 mg (6,71 millimól) paraformaldehid 8 ml

diklór-metánnal képezett oldatát 0 °C-on keverés közben addig vezetünk át sósavgázt (tömény kénsavon való átvezetéssel szárítjuk), míg az összes szilárd anyag fel nem oldódik (körülbelül 45 perc). A kapott oldatot 0 °C-on 16 órán át állni hagyjuk, magnézium-szulfát felett szárítjuk és bepároljuk. Az (R)-[1-klór-2-(klór-metoxi)-3-(benzil-oxi)]-propánt kapjuk. A kapott klór-metil-éter közbenső terméket 3 ml acetonban oldjuk és a kapott oldatot 2,1 g (21,4 millimól) kálium-acetát és 7 ml aceton elegyéhez csepegtetjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 16 órán át keverjük, a szilárd anyagot leszűrjük és a szűrletet bepároljuk. A maradékot 20 ml toluolban felvesszük, és 10 ml telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és kétszer 20 ml vízzel mossuk. A szerves fázist nátrium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és a szűrletet bepároljuk. A maradékot szilikagélén végzett flash-kromatográfiával és 7:1 arányú hexán/etil-acetát eleggyel végrehajtott eluálással tisztítjuk. Szintelen olaj alakjában 810 mg (2,97 millimól) (R)-[1-klór-2-(acetoxi-metoxi)-3-(benzil-oxi)]-propánt kapunk. Kitermelés 97%. Szintelen olaj. (Az izomerek aránya 12:1.)

B) (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-klór-3-benzil-oxi-propán

1,09 g (2,95 millimól) perszililezett guanin 3,2 ml dimetil-formamiddal képezett oldatát 810 mg (R)-[1-klór-2-(acetoxi-metoxi)-3-(benzil-oxi)]-propánhoz adjuk. Az oldatot 130 °C-on egy órán át keverjük, majd trimetilszilil-trifluor-metánszulfonátot adunk hozzá. A keverést a fenti hőmérsékleten 4 órán át folytatjuk. A reakcióelegyet szobahőmérsékletre hűtjük, majd víz és etil-acetát között megosztjuk. A vizes fázist etil-acetáttal kimerítően extraháljuk. Az egyesített szerves rétegeket magnézium-szulfát felett szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A maradékot szilikagélén végzett kromatográfiával tisztítjuk. Az (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-klór-3-(benzil-oxi)-propánt kapjuk, az N-7 izomerrel együtt. Az N-9 és N-7 izomerek aránya körülbelül 2,3:1.

C) (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-acetoxi-3-(benzil-oxi)-propán

Az előző lépés szerint előállított termék, kálium-acetát (nagy fölösleg) és dimetil-formamid elegyét 5 órán át visszafolyatató hűtő alkalmazása mellett forraljuk. A kapott barna elegyet szobahőmérsékletre hűtjük és Celitegyertyán átszűrjük. A szűrőágyat metanollal átöblítjük. A szűrletet bepároljuk és a maradék dimetil-formamidot vákuumban eltávolítjuk. A nyersterméket szilikagélén végzett flash-kromatográfiával és 10:1 arányú metilén-klorid/metanol eleggyel végrehajtott eluálással tisztítjuk. Halványsárga szilárd anyag alakjában (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-acetoxi-3-(benzil-oxi)-propánt kapunk.

D) (S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-(benzil-oxi)-propán-3-ol

(R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-acetoxi-3-(benzil-oxi)-propán 1:2 arányú 30%-os ammónia/metanol eleggyel képezett elegyét szobahőmérsékleten 18 órán át keverjük. Az oldószert eltávolítjuk és a maradékot kevés metanollal kezeljük. A halványsárga, szilárd anyagot összegyűjtjük. Ily mó-

don (S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-(benzil-oxi)-propán-3-olt kapunk. Az anyalág bepárlása és a maradék forró metanolból történő átkristályosítása után a termék második generációját kapjuk.

2. példa

2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-(benzil-oxi)-propán-3-ol

A) 54,2 g (114 millimól) N²-acetyl-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-bisz(benzil-oxi)-propánt 815 ml forrásban levő etanolban oldunk és 610 ml ciklohexént adunk hozzá nitrogénatmoszférában. Az elegyhez 16 g palládium-hidroxid 50 ml etanollal képezett szuszpenzióját adjuk és a reakcióelegyet nitrogén alatt másfél órán át forraljuk. A forró elegyet Celiten átszűrjük és a szűrletet forgóbepárlón bepároljuk. A kapott, nyers reakcióelegyet szilikagélén kromatografáljuk és előbb 8% metanol és 92% diklór-metán elegyével, majd 10% metanol és 90% diklór-metán elegyével eluáljuk. 18,6 g (16%) N²-acetyl-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-bisz(benzil-oxi)-propánt (kiindulási anyag) és 17,6 g (40%) N²-acetyl-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-(benzil-oxi)-propán-3-olt kapunk.

B) 21,9 g (56,5 millimól) N²-acetyl-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-(benzil-oxi)-propán-3-olt 200 ml metanolban oldunk és 101 ml ammónium-hidroxidot adunk hozzá. A reakcióelegyet egy éjjelen át szobahőmérsékleten keverjük, majd a fehér szuszpenzióhoz 400 ml etil-étert adunk és az elegyet szűrjük. A csapadékot egymás után 100 ml etil-éterrel, 100 ml vízzel és 100 ml etil-éterrel mossuk, és magasvákuumban egy éjjelen át szárítjuk. 15,9 g (46,13 millimól, 82%) 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1-(benzil-oxi)-propán-3-olt kapunk. A szűrletet bepároljuk, a kiváló csapadékot 200 ml éterben szuszpendáljuk, szűrjük és magasvákuumban szárítjuk. További 2,3 g (6,7 millimól, 12%) terméket kapunk.

Analízis: C₁₆H₁₉N₅O₄ (345,36) képletre

számított: C%=55,55; H%=5,55; N%=20,08;
talált: C%=55,25; H%=5,60; N%=20,12.

3. példa

2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát

A) 2-[(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi]-3-benzil-oxi-1-propanil-N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valinát

43,66 g (0,174 mol, 3 ekvivalens) N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valint 72 ml diklór-metánban szuszpendálunk, majd 14,34 g (69,5 millimól, 1,2 ekvivalens) 1,3-diciklohexil-karbondiimidet adunk hozzá. Az elegyet nitrogénatmoszférában 48 órán át keverjük, majd zsugorított üveg-szűrőn szűrjük. A fehér, szilárd anyagot 75 ml diklór-metánnal mossuk. Az egyesített szűrleteket nitrogénatmoszférában keverjük, majd előbb 20 g (57,91 millimól, 1 ekvivalens) 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-(benzil-oxi)-propán-1-ol és 90 ml dimetil-formamid szuszpenzióját, majd 1,77 g (14,4 millimól, 0,25 ekvivalens) 4-dimetil-amino-piridint adunk hozzá.

A reakcióelegyet nitrogénatmoszférában 18 órán át keverjük, 1200 ml vízbe öntjük és 350 ml etil-acetáttal és 350 ml toluollal extraháljuk. A vizes fázist elválasztjuk, a szerves réteget 600 ml félig telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal és 200 ml vízzel mossuk, magnézium-szulfát felett szárítjuk és vákuumban bepároljuk. A maradékot etil-acetát és ciklohexán elegyből kicsapjuk. Amorf szilárd anyag alakjában 2-[(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi]-3-(benzil-oxi)-1-propanil-N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valinátot kapunk.

B) 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidroklorid

224,8 g (0,39 mol) 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-(benzil-oxi)-propanil-N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valinátot 1,2 liter metanolban oldunk és 32,4 ml (0,39 millimól) tömény sósavat csepegtetünk hozzá. Az elegyet nitrogén alá helyezzük és 67,4 g palládium-szén katalizátort adunk hozzá. Az elegyet Parr-bombában hidrogénatmoszférában (275,79–689,47 kPa, átlagosan 551,58 kPa nyomás) 48 órán át hidrogénezzük. Ezután 5 g további palládium-szén katalizátort adunk hozzá és a hidrogénezést 100 psi nyomáson 24 órán át folytatjuk. Az elegyet Celite-ágyon átszűrjük és a maradékot 1 liter metanollal mossuk. A szűrletet vákuumban szárazra pároljuk. A maradékot 150 ml vízben oldjuk, 60 °C-ra melegítjük és 830 ml izopropanolt csepegtetünk keverés közben lassan hozzá, miközben a hőmérsékletet 60–70 °C-on tartjuk. Az oldatot 16 óra alatt lassan szobahőmérsékletre hagyjuk lehűlni. A kapott, kristályokat tartalmazó oldatot 30 °C-ra melegítjük és további 220 ml izopropanolt adunk hozzá. Az elegyet 4 óra alatt lassan –11 °C végső hőmérsékletre hagyjuk lehűlni. A kiváló kristályokat szűrjük és 200 ml hideg 2% víz/izopropanol eleggyel mossuk. 120,5 g 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidrokloridot kapunk, kitermelést 79%. A termék 142 °C-on fázisváltáson megy át és 175 °C-on bomlik.

4. példa

Kristályos 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát só

150 g 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidrokloridot 150 ml vízben oldunk és az oldatot 50–60 °C-ra melegítjük. Keverés közben lassan 830 ml izopropanolt csepegtetünk hozzá, miközben a hőmérsékletet 60–70 °C-ra emeljük. Az oldatot lassan 25 °C-ra hűtjük 20 óra alatt. A képződő, kristályokat tartalmazó oldatot 30 °C-ra melegítjük és további 220 ml izopropanolt adunk hozzá. Az elegyet lassan 6 óra alatt –11 °C végső hőmérsékletre hűtjük. A kiváló kristályokat szűrjük és 200 ml hideg 2% víz/izopropanol eleggyel mossuk. 135 g 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidroklorid kristályokat kapunk, kitermelés 90%. A termék 142 °C-on fázisváltáson megy át és 175 °C felett bomlik.

A fenti eljárással analóg módon 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-acetátot állítunk elő, kristályos formában.

5. példa

(S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidroklorid

A) (S)-2-[(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi]-3-(benzil-oxi)-1-propanil-N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valinát

437 mg (1,74 millimól, 3 ekvivalens) N-benzil-oxi-karbonil-L-valint 1 ml diklór-metánban szuszpendálunk és 143 mg (0,7 millimól, 1,2 ekvivalens) 1,3-diciklohexil-karbodiimidet adunk hozzá. Az elegyet nitrogénatmoszférában 48 órán át keverjük, majd zsugorított üvegszűrőn átszűrjük és a fehér, szilárd maradékot 1 ml diklór-metánnal mossuk. Az egyesített szűrleteket nitrogénatmoszférában keverjük és előbb 200 mg (0,58 millimól, 1 ekvivalens) (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-(benzil-oxi)-propán-1-ol 1,5 ml dimetil-formamiddal képezett szuszpenzióját, majd 18 mg (14,4 millimól, 0,25 ekvivalens) 4-(dimetil-amino)-piridint adunk hozzá. A reakcióelegyet nitrogénatmoszférában 18 órán át keverjük, 12 ml vízbe öntjük és 3,5 ml etil-acetát és 3,5 ml toluol elegyével extraháljuk. A vizes fázist elválasztjuk és a szerves fázist 6 ml félig telített nátrium-hidrogén-karbonát-oldattal, majd 2 ml vízzel mossuk, magnézium-szulfát felett ciklohexán elegyből kicsapjuk. Szilárd anyag alakjában (S)-2-[(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi]-3-(benzil-oxi)-1-propanil-N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valinátot kapunk.

B) (S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidroklorid

225 mg (3,9 millimól) (S)-2-[(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi]-3-(benzil-oxi)-1-propanil-N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valinátot 12 ml metanolban oldunk és 0,3 ml (3,9 millimól) tömény sósavat adunk hozzá. Az elegyet nitrogén alá helyezzük és 674 mg palládium-szén katalizátort adunk hozzá. Az elegyet Parr-bombában hidrogénatmoszférában (275,79–689,47 kPa, átlagosan 551,58 kPa nyomás) 48 órán át hidrogénezzük. Ezután további 50 mg palládium-szén katalizátort adunk hozzá és a hidrogéneezést 689,47 kPa nyomáson 24 órán át folytatjuk. Az elegyet Celite-ágyon átszűrjük és a maradékot 10 ml metanollal mossuk. A szűrletet vákuumban szárakra pároljuk. A maradékot 1,5 ml vízben oldjuk, az oldatot 60 °C-ra melegítjük és keverés közben lassan 8 ml izopropanolt adunk hozzá, miközben a hőmérsékletet 60–70 °C-on tartjuk. Az oldatot 16 óra alatt lassan szobahőmérsékletre hűtjük. A képződő oldatot 30 °C-ra melegítjük és 2 ml izopropanolt adunk hozzá. Az elegyet 4 óra alatt lassan –11 °C végső hőmérsékletre hűtjük. A kiváló kristályokat szűrjük és 2 ml hideg 2% víz/izopropanol eleggyel mossuk. Ily módon (S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-hidrokloridot kapunk.

6. példa

2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valin-acetát előállítás 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiil-bisz(L-valinát)-bisz-acetátból

100 mg 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiil-bisz(L-valinát)-bisz-acetát söt (liofilizált minta, amely 0,6 ekvivalens fölös mennyiségű ecetsavat tartalmaz, 0,164 millimól=összesen 0,426 millimól esetsav) 0,4 ml ionmentesített vízben oldunk és 24 ml (0,36 millimól) 0,015 mólos ammónium-hidroxid-oldat hozzáadásával részlegesen semlegesítjük. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 67 órán át állni hagyjuk. Az elegy mintáját két egyforma részletben preparatív fordított fázisú HPLC-oszlopra fecskendezük (YMC-Pack, ODS-AM DM-33-5, 2×250 mm, YMC Inc). Az elválasztást 10% metanoltól és 90% ecetsavval pH 4 értékre puffertolt 0,1 mólos ammónium-acetátból álló oldószerrendszerrel végezzük el: az átfolyási sebesség 9,5 ml/perc és a kimutatást 256 nm mellett végezzük. A monoészter-termék két diasztereomerjét képviselő két csúcsot összegyűjtjük. Az oldatot vákuumban körülbelül 2 ml-re bepároljuk és a maradékot a puffert eltávolítása céljából 0,1% ecetsavat tartalmazó vízből kétszer liofilizáljuk. A két diasztereomer keveréke alakjában 45 mg (0,112 millimól, 68%) 2-[(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-9H-purin-9-il)-etoxi]-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát-ecetsavas söt izolálunk. Az NMR-spektrum az alábbi jellemző csúcsokat tartalmazza:

¹H-NMR (300 MHz) DMSO-d₆ oldat: δ 7,78 (1H, s, H C-8), 6,48 és 6,45 (2 széles s, 2H, NH₂), 5,44 (mAB, J=11 Hz) és 5,43 (s) összesen 2H, CH₂; 1,91 (s, 3H, CH₃COOH-), 0,83 + 0,82 (2d, J=7 Hz, 3H, CH₃), 0,75 + 0,76 (2d, J=7 Hz, 3H, CH₃).

7. példa

(R,S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát szétválasztása

1,66 g (R,S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát 90%, ecetsavval pH 4 értékre savanyított 0,1 mólos ammónium-acetát és 10% metanol elegyével képezett oldatát (9,60 ml) YMC-Pack ODS-AM HPLC-oszlopra (katalógusszám DM-33-5; nagyság: 250×20 mm (belső átmérő); részecske S-5 mm 120 Å) visszük fel 48, egyenként 200 µl-es fecskendezéssel. Az eluálást 9,5 ml/perc sebességgel végezzük el. Mobil fázisként 90%, ecetsavval pH 4 értékre savanyított 0,1 mólos ammónium-acetát és 10% metanol elegyet alkalmazunk. A csúcsokat 256 nm-re beállított Knauer változtatható hullámhosszmonitor felhasználásával mutatjuk ki és a frakciókat kézi úton gyűjtjük össze. Három frakciócsoportot gyűjtünk össze; az 1. csúcs (retenciós idő 24,4 perc), a csúcsok közötti átlapoló tartomány és a 2. csúcs (retenciós idő 27,8 perc). A három csoportba tartozó frakciókat külön-külön egyesítjük, a metanolt vákuumban eltávolítjuk, majd a maradék illékony komponensek eltávolítása céljából liofilizáljuk. A maradékot vízben oldjuk, ecetsavval pH 4 értékre savanyítjuk és ismét liofilizáljuk. Két csúcsot kapunk; éspedig az 1. csúcsot (1,57 g) és a 2. csúcsot (0,91 g). A termék HPLC-analízisét YMC-Pack ODS-AM-oszlopon (katalógusszám: RM-33-5; nagyság 250×4,6 mm (belső átmérő), szemcse S-5 mm, 120 Å) végezzük el; az eluálás sebessége 0,5 ml/perc; a mozgó fázis 90%, ecet-

savval pH 4 értékre savanyított 0,1 mólos ammónium-acetátból és 10% metanolból áll. A HPLC-elemzés szerint az 1. csúcs (retenciós idő 24,4 perc preparatív oszlopon) 70,8% 1. csúcs (retenciós idő 21,1 perc), 26,4% 2. csúcs (retenciós idő 24,6 perc) és 2,8% teljesen hidrolizált termék (retenciós idő 12,4 perc) keverékét, míg a 2. csúcs (retenciós idő 27,8 perc, preparatív oszlopon) 68,5% 2. csúcs (retenciós idő 22,0 perc), 27,5% 1. csúcs (retenciós idő 20,2 perc) és 4% teljesen hidrolizált termék (retenciós idő 11,6 perc) keverékét tartalmazza. A 2. csúcsot (0,91 g) és az 1. csúcsot (1,57 g) külön-külön 90%, ecetsavval pH 4 értékre savanyított 0,1 mólos ammónium-acetát és 10% metanol elegyében (3,60 ml) oldjuk és a korábbiaknál leírt rendszer felhasználásával ismét tisztítjuk (18, egyenként 200 ml-es részletben ráfecskendezve az oszlopra). Az 1. és 2. csúcsot tartalmazó két frakciócsoportot összegyűjtjük, egyesítjük és vákuumban a metanol eltávolítása céljából bepároljuk, majd a maradékot a jelen levő illékony komponensek eltávolítása céljából liofilizáljuk. Az egyes frakciócsoportokból nyert maradékot vízben oldjuk, ecetsavval óvatosan pH 4 értékre savanyítjuk és ismét liofilizáljuk. Az 1. csúcsnak megfelelő frakciókból 0,70 g fehér, pelyhes, levegőn higroszkópos szilárd anyagot kapunk. A termék a fentiekben leírt HPLC-analízis szerint 94,9% 1. csúcsot (retenciós idő 21,1 perc), 4,6% 2. csúcsot (retenciós idő 26,7 perc) és 0,5% teljesen hidrolizált terméket (retenciós idő 11,8 perc) tartalmazó keverékből áll.

¹H-NMR-analízis (d₆ DMSO, a δ értékeket tetrametil-szilánhoz, mint belső standardhoz viszonyítjuk): jellemző csúcsok: δ 5,43 (m_{AB}, 2H, J_{AB}=11,1 Hz, d_A 5,44, d_B 5,43), 3,02 (d, 1H, J=5,1 Hz), 0,82 (d, 3H, J=6,8 Hz), 0,75 (d, 3H, J=7,8 Hz). A 2. csúcsnak megfelelő frakciókból 0,81 g fehér, pelyhes, levegőn higroszkópos szilárd anyagot kapunk. A termék a fentiekben leírt HPLC-analízis szerint 91,0% 2. csúcsot (retenciós idő 29,8 perc), 8,4% 1. csúcsot (retenciós idő 28,4 perc) és 0,6% teljesen hidrolizált terméket (retenciós idő 14,4 perc) tartalmazó keverékből áll.

¹H-NMR-analízis (d₆ DMSO, a δ értékeket tetrametil-szilánhoz, mint belső standardhoz viszonyítjuk): jellemző csúcsok: δ 5,43 (s, 2H), 2,99 (d, 1H, J=5,2 Hz), 0,83 (d, 3H, J=6,8 Hz), 0,76 (d, 3H, J=6,8 Hz).

8. példa

A) (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-(benzil-oxi)-1-propanil-(N-benzil-oxi-karbonil)-L-valinát

327 mg (1,30 millimól, 3 ekvivalens) N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valin 25 ml diklór-metánnal képezett oldathoz nitrogénatmoszférában 134 mg (0,65 millimól, 1,5 ekvivalens) 1,3-diciklohexil-karbodiimidet adunk. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 13,5 órán át keverjük, majd az oldhatatlan anyagot leszűrjük és a szűrletet forgóbepárlón vákuumban bepároljuk. A visszamaradó fehér habot 10 ml vízmentes dimetil-formamidban oldjuk és közvetlenül 150 mg (0,43 millimól, 1 ekvivalens) (S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-me-

toxi-3-(benzil-oxi)-1-propán-1-ol 10 ml vízmentes dimetil-formamiddal képezett oldathoz adjuk. A dimetil-formamidos oldathoz 13 mg (0,11 mol, 0,25 ekvivalens) 4,4-(dimetil-amino)-piridint adunk. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 27 órán át keverjük: ebben az időpontban a TLC-analízis a kiindulási anyagok elfogyását jelzi. A reakcióelegyet vákuumban bepároljuk. A nyers-terméket flash-kromatografálással tisztítjuk; mobil fázisként 95% metilén-klorid és 5% metanol elegyét alkalmazzuk. Amorf szilárd anyag alakjában 158 mg cím szerinti vegyületet kapunk, kitermelés 63%.

B) (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanol-L-valinát-hidroklorid

158 mg (0,27 millimól) (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-(benzil-oxi)-1-propanil-N-(benzil-oxi-karbonil)-L-valinátot 15 ml metanolban oldunk és 24 ml (0,27 millimól) tömény sósavat adunk hozzá. Az elegyet nitrogén alá helyezzük és 48 mg 10%-os palládium-szén katalizátort adunk hozzá. Az elegyet Parr-bombában hidrogénatmoszférában (nyomás 50 psi) 5 órán át hidrogénezzük. Az elegyet Celite-ágyon átszűrjük és a maradékot 25 ml metanollal mossuk. Az egyesített szűrleteket és mosófolyadékokat bepároljuk. 107 mg cím szerinti vegyületet kapunk, kitermelés 95%. A HPLC-analízist YMC-Pack ODS-AM-oszlopon (katalógusszám RM-33-5; nagyság 250×4,6 mm (belső átmérő); részecske S-5 mm, 120 Å) hajtjuk végre, eluálószerként 0,5 ml/perc sebesség mellett 90%, ecetsavval pH 4 értékre savanyított 0,1 mólos ammónium-acetát és 10% metanol elegyét alkalmazzuk. A HPLC-elemzés szerint a termék az (R) és (S) diasztereomerek 85:15 arányú keverékből áll.

9. példa

35 *Orális felszívódás (biológiai értékesülés) meghatározása patkányon*

Az (I) képletű vegyület (ganciclovir L-monovalin-észter) és összehasonlítás céljából más ganciclovir aminosav-észterek, más ganciclovir-észterek és -éterek orális felszívódását (biológiai orális értékesülés) az alábbi teszt segítségével határozzuk meg.

Egy vegyület orális biológiai értékesülésének meghatározása céljából először him patkányon meghatározzuk a vegyület plazmaszintjét egyetlen orális dózis beadása után. Egy előgyógyszer (prodrug) meghatározása céljából előbb a hatóanyag (ganciclovir) plazmaszintjét határozzuk meg him patkányon, az előgyógyszer (prodrug) egyetlen orális dózisának beadása után. Ezután meghatározzuk a hatóanyag (ganciclovir) plazmaszintjét, him patkányon, a vegyület egyetlen intravénás (iv.) dózisának beadása után. Ganciclovir esetében az egyszeri dózis minden esetben (orális és iv.) 10 mg/kg. Az előgyógyszer-észter (ganciclovir L-monovalin-észter) egyszeri dózisa minden esetben (orális és iv.) 10 mg/kg ganciclovir dózissal ekvivalens. Az orális és iv. adagolás utáni 2. mérésből a vegyület orális biológiai értékesülését oly módon számítjuk ki, hogy az orális adagolás után kapott koncentráció – idő görbe alatti teljes területet az iv. adagolás után kapott koncentráció – idő görbe alatti teljes területtel eloszt-

juk. A dózist az alábbi egyenlet segítségével megfelelően korrigáljuk:

$$F_{(p.o.)}(\%) = [AUC_{(p.o.)}/AUC_{(iv.)}] \times [dózis_{(iv.)}/dózis_{(p.o.)}] \times 100$$

Az AUC (görbe alatti teljes terület) értékeket a 0–24 óra alatt elemzett teljes időtartományra kiszámítjuk.

Az orális és intravénás adagolás során hordozóanyagként 2% ecetsavat tartalmazó normál konyhasóoldatot alkalmazunk. A tesztvegyület koncentrációja mindkét esetben 4,0 mg/ml ganciclovirral egyenértékű; a dózis 10 mg/kg (2,5 ml/kg) ganciclovirral egyenértékű. Egy 200 g testtömegű patkány szonda segítségével 0,5 ml orális tesztvegyület-oldatot vagy a farokvénába fecskendezett injekciót kap.

A patkányokat a laboratóriumi környezethez 3 napon át szoktatjuk és a kísérlet megkezdése előtt egy éjjelen át, majd a tesztvegyület beadása után 4 órán keresztül éheztetjük. Négy patkányból az alábbi időközökben vérmintát veszünk 0 perc (adagolás előtt), 5 perc (csak iv.), 15 perc, 30 perc, 1 óra, 2 óra, 3 óra, 5 óra, 7 óra, 10 óra és 24 óra. A vérmintákat azonnal centrifugáljuk, majd a kapott plazmát –20 °C-on az elemzés elvégzéséig fagyaszttjuk.

A plazma ganciclovirtartalmának meghatározása

A plazma aliquot részeit (0,50 ml) 0,020 ml belső standarddal (aciclovir, 15 µl/ml 10% metanol/víz elegyben) és 3,0 ml acetonitrilrel összekeverjük. Az elegyet keverjük és a kiváló csapadékot centrifugálással (4000 g, 10 perc) eltávolítjuk. A felülúszót nitrogén alatt szárazra pároljuk, majd 200 µl HPLC mobil fázisban felvesszük. Aliquot részeket (0,05 ml) Keystone Hypersil BDS, 250×4,6 mm C 18 oszlop felhasználásával elemezzük. A mobil fázis 2% acetonitril és 5 millimól heptánszulfonsavat tartalmazó nátrium-foszfát-puffert (pH 2,0) tartalmaz. A mobil fázist 1,0 ml/perc sebességgel fecskendezzük. A ganciclovirt és a belső standardot UV-abszorpcióval 254 nm mellett mutatjuk ki.

Orális biológiai értékesülés

Tesztvegyület	Orális biológiai értékesülés (F%)	Hivatkozás
Ganciclovir (G)	7,9	US 4 355 032
[2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiol]		
G-bisz-(propionsav)-észter	17,7	J. Pharm. Sci. 76, 180–184 (1987)
G-bisz-(L-valin)-észter	52,0	EP 375 329
G-L-valin-észter-benzil-éter	nem kimutatható	–
G-bisz(fenil-glicin)-észter-diacetát	8,18	–
G-dibenzil-éter	nem kimutatható	–

Tesztvegyület	Orális biológiai értékesülés (F%)	Hivatkozás
Találmányunk szerinti aminosav-észter		
G-L-valinát-acetát	84,0	
G-L-valinát-hidroklorid	98,1	

10. példa

Orális felszívódás (biológiai értékesülés) meghatározása cynomolgus majmon

Az (I) képletű vegyület orális felszívódását (orális biológiai értékesülés) cynomolgus majmon az alábbi teszt segítségével határozzuk meg.

Állatok, adagolás és mintagyűjtés

A teszthez 5–7 kg testtömegű hím cynomolgus majmokat alkalmazunk. Az állatokat majomtápon, gyümölcsön és vízen tartjuk és 12 órás megvilágítási periódusokat alkalmazunk. A tesztvegyületből 10 ml/ml ganciclovir koncentrációjú konyhasóoldatot készítünk. Az orális készítményt szondával 1,0 ml/kg dózisban adagoljuk; ez 10 mg ganciclovir/kg végső dózissal ekvivalens. Az iv. készítményt 0,2% sósavat tartalmazó konyhasóoldatban, 20 mg/ml koncentrációban állítjuk elő; a dózis 0,5 ml/kg.

Az állatokat a teszt előtti éjszakától kezdődően a tesztvegyület beadása után 4 órán át éheztetjük. Minden majomtól az alábbi időközökben vérmintát veszünk: 0 (adagolás előtt), 5 perc (csak iv.), 15 perc, 30 perc, 1 óra, 2 óra, 3 óra, 5 óra, 7 óra, 10 óra és 24 óra az adagolás után. A vérmintákat herparinizált fecskendezőkkel összegyűjtjük, a plazmát centrifugálással azonnal izoláljuk és –20 °C-on az elemzés elvégzéséig fagyaszttjuk.

A plazma ganciclovirszintjének meghatározása

A plazma aliquot részeit (0,5 ml) 0,020 ml belső standarddal (aciclovir, 15 µg/ml 10% metanol/víz elegyben) és 3,0 ml acetonitrilrel összekeverjük. Az elegyet keverjük, a képződő csapadékot centrifugálással (4000 g, 10 perc) eltávolítjuk. A felülúszót nitrogén alatt szárazra pároljuk és 200 µl HPLC mobil fázisban újra felvesszük. Aliquot részeket (0,05 ml) Keystone Hypersil BDSM 18 oszlop felhasználásával HPLC-elemzésnek vetjük alá. A 2% acetonitril és 5 millimól heptánszulfonsavat tartalmazó 30 millimólos nátrium-foszfát-pufferből (pH 2,0) álló mobil fázist 1,0 ml/perc sebességgel fecskendezzük be. A ganciclovirt és a belső standardot UV-abszorpcióval 254 nm mellett mutatjuk ki és mérjük.

A biológiai értékesülést (F) a 9. példában megadott egyenlet segítségével számítjuk ki.

A 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát előgyógyszer (pro-drug) orális biológiai értékesülése 35,7%. A 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiol-bisz-L-valinát orális biológiai értékesülése 23,5%. A ganciclovir orális biológiai értékesülése 9,9%. Az előgyógyszert orálisan és a ganciclovirt iv. ugyanazok-

nak a majmoknak beadva az előgyógyyszerre 41,6% átlagos orális biológiai értékesülést kapunk.

11. példa

A találmányunk szerinti ganciclovir L-valin-monoészter, Povidont (kötőanyag), kukoricakeményítőt (szétesést elősegítő anyag) és a sztearinsavat (lubrikáns és síkosító anyag) tartalmazó keveréket kétrészes keményszselatin kapszulahéjba töltünk. A granuláló folyadékként alkalmazott vizet az eljárás folyamán eltávolítjuk.

Ganciclovir L-valin-monoészter kapszulák mennyiségi összetétele (naponta 3 × 1 kapszula adagolandó)

Komponens	Mennyiség mg/kapszula	Tömeg%
Ganciclovir-L-valin-monoészter-hidroklorid	390,00	92,75
Povidone	12,61	3,00
Kukoricakeményítő	16,81	4,00
Sztearinsav ¹	1,05	0,25
Víz ²		
Teljes töltőtömeg (elméleti) ³	420,47	100,00

A porkeveréket kétrészes keményszselatin kapszulahéjba töltjük.

¹ A sztearinsav mennyisége 0,1 tömeg% és 5,0 tömeg% között változhat.

² A víz mennyisége a megfelelő granulátum készítésétől függően változhat; a végén szárítást alkalmazunk.

³ A teljes töltőtömeg (elméleti) a késztermékben jelen levő maradék nedvességet nem tartalmazza.

Ganciclovir L-valin-monoészter kapszulák mennyiségi összetétele (naponta 3 × 2 kapszula adagolandó)

Komponens	Mennyiség mg/kapszula	Tömeg%
Ganciclovir-L-valin-monoészter-hidroklorid	312,00	92,75
Povidone	10,09	3,00
Kukoricakeményítő	13,45	4,00
Sztearinsav ¹	0,84	0,25
Víz ²		
Kapszula töltőtömege (elméleti) ³	336,38	100,00

A porkeveréket kétrészes keményszselatin kapszulahéjba töltjük.

¹ A sztearinsav mennyisége 0,1 tömeg% és 5,0 tömeg% között változhat.

² A víz mennyisége a megfelelő granulátum készítésétől függően változhat; a végén szárítást alkalmazunk.

³ A teljes töltőtömeg (elméleti) a késztermékben jelen levő maradék nedvességet nem tartalmazza.

A ganciclovir L-valin-monoészter kapszulákat például a következőképpen készíthetjük el:

1. A ganciclovir L-valin-monoészter a kukoricakeményítő egy részével megfelelő keverőberendezésben összekeverjük.

2. A Povidonet vízben keverés közben oldjuk.

3. A 2) lépésnél kapott oldatot az 1) lépésnél kapott keverékhez adjuk, állandó keverés közben, és ily módon granulátumot képezünk.

4. A nedves granulátumot szükség esetén megőröljük.

5. A nedves granulátumot szárítóberendezésben szárítjuk.

6. A száraz granulátumot, a maradék kukoricakeményítőt és a sztearinsavat megőröljük.

7. A (6) lépésnél kapott keveréket megfelelő keverőberendezésben összekeverjük.

8. A (7) lépésnél kapott keveréket kétrészes keményszselatin kapszulahéjba töltve kapszulázzuk.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát vagy gyógyszerileg alkalmas sói, az (R)- vagy (S)-diasztereomer alakjában, vagy a két diasztereomer keveréke formájában.

2. Az 1. igénypont szerinti vegyület, az (R)- és (S)-diasztereomer azonos mennyiségét tartalmazó keverék alakjában.

3. Az 1. igénypont szerinti vegyület hidrokloridja vagy acetátja.

4. Az 1. igénypont szerinti vegyület, kristályos formában.

5. Az 1. igénypont szerinti (R)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát és gyógyszerileg alkalmas sói.

6. Az 1. igénypont szerinti (S)-2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát és gyógyszerileg alkalmas sói.

7. Az 5. vagy 6. igénypont szerinti vegyület hidrokloridja.

8. Az 5. vagy 6. igénypont szerinti vegyület acetátja.

9. Gyógyászati készítmény, amely az 1–8. igénypontok bármelyike szerinti vegyületet, és adott esetben gyógyszerileg alkalmas excipienst vagy hordozóanyagot tartalmaz.

10. A 9. igénypont szerinti gyógyászati készítmény, intravénás adagolásra alkalmas formában.

11. (II) általános képletű vegyületek (mely képletben P¹ jelentése hidrogénatom vagy valamely hidroxil-védőcsoport és P² jelentése valamely amino-védőcsoport).

12. Eljárás 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát vagy gyógyszerileg alkalmas sói, vagy diasztereomerjei előállítására, *azzal jellemezve*, hogy

a) valamely (IV) általános képletű vegyületből (mely képletben P¹ jelentése valamely hidroxil-védőcsoport vagy hidrogénatom; P² jelentése valamely amino-védőcsoport és P³ jelentése hidrogénatom vagy P²) az amino- és/vagy hidroxil-védőcsoportot eltávolítjuk, a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát vagy gyógyszerileg alkalmas sója képződése közben;

b) a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinátot gyógyászati lag alkalmas sóvá alakítjuk; vagy

c) a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiolt (ganciclovir) vagy sóját az L-valin aktivált származékával észterezzük; vagy

d) valamely adott esetben helyettesített (XVI) általános képletű guanint (mely képletben P³ jelentése hidrogénatom vagy valamely amino-védőcsoport), adott esetben perszilizett formában, egy (XVII) általános képletű 2-helyettesített glicerinnel (mely képletben Y¹ és Y² jelentése egymástól függetlenül halogénatom, kis szénatomszámú acil-oxi-, kis szénatomszámú alkoxi- vagy aril-(kis szénatomszámú alkoxi)-csoport és Z jelentése kilépőcsoportként kis szénatomszámú acil-oxi-, metoxi-, izopropoxi-, benzil-oxi-csoport, halogénatom, mezil-oxi- vagy tozil-oxi-csoport) adott esetben Lewis-sav katalizátor jelenlétében kondenzálunk, a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinát képződése közben; vagy

e) a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-1,3-propándiil-bisz(L-valinát) biszésztert vagy sóját részlegesen hidrolizáljuk, a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-

valinát monoészter vagy gyógyászati lag alkalmas sója keletkezése közben; vagy

f) a 2-(2-amino-1,6-dihidro-6-oxo-purin-9-il)-metoxi-3-hidroxi-1-propanil-L-valinátot az (R)- és (S)-diasztereomerre szétválasztjuk.

13. A 12. igénypont szerinti eljárás, *azzal jellemezve*, hogy az amino- és hidroxil-védőcsoportok eltávolítását savas körülmények között végezzük el.

10 14. Az 1–8. igénypontok bármelyike szerinti vegyületek, *azzal jellemezve*, hogy azokat a 12. és 13. igénypont szerinti eljárással állítjuk elő.

15. Az 1–8. igénypontok bármelyike szerinti vegyület, gyógyászati hatóanyagként történő felhasználásra.

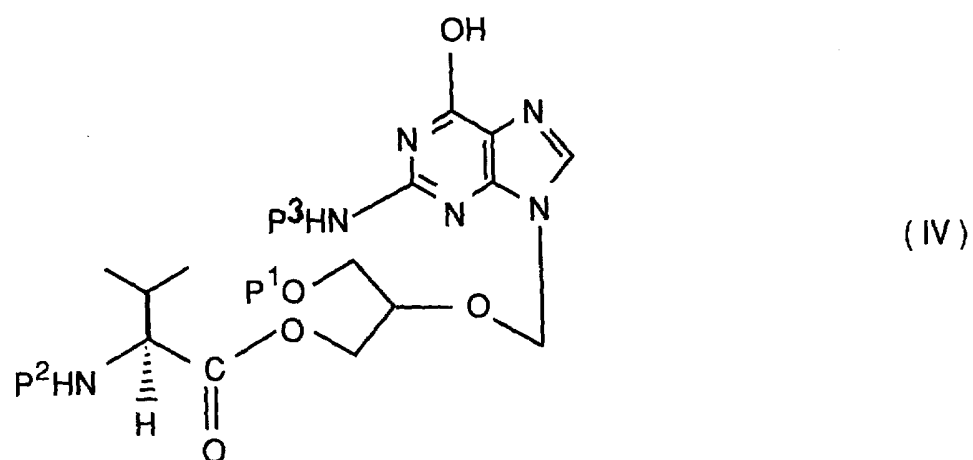
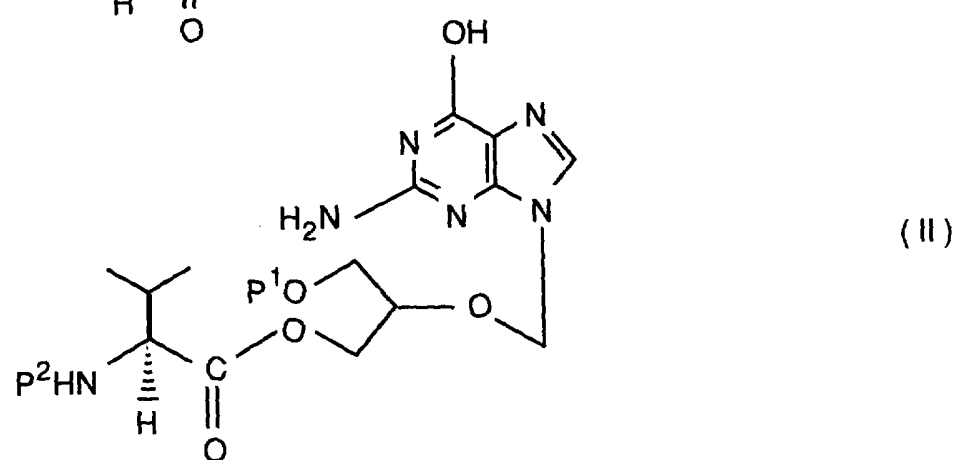
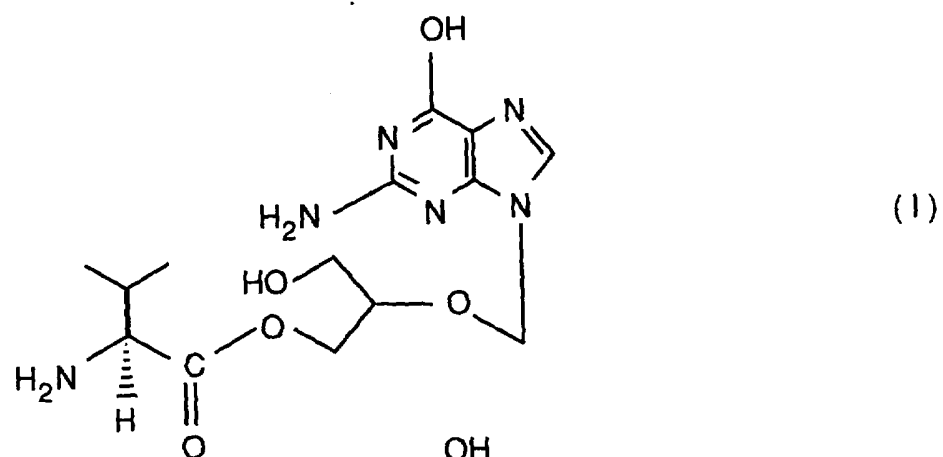
15 16. Az 1–8. igénypontok bármelyike szerinti vegyület, vírusellenes gyógyszerként a vírusos fertőzésekkel összefüggő betegségek kezelésére szolgáló gyógyszerként.

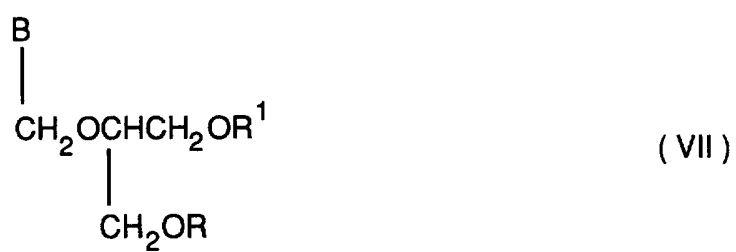
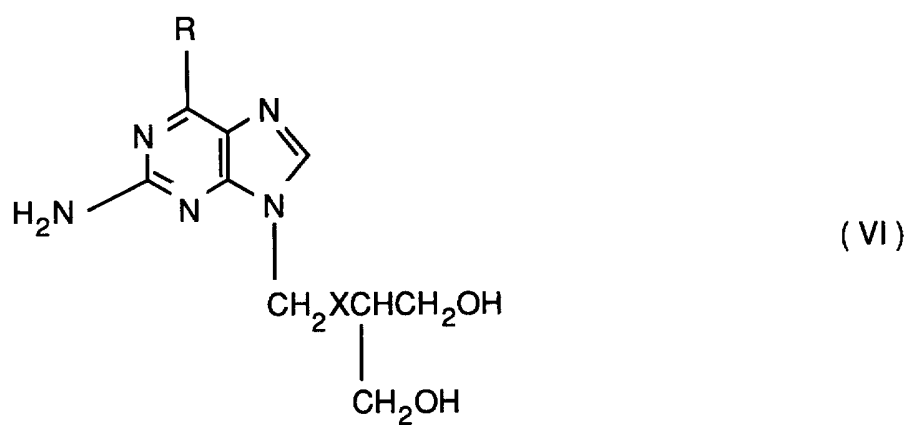
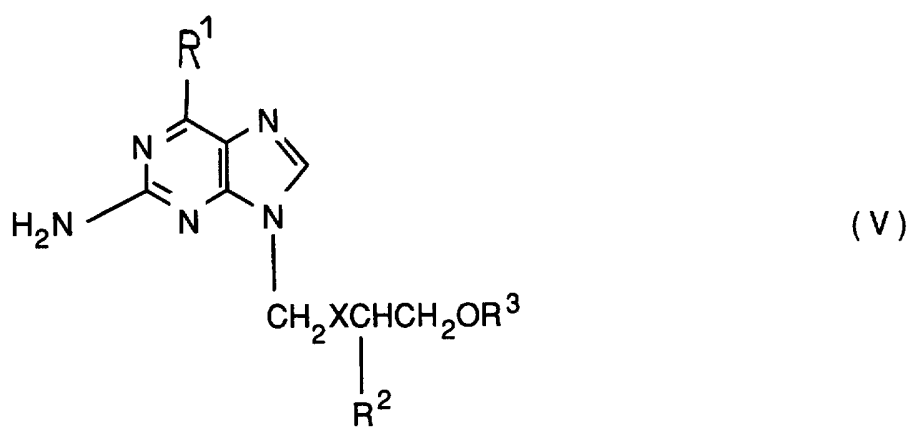
17. A 11. igénypont szerinti vegyületek felhasználása az 1–8. igénypontok szerinti vegyület előállítására.

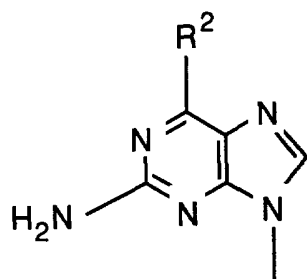
20 18. Az 1–8. igénypontok bármelyike szerinti vegyület felhasználása gyógyászati készítmények előállítására.

19. Az 1–8. igénypontok bármelyike szerinti vegyületek felhasználása vírusos betegségek és ezekkel összefüggő betegségek kezelésére szolgáló gyógyászati készítmények előállítására.

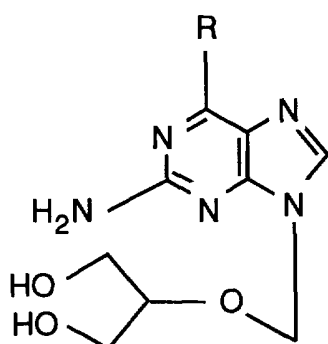
25



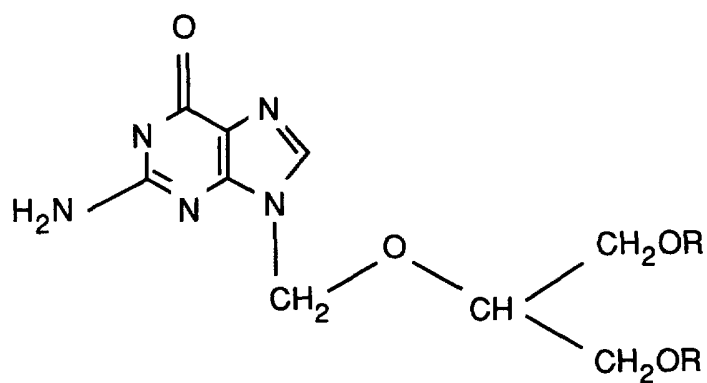




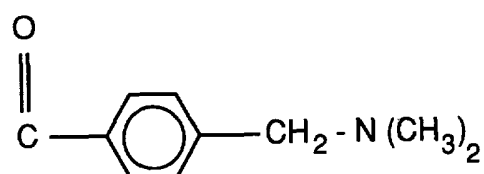
(IX)



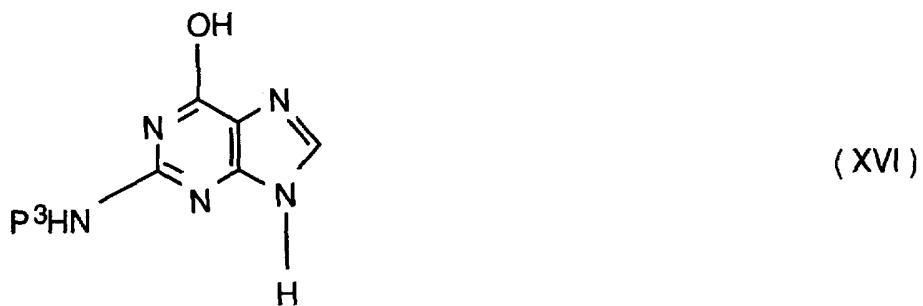
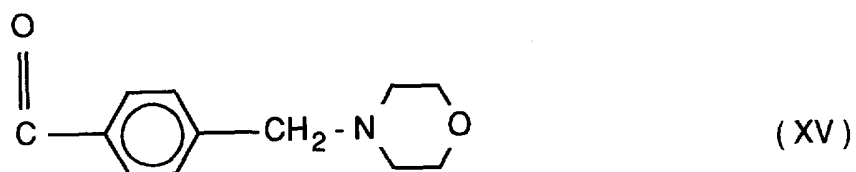
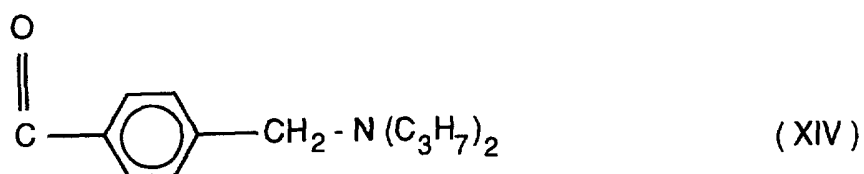
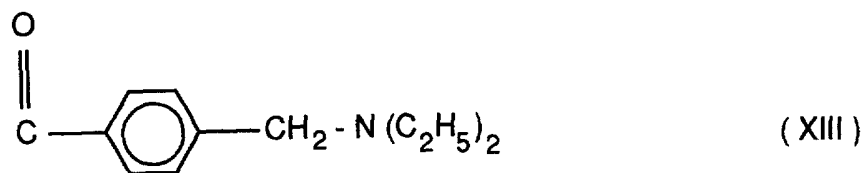
(X)



(XI)



(XII)



1. reakcióséma

