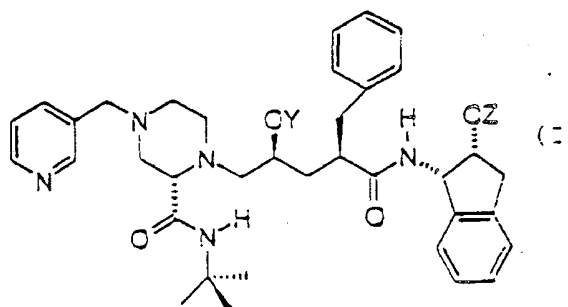




č.j.	U 48985
DOŠLO	04. VII. 96
URAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ	PŘÍL. I

Prekursory inhibitoru HIV proteázy a farmaceutické prostředky s jejich obsahem

Oblast techniky

Vynález se týká prekursorů inhibitoru HIV proteázy, sloučeniny L-735 524 a farmaceutických prostředků, které tyto prekursory obsahují.

Dosavadní stav techniky

Retrovirus, označovaný jako virus lidské imunodeficiency, HIV, je původcem komplexního onemocnění, při němž dochází k postupné destrukci imunitního systému a k degeneraci centrálního i periferního nervového systému. Toto komplexní onemocnění se označuje jako syndrom získané deficity imunitního systému, AIDS. Uvedený virus byl dříve označován také LAV, HTLV-III nebo ARV. Společnou vlastností replikace retrovirů je velké posttranslační zpracování prekurzorových polyproteinů proteázou, pro niž je kódem virus za vzniku úplných bílkovin viru, nezbytných pro funkci viru. V případě, že dojde k inhibici posttranslačního zpracování, nemůže dojít k produkci normálního infekčního viru. Například v publikaci Kohl N. E. a další, Proc. Natl. Acad. Sci., 85, 4686, 1988 se prokazuje, že genetická inaktivace proteázy, pro niž je kódem HIV, má za následek produkci nezralých, neinfekčních částic viru. Tyto výsledky prokazují, že inhibice HIV-proteázy by mohla být užitečným způsobem léčení AIDS a také prevence a léčení infekce HIV.

Při analýze sekvence HIV je možno prokázat přítomnost genu pol v jednom z otevřených čtecích rámců podle publikace Ratner L. a další, Nature, 313, 277, 1985. Homologie řetězce aminokyselin prokazuje, že gen pol je kódem pro reversní transkriptázu, endonukleázu a HIV-proteázu podle publikací Toh H.

a další, EMBO J., 4, 1267, 1985, Power M. D. a další, Science, 231, 1567, 1986, Pearl L. H. a další, Nature, 329, 351, 1987.

Sloučenina L-735 524 je účinným inhibitorem HIV-proteázy a je možno ji použít k léčení AIDS nebo ARC bez podstatných vedlejších účinků nebo toxicity.

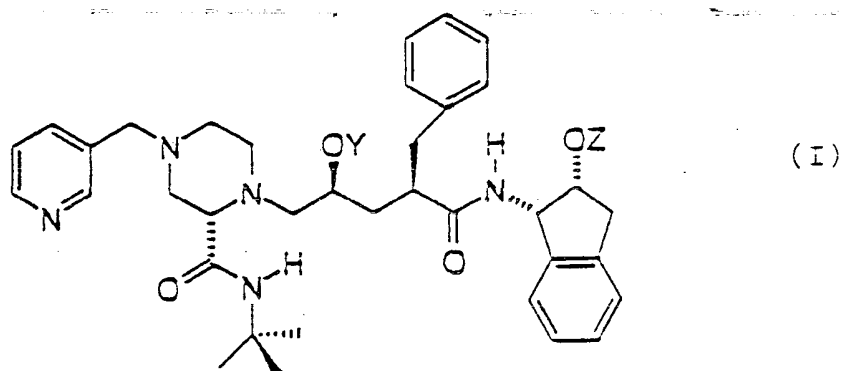
Nyní byly zjištěny prekursory uvedené látky typu esterů. Tyto prekursory mají tu výhodu, že se lépe vstřebávají ze střeva, mají delší účinnost při perorálním podání a snáze se dostávají do místa působení.

L-735 524 se několik prvních hodin po perorálním podání obtížně vstřebává. Vzhledem ke krátkému biologickému poločasu by podání ve formě se zpomaleným uvolněním mohlo snížit frekvenci dávek. Avšak velmi nízká rozpustnost volné látky ve vodě a velmi nízká hodnota pK_a , přibližně 3,7 až 5,9 vede k nedostatečné rozpustnosti v ileu, jejunu a v tlustém střevě, kde je pH obvykle vyšší než 6,0. V případě přípravy rozpustnějších prekursorů, které by si zachovaly tuto rozpustnost také ve střevech a měnily by se na vlastní účinnou látku ve střevě nebo až po vstřebání, by bylo možno překonat obtíže, spojené s přípravou lékových forem s řízeným uvolněním účinné látky.

Vynález navrhuje prekursory, vhodné pro použití při inhibici HIV proteázy, k prevenci a léčení infekce HIV a léčení AIDS a/nebo ARC ve formě vlastních prekursorů, farmaceuticky přijatelných solí, s výhodou ve formě farmaceutických prostředků, popřípadě v kombinaci s dalšími protivirovými nebo protiinfekčními látkami, imunomodulátory, antibiotiky nebo vakcínami.

Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří prekursory inhibitoru HIV-proteázy obecného vzorce I



nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli, v nichž

Y a Z, které neznamenaají současně atomy vodíku, nezávisle znamenaají

a) H,

b) $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}(\text{CR}^1\text{R}^2)_n\text{--COOR}^3$,

c) $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}(\text{CR}^1\text{R}^2)_n\text{R}^4$, za předpokladu, že Z má odlišný význam od skupiny $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{--alkyl--NH}_2$ s alkylovou částí o 1 až 4 atomech uhlíku nebo

d) $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{--}\text{C}_6\text{H}_4\text{--}(\text{CR}^1\text{R}^2)_n\text{R}^4$;

n = 0 až 16,

R^1 a R^2 nezávisle znamenaají atom vodíku, hydroxyskupinu, aminoskupinu, fenyl, heterocyklický zbytek nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, popřípadě substituovaný

hydroxyskupinou, karboxyskupinou, aminoskupinou, arylovou skupinou, ketoskupinou nebo heterocyklickou skupinou,

R^3 znamená atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, popřípadě substituovaný arylovou skupinou, aminoskupinou, karboxyskupinou, ketoskupinou,

$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{O}-\text{C}-\end{array}$ alkylovou nebo $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{O}-\text{C}-\text{O}-\end{array}$ alkylovou skupinou vždy o 1 až 2 atomech uhlíku v alkylové části,

R^4 znamená atom vodíku, $-\text{NR}^1\text{R}^2$ nebo heterocyklickou skupinu.

Výhodnými solemi jsou soli sodné, draselné, hydrochloridy nebo sulfáty, přičemž nejméně jedna ze skupin ve významu Y nebo Z tvoří ester s kyselinou jantarovou, glutarovou nebo adipovou.

Inhibitor HIV-proteázy, L-735 524 je možno připravit podle EP 541 168 (Merck Case 18597Y, zveřejnění 12. května 1993). L-735 524 je N-(2(R)-hydroxy-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4-(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.-butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamid a jeho farmaceuticky přijatelné soli. Podobná syntéza je uvedena také v evropském patentovém spisu č. 337 714.

Prekursory podle vynálezu je také možno kombinovat s inhibitory P450 cytochromu, například s ketoconazolem nebo cimetidinem. Tyto inhibitory mohou prodloužit účinnost precursoru inhibicí jeho metabolické oxidace.

Ketoconazol je cis-1-acetyl-4-/4-//2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1H-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl/methoxy/fenyl/-piperazin nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli. Tyto látky je možno připravit podle US 4 144 346 nebo US 4 223 036.

Cimetidin je N-kyano-N'-methyl-N''-/2-//(5-methyl-1H-imidazol-4-yl)methyl/thio/ethyl/guanidin nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli. Tyto látky je možno připravit podle US 3 950 333.

Sloučeniny podle vynálezu mohou obsahovat středy asymetrie nebo chiralitu a mohou se tedy vyskytovat jako race-máty, racemické směsi a jako jednotlivé diastereomery nebo enantiomery, přičemž vynález zahrnuje všechny uvedené isomerní formy.

V případě, že se jakákoliv skupina, například heterocyklická skupina, R^1 nebo R^2 a podobně vyskytuje v molekule více než jednou, je každý další výskyt nezávislý na výskytu předchozím. Kombinace substituentů jsou přípustné pouze v takových případech, kdy při použití kombinace vzniká stálá sloučenina.

Alkylové skupiny mohou mít rozvětvený nebo přímý řetězec s uvedeným počtem uhlíkových atomů, přičemž Me je methyl, Et je ethyl, Pr je propyl a Bu je butyl, alkoxy skupina je alkylová skupina s uvedeným počtem uhlíkových atomů, vázaná přes kyslíkový můstek.

V případě, že není výslovně uvedeno jinak, je arylovou skupinou fenyl (Ph) nebo naftyl.

Heterocyklickou skupinou může být stálý 5- až 7-členný monocyklický heterocyklický kruh, který je nasycený a obsahuje uhlíkové atomy a 1 až 3 heteroatomy ze skupiny dusík, kyslík nebo síra. V případě své přítomnosti musí být heterocyklický kruh vázán přes atom dusíku. Jako příklad heterocyklických skupin je možno uvést 4-morfolinyl, 1-piperazinyl, 1-piperidinyl, 1-pyrrolidinyl nebo 4-thiomorfolinyl.

Farmaceuticky přijatelné soli (ve formě ve vodě nebo v oleji rozpustných nebo dispergovatelných produktů) zahrnují běžné netoxické soli nebo kvarterní amoniové soli, může jít o soli s anorganickými nebo organickými kyselinami nebo bazemi. Jako příklad adičních solí s kyselinami je možno uvést acetát, adipát, alginát, aspartát, benzoát, benzensulfonát, hydrogensulfát, butyrát, citrát, sůl kyseliny kafrové, kafrosulfonát, cyklopentanpropionát, diglukonát, dodecylsulfát, ethansulfonát, fumarát, glukheptanoát, glycerofosfát, heptanoát, hexanoát, hydrochlorid, hydrobromid, hydrojodid, 2-hydroxyethansulfonát, laktát, maleát, methansulfonát, 2-naftalensulfonát, nikotinát, oxalát, pamoát, pektinát, persulfát, 3-fenylpropionát, fosfát, pyrofosfát, pivalát, propionát, sukcinát, tartrát, thiokyanát, tosylát a undekanoát. Soli s bazemi zahrnují amonné soli, soli s alkalickými kovy, například soli sodné a draselné, soli s kovy alkalických zemin, jako soli vápenaté a hořečnaté, soli s organickými bazemi, například s dicyklohexylaminem nebo N-methyl-D-glukaminem a soli s aminokyselinami, například argininem, lysinem a podobně. Bazické skupiny s obsahem dusíku mohou být také kvarternizovány příslušnými činidly, například nižšími alkylhalogenidy, jako jsou methyl-, ethyl-, propyl- a butylchlorid, -bromid a -jodid, dále dialkylsulfáty, jako dimethyl-, diethyl-, dibutyl- a diamylsulfáty, halogenidy s dlouhým řetězcem, jako decyl-, lauryl-, myristyl- a stearylchloridy, -bromidy a -jodidy, aralkylhalogenidy, jako benzylbromid a fenethylbromid a podobně. Dalšími farmaceuticky přijatelnými solemi jsou ethanolát sulfátu a sulfát.

Esterifikaci alkoholů, například L-735 524 je možno uskutečnit řadou běžných postupů, například reakcí alkoholové skupiny s příslušným anhydridem, karboxylovou kyselinou nebo chloridem kyseliny. Tyto reakce, stejně jako jiné postupy pro esterifikaci alkoholů jsou v oboru dobře známy.

Reakci alkoholu s příslušným anhydridem, tak jak bude uvedena v příkladu 1, je možno uskutečnit v přítomnosti katalyzátoru acylace, například 4-DMAP (4-dimethylaminopyridin, uváděný také jako N,N-dimethylaminopyridin) nebo pyridinu nebo 1,8-bis-(dimethylamino)naftalenu. Výhodným katalyzátorem pro acylaci je 4-DMAP.

Reakci alkoholu s příslušnou karboxylovou kyselinou, tak jak je uvedena v následujícím příkladu 2, je možno uskutečnit v přítomnosti dehydratačního činidla a popřípadě katalyzátoru acylace. Dehydratační činidlo, které slouží k urychlení reakce odstraněním vody, je možno volit ze skupiny dicyklohexylkarbodiimid, DDC, 1-/3-dimethylaminopropyl/-3-ethylkarbodiimid, EDC, a z dalších ve vodě rozpustných dehydratačních činidel. Výhodným dehydratačním činidlem je DDC.

Reakcí alkoholu s příslušnou karboxylovou kyselinou může rovněž dojít k esterifikaci v případě, že se reakce provádí v přítomnosti anhydridu kyseliny trifluoroctové a popřípadě v přítomnosti pyridinu. Další možnou variantou je reakce alkoholu s příslušnou karboxylovou kyselinou v přítomnosti N,N-karbonyldiimidazolu bez pyridinu.

Reakci alkoholu s chloridem kyseliny je možno uskutečnit v přítomnosti katalyzátoru acylace, například 4-DMAP nebo pyridinu.

Selektivní esterifikaci je možno uskutečnit celou řadou postupů. Výhodný postup je uveden v příkladech 2 a 3, postupuje se tak, že se nejprve alkohol esterifikuje trichlorethylovým derivátem a po chromatografické izolaci výhodného esteru se uskuteční reduktivní odštěpení trichlorethylové skupiny reakcí s práškovým zinkem v kyselině octové. Dalším postupem pro selektivní esterifikaci je hydrolýza bis-esteru.

Sloučeniny podle vynálezu je možno použít k inhibici HIV-proteázy, k prevenci nebo léčení infekce virem lidské imunodeficiency HIV a k léčení následných patologických stavů, například syndromu AIDS. Pod léčením AIDS se rozumí také léčení široké škály různých stadií infekce virem HIV, jako AIDS, ARC (komplex, spojený s AIDS), s příznaky i bez příznaků a také skutečná nebo potenciální expozice viru HIV. Je například možno sloučeniny podle vynálezu použít při podezření na expozici viru HIV, která již v minulosti proběhla, například při krevní transfuzi, výměně tělních tekutin, po pokoušení, po náhodném poranění injekční jehlou nebo při styku s krví nemocného v průběhu chirurgického zákroku.

K uvedeným účelům je možno sloučeniny podle vynálezu podávat perorálně, parenterálně, včetně injekcí podkožních, nitrožilních, nitrosvalových nebo intrasternálních nebo také infuzí, dále inhalací nebo rektálně, lékové formy obsahují kromě účinné látky netoxické, farmaceuticky přijatelné nosiče, pomocné látky a nosná prostředí.

Podstatu vynálezu tedy tvoří také farmaceutické prostředky s obsahem uvedených prekursorů, určené pro léčení infekce HIV a syndromu AIDS. V případě léčení těchto stavů se podává farmaceutický prostředek, který kromě farmaceutického nosiče obsahuje účinné množství některého z prekursorů podle vynálezu.

Uvedené farmaceutické prostředky mohou mít formu suspenzí nebo tablet pro perorální podání, sprejů pro podání do nosu, sterilních prostředků pro injekční podání, například suspenzí ve vodě nebo v oleji, nebo mohou farmaceutické prostředky mít formu čípků.

V případě perorálního podání ve formě suspenze se tyto prostředky připravují známým způsobem pro výrobu prostředků

tohoto typu. Prostředek může obsahovat mikrokryсталickou celulosu, která může prostředek zahustit, kyselinu alginovou nebo alginát sodný jako suspenzní činidla, methylcelulosu pro zvýšení viskosity a známá sladidla nebo látky pro úpravu chuti. V případě tablet pro okamžité uvolnění účinné látky mohou tyto tablety obsahovat mikrokryсталickou celulosu, hydrogenfosforečnan vápenatý, škrob, stearan hořečnatý a laktosu a/nebo další pomocné látky, pojiva, zahušťovadla, desintegrační látky, ředidla a kluzné látky, tak jak se běžně užívají.

Při podávání ve formě aerosolu do nosu nebo inhalací je možno příslušné prostředky rovněž připravit známým způsobem, například ve formě roztoků ve fyziologickém roztoku chloridu sodného a při použití benzylalkoholu nebo jiných vhodných konzervačních látek, látek pro zvýšení vstřebávání pro lepší biologickou dostupnost, dále mohou tyto prostředky obsahovat fluorované uhlovodíky a/nebo další známá solubilizační nebo dispergační činidla.

Roztoky nebo suspenze pro injekční podání je rovněž možno připravit známým způsobem při použití vhodných netoxických, pro parenterální podání vhodných ředidel nebo rozpouštědel, jako jsou mannitol, 1,3-butandiol, voda, Ringerův roztok nebo isotonický roztok chloridu sodného, tyto prostředky mohou také obsahovat dispergační činidla, smáčedla nebo suspenzní činidla, například fixované sterilní oleje včetně syntetických mono- nebo diglyceridů a mastné kyseliny včetně kyseliny olejové.

V případě rektálního podání ve formě čípků je možno tyto prostředky připravit smísením účinné látky s nedráždivým základem pro výrobu čípků, jako jsou kakaové máslo, syntetické glyceridy nebo polyethylenglykoly, které jsou tuhé při běžné teplotě, avšak zkapalní v konečníku a tak uvolní účinnou látku.

Sloučeniny podle vynálezu je možno podávat v dávkách, které jsou pro každou sloučeninu specifické. L-735 524 a jeho farmaceuticky přijatelné soli se podávají perorálně v dávkách 40 až 4000 mg denně, rozděleně ve formě 1 až 4 denních dávek. Ketoconazol nebo jeho farmaceuticky přijatelné soli se podávají perorálně v rozmezí dávek přibližně 200 mg každý druhý den až 500 mg dvakrát denně. Cimetidin a jeho farmaceuticky přijatelné soli se podávají perorálně nebo nitrožilně, dávky se pohybují v rozmezí 100 mg až 4800 mg denně, podávají se 1 až 4 dávky denně. Je však zřejmé, že množství podané látky a frekvence dávek se mohou měnit u každého nemocného v závislosti na různých faktorech, například na účinnosti podávané sloučeniny, na její metabolické stálosti a délce jejího působení, na věku a hmotnosti nemocného, jeho celkovém zdravotním stavu, pohlaví, výživě, na způsobu a frekvenci podání, na rychlosti vylučování, na kombinaci použitých látek a také na závažnosti léčeného onemocnění.

Praktické provedení vynálezu bude osvětleno následujícími příklady.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

N-/2-(R)-sukcinoyloxy-1(S)-indanyl-5-//2(S)-terc.butylamino-karbonyl/-4-(3-pyridylmethyl)piperazino/-4(S)-sukcinoyloxy-2(R)-fenylmethylpantanamid, (L-735 524-bissukcinát, L-751368)

Roztok 1,5 g monohydrátu L-735 524 a 2,5 g anhydridu kyseliny jantarové v 10 ml pyridinu se míchá 24 hodin při teplotě místnosti. Pak se pyridin odpaří na rotačním odpařovači a odparek se rozpustí ve směsi 30 ml vody a 150 ml chloroformu. Vodná vrstva se odstraní a organická vrstva se promyje vodou.

Pak se chloroformový roztok vysuší síranem sodným a odpaří. Odparek se suší přes noc ve vakuu, čímž se získá 2,45 g pyridiniové soli ve formě pěny. Tato sůl se rozpustí ve 25 ml kyseliny octové, přebytek kyseliny octové se odpaří na rotačním odpařovači. Odparek se suší ve vakuu, čímž se získá sklovitá pevná látka, která se rozpustí v 5 ml ethanolu a roztok se zchladí na ledové lázni. Pak se přidá 50 ml ledově chladné vody k ethanolovému roztoku po malých podílech a za energického míchání. Vytvoří se bílá sraženina, která se pomocí magnetického míchadla rozmíchá na jemnou suspenzi. Pak se sraženina odfiltruje, promyje se vodou a suší ve vakuu, čímž se získá 1,7 g výsledného produktu ve formě bílého prášku. Tento produkt byl homogenní při TLC i HPLC.

Příklad 2

~~N-/2(R)-trichlorethoxysukcinoyloxy-1(S)-indanyl-5-//2(S)-
-terc.butylaminokarbonyl/-4-(3-pyridylmethyl)piperazino/-
-4(S)-hydroxy-2(R)-fenylmethylpentanamid-(L-735 524 tri-
chlorethylsukeinát)~~

2,35 g monohydrátu L-735 524, 1,1 g monotrichlorethyl-
sukcinátu, 0,49 g 4-dimethylaminopyridinu a 0,9 g dicyklohexylkarbodiimidu se rozpustí v 50 ml chloroformu a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se pak zchladí v ledové drti a vysrážená dicyklohexylmočovina se odfiltruje. Filtrát se okyselí přidáním 0,3 ml kyseliny octové a pak se dvakrát promyje vodou a jednou nasyceným roztokem chloridu sodného. Chloroformový roztok se odpaří, čímž se získá 4,14 g bílé pěny, tvořené směsí dvou isomerních monoesterů, diesterů, nezreagovaného výchozího materiálu a malého množství dicyklohexylmočoviny. Tato směs se rozdělí na čtyři podíly a čistí preparativní TLC na silikagelových deskách při použití směsi methanolu a chloroformu v poměru 8 : 92

jako vyvíjecího rozpouštědla. Frakce, obohacená o požadovaný monoester se spojí a znovu chromatografují při použití směsi methanolu a chloroformu v poměru 3 : 97, čímž se získá 1,85g čistého trichlorethylmonosukcinátu.

Příklad 3

N-/(R)-sukcinoyloxy-1(S)-indanyl-5-//2(S)-terc.butylamino-karbonyl/-4-(3-pyridylmethyl)piperazino/-4(S)-hydroxy-2(R)-fenylnmethylpentanamid (L-735 524 monosukcinát, L-755 550)

1,8 g trichlorethylesteru z příkladu 2 se rozpustí v 50 ml kyseliny octové a přidají se 3 g práškového zinku. Směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti, pak se přidá 1,5 g práškového zinku a směs se míchá ještě 3 hodiny. Pak se reakční směs zfiltruje a filtrát se odpaří. Odparek se rozpustí ve 100 ml chloroformu, roztok se promyje 2 x 50 ml vody a pak ještě nasyceným roztokem chloridu sodného. Pak se chloroformový roztok odpaří, čímž se získá 1,34 g pěnovité pevné látky, která se čistí preparativní TLC na silikagelu při použití směsi methanolu a chloroformu 15 : 85, čímž se získá čistý monoester. Tato látka se rozpustí v chloroformu a zfiltruje se přes krátký sloupec celitu v Pasteurově pipetě. Odpařením chloroformu se získá 1,23 g čistého monoesteru ve formě bílého prášku.

Příklad 4

Užití bissukcinátu k léčebným účelům

V případě podávání HIV-seronegativním osobám byla sloučenina z příkladu 1 podávána v celkové denní dávce 500 až 1500 mg. Protivirová účinnost se měří před počátkem lé-

čení a v průběhu léčení měření koncentrace p24 antigenu HIV v séru, koncentrace RNA pro HIV v séru a počítáním CD4-lymfocytů.

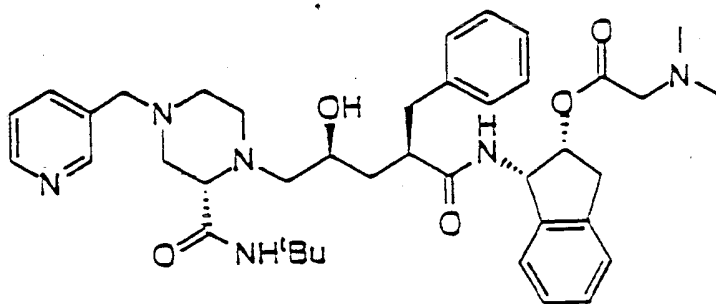
Příklad 5

Použití monosukcinátu k léčebným účelům

V tomto případě byl podáván produkt z příkladu 3 HIV-seronegativním osobám v celkové denní dávce 500 až 1500 mg. Protivirová účinnost se měří před začátkem léčení a v průběhu léčení měřením koncentrace p24 antigenu HIV a koncentrace RNA pro HIV v séru a také stanovením počtu CD4-lymfocytů.

Příklad 6

Příprava N-(2(R)-((dimethylaminoacetoxy)-1(S)-indanyl)-2(R)-
-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-
-(terc.butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamidu



K roztoku 700 mg, 1,109 mmol N-(2(R)-hydroxy-1(S)-
-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridyl-
methyl)-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperazinyl))pentan-

amidu ve 4 ml methylenchloridu se přidá 137 mg, 1,331 mmol N,N-dimethylglycinu, 274 mg, 1,331 mmol 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu a katalytické množství 13 mg, 0,11 mmol N,N-dimethylaminopyridinu. Po 18 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs zfiltruje a odpaří na bílou pěnu. Odparek se čistí chromatografií na sloupci s rozměrem 40 x 150 mm při gradientové eluci směsí methylenchloridu, chloroformu, nasyceného amoniaku a methanolu v poměru 60 : 39,5 : 0,5 (1000 ml), dále 1000 ml téže směsi v poměru 60 : 39 : 1 % a nakonec 1000 ml téže směsi v poměru 60 : 38,5 : 1,5 %. Tímto způsobem se získá 310 mg bílé pěny, která se rozetře se směsí ethylacetátu a hexanu v poměru 20 : 80, čímž se získá 215 mg bílé pevné látky s teplotou tání 78 až 82 °C.

Analýza pro $C_{40}H_{34}N_6O_5 \cdot 0,8 \text{ mol } H_2O$

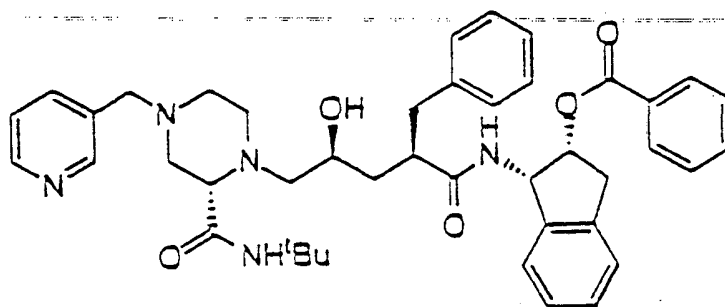
vypočteno C 67,35, H 7,86, N 11,78 %

nalezeno C 67,37, H 7,67, N 11,49 %.

Příklad 7

Způsobem podle příkladu 6 je možno připravit také následující sloučeniny

- A. N-(2(R)-(benzyloxy)-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamid



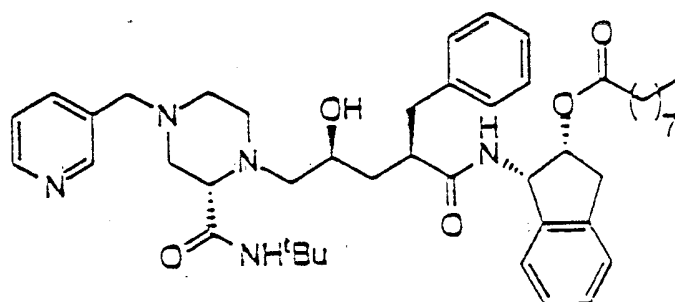
Teplota tání 154 až 161 °C.

Analýza pro $C_{43}H_{51}N_5O_5$

vypočteno C 71,94, H 7,16, N 9,76 %

nalezeno C 71,93, H 7,19, N 9,76 %.

B. N-(2(R)-(nonoxyloxy)-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-
-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-
-(terc.butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamid



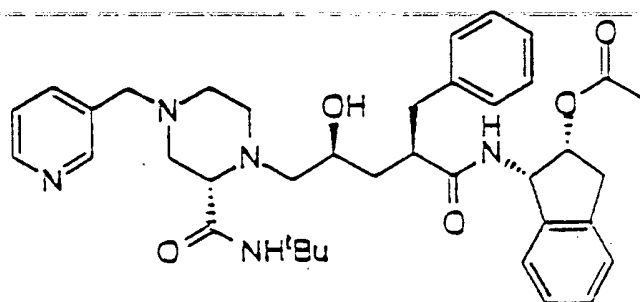
Teplota tání: 62 až 68 °C.

Analýza pro $C_{45}H_{63}N_5O_5$ 0,8 mol v H_2O

vypočteno C 70,34, H 8,47, N 9,11 %

nalezeno C 70,32, H 8,30, N 9,06 %.

C. N-(2(R)-(acetoxy)-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-
-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.-
butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamid



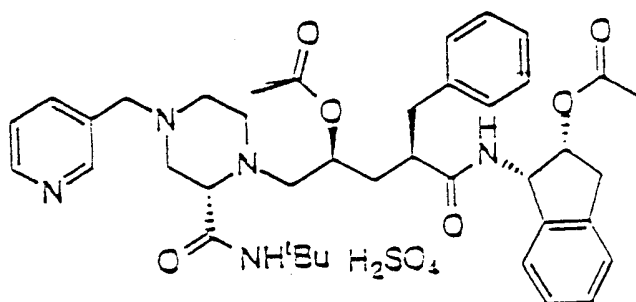
Teplota tání: 90 až 94 °C.

Analýza pro $C_{38}H_{49}N_5O_5$ 0,4 mol v CH_2Cl_2

vypočteno C 66,86, H 7,28, N 10,15 %

nalezeno C 66,77, H 7,19, N 10,44 %.

D. N-(2(R)-(acetoxy)-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-
-(acetoxy)-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.-
butylkarboxamido)piperaziny))pentanamid



Při výrobě tohoto bisacetátu je zapotřebí použít 2,5 ekvivalentu všech reakčních složek. Po chromatografii se získá olej, který se zpracovává působením jednoho ekvivalentu kyseliny sírové v ethylacetátu. Vzniklý roztok se odpaří na bílou pěnu, která se suší 18 hodin při teplotě 55 °C ve vysokém vakuu, čímž se získá produkt s teplotou tání 133 až 138 °C.

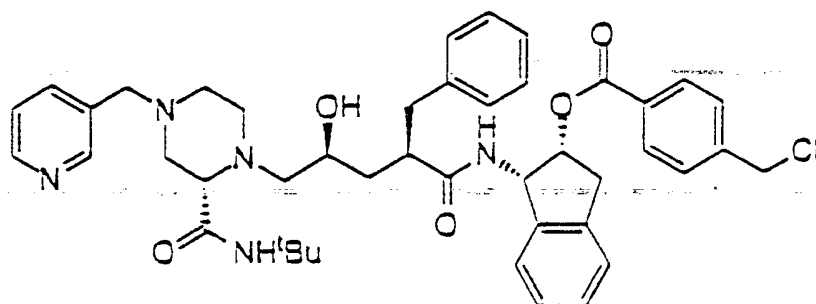
Analýza pro $C_{40}H_{51}N_5O_6$. 1,35 mol v H_2SO_4

vypočteno C 58,21, H 6,55, N 8,48 %

nalezeno C 58,12, H 6,65, N 8,20 %.

Příklad 8

Příprava N-(2(R)-((4-chlormethylbenzoyl)oxy)-1(S)-indanyl)-
-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-
-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperaziny))pentanamid



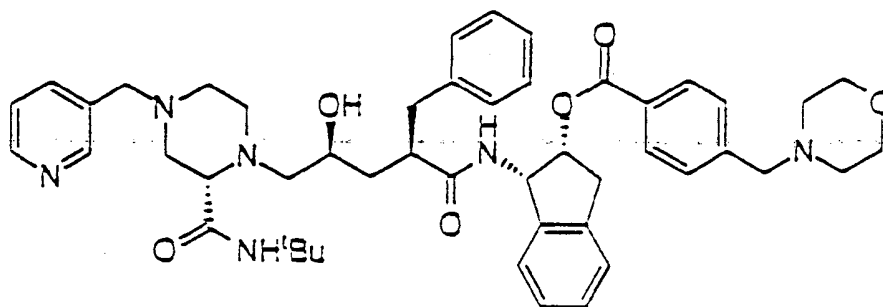
K roztoku 2,0 g, 3,16 mmol N-(2(R)-hydroxy-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamidu ve 20 ml methylenchloridu se přidá 648 mg, 3,803 mmol kyseliny 4-chlormethylbenzové, 784 mg, 3,803 mmol 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu a katalytické množství 38 mg, 0,317 mmol N,N-dimethylaminopyridinu. Po 24 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs zfiltruje a odpaří na bílou pěnu. Odparek se čistí chromatografií na sloupci s rozměrem 50 x 150 ml, užije se gradientová eluce nejprve 1000 ml směsi methylenchloridu, chloroformu nasyceného amoniakem a methanolu v poměru 60 : 39,5 : 0,0, pak 1000 ml téže směsi 60 : 39 : 1, 1000 ml téže směsi 60 : 38,5 : 1,5, 1000 ml téže směsi 60 : 38 : 2, 1000 ml téže směsi 60 : 37 : 3 a nakonec 1000 ml téže směsi 60 : 35 : 5. Získá se 1,46 g produktu ve formě bílé pěny. TLC ($\text{CH}_2\text{CH}_2:\text{CHCl}_3$, nasycený $\text{NH}_3:\text{MeOH}$ 60 : 35 : 5, $R_f = 0,26$).

^1H -NMR:

(400 MHz, CDCl_3) δ 8.59-8.56 (m, 2H), 7.83-7.78 (m, 3H), 7.60 (m, 1H), 7.40 (d, $J = 12$ Hz, 2H), 7.29-7.09 (m, 5H), 7.05-6.85 (m, 5H), 6.31 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 5.75 (dd, $J = 8.2$ a 4.9 Hz, 1H), 5.50 (dd, $J = 4.7$ a 4.03 Hz, 1H), 4.60 (s, 2H), 4.12 (br s, 1H), 3.89-3.83 (m, 1H), 3.51 (s, 2H), 3.29 (dd, $J = 17.5$ a 4.0 Hz, 1H), 3.19-3.16 (m, 1H), 3.08 (d, $J = 17.5$ Hz, 1H), 2.95-2.91 (m, 1H), 2.83-2.45 (m, 8H), 2.38-2.29 (m, 1H), 1.90-1.81 (m, 1H), 1.62 (br s, 1H), 1.57-1.48 (m, 1H), 1.38 (s, 9H).

Příklad 9

Příprava N-(2(R)-((4-morfolinomethylbenzoyl)oxy)-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamidu



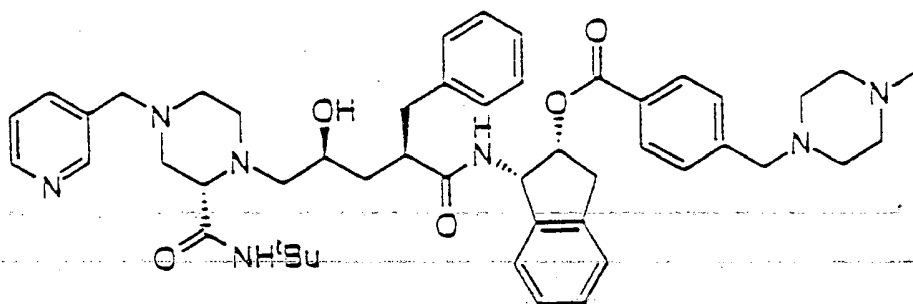
K roztoku 425 mg, 0,55 mmol N-(2(R)-((4-chlormethylbenzoyl)oxy)-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperazinyl))pentanamidu v 1 ml bezvodého DMF se přidá 0,242 ml, 2,77 mmol morfolinu. Po 48 hodinách se roztok zředí 80 ml ethylacetátu a promyje se 4 x 10 ml vody a 1 x 10 ml nasyceného vodného roztoku chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltruje a odpaří na bílou pevnou látku. Tento materiál se čistí rychlou chromatografií na sloupci s rozměrem 4 x 150 mm, k eluci se užije gradient 1000 ml směsi methylenchloridu, chloroformu, nasyceného amoniakem a methanolu v poměru 60 : 39,5 : 0,0, pak 1000 ml téže směsi 60 : 39 : 1, 1000 ml téže směsi 60 : 38,5 : 1,5, 1000 ml směsi poměru 60 : 38 : 2, 1000 ml směsi 60 : 37 : 3 a nakonec 1000 ml směsi 60 : 36 : 4. Získá se 404 mg čirého oleje, jehož krystalizací z ethylacetátu se získá 350 mg bílé pevné látky s teplotou tání 110 až 120 °C.

Analýza pro $C_{48}H_{60}N_6O_6 \cdot 0,35 \text{ mol } H_2O$
vypočteno C 70,02, H 7,43, N 10,21 %
nalezeno C 70,04, H 7,34, N 10,13 %.

Příklad 10

Způsobem podle příkladu 9 je možno připravit také následující sloučeniny:

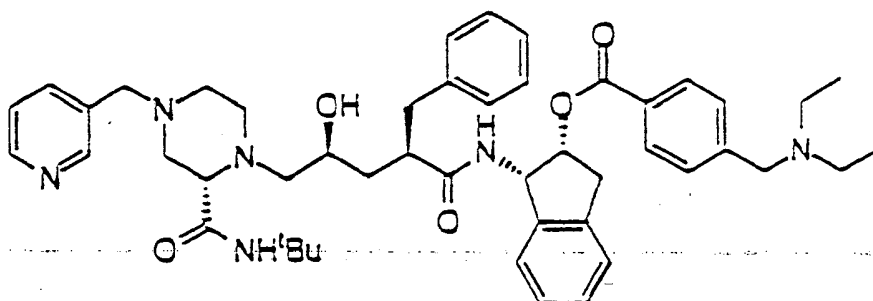
- A. N-(2(R)-4-((4'-methylpiperazin)methylbenzoyl)oxy-1(S)-indanyl)-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridylmethyl)-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperaziny))pentanamid



Teplota tání produktu je 88 - 94 °C.

Analýza pro $C_{49}H_{62}N_7O_5 \cdot 1,0 \text{ mol } H_2O$
vypočteno C 69,48, H 7,62, N 11,57 %
nalezeno C 69,33, H 7,44, N 11,35 %.

B. N-(2(R)-4-(N,N-diethylmethylbenzoyl)oxy-1(S)-indanyl)-
-2(R)-fenylmethyl-4(S)-hydroxy-5-(1-(4-(3-pyridyl-
methyl)-2(S)-N'-(terc.butylkarboxamido)piperaziny)))-
pentanamid



Teplota tání produktu je 135 až 145 °C.

Analýza pro $C_{48}H_{62}N_6O_5 \cdot 0,4 \text{ mol } H_2O$

vypočteno C 71,15, H 7,81, N 10,37 %

nalezeno C 71,11, H 7,57, N 10,77 %.

Vynález byl popsán v příkladové části na řadě výhod-
ných provedení, je však zcela zřejmé, že by bylo možno na-
vrhnout celou řadu zcela běžných variací, adaptací nebo mo-
difikací, které by rovněž spadaly do rozsahu vynálezu, tak
jak je shrnut v následujících patentových nárocích.

Zastupuje:

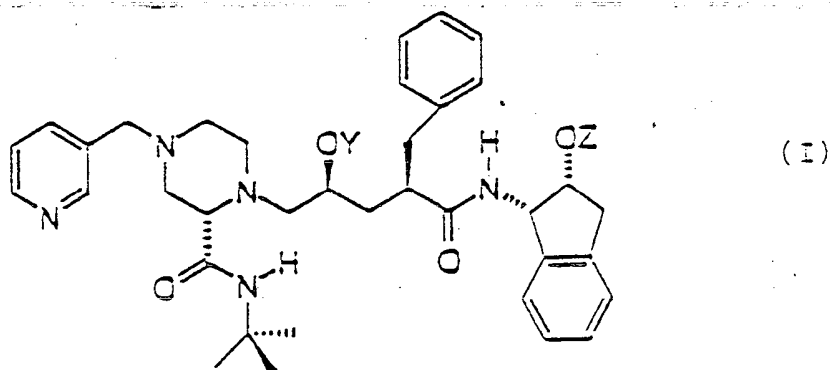
D. S. K. Hoff
Dr. ZDENKA KOPFLOVÁ

PŘÍL.	PRŮMYSLUOVÉHO VLASTNICTVÍ	URAD	č.j.
			048985
			DOŠLO
			04. VII. 96

1406-96

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Prekursory inhibitoru HIV proteázy obecného vzorce I



nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli, v nichž

Y a Z, které neznamenaají současně atomy vodíku, nezávisle
znamenaají

a) H,

b) $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}(\text{CR}^1\text{R}^2)_n\text{--COOR}^3$,

c) $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}(\text{CR}^1\text{R}^2)_n\text{R}^4$, za předpokladu, že Z má odlišný význam
od skupiny $\text{--}\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}\text{--alkyl--NH}_2$ s alkylovou částí o 1 až 4
atomech uhlíku nebo

d)

n = 0 až 16,

R¹ a R² nezávisle znamenaají atom vodíku, hydroxyskupinu,
aminoskupinu, fenyl, heterocyklický zbytek nebo alkyl
o 1 až 4 atomech uhlíku, popřípadě substituovaný

hydroxyskupinou, karboxyskupinou, aminoskupinou, arylovou skupinou, ketoskupinou nebo heterocyklickou skupinou,

R^3 znamená atom vodíku nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, popřípadě substituovaný arylovou skupinou, aminoskupinou, karboxyskupinou, ketoskupinou,

$-O-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-$ alkylovou nebo $-\overset{\overset{O}{\parallel}}{C}-O-$ alkylovou skupinou vždy o 1 až 2 atomech uhlíku v alkylové části,

R^4 znamená atom vodíku, $-NR^1R^2$ nebo heterocyklickou skupinu.

2. Prekursory podle nároku 1 v kombinaci s ketoconazolem.

3. Prekursory podle nároku 1 v kombinaci s cimetidinem.

4. Prekursory podle nároku 1 ve formě farmaceuticky přijatelné soli sodné nebo draselné, ve formě hydrochloridu nebo sulfátu, přičemž alespoň jedna ze skupin Y nebo Z tvoří ester typu sukcinátu, glutarátu nebo adipátu.

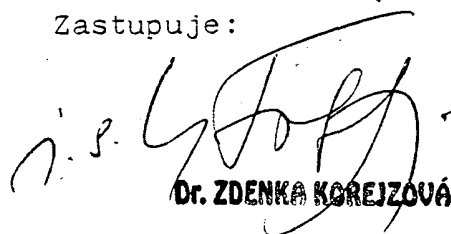
5. Způsob inhibice HIV proteázy, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se savcům podává účinné množství prekursoru podle nároku 1.

6. Způsob prevence infekce HIV nebo léčení infekce HIV nebo léčení AIDS nebo ARC, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se savcům podává účinné množství prekursoru podle nároku 1.

5. Farmaceutický prostředek pro inhibici HIV proteázy, v y z n a ě u j í c í s e t í m , že jako svou účinnou složku obsahuje účinné množství prekursoru podle nároku 1 spolu s farmaceuticky přijatelným nosičem.

6. Farmaceutický prostředek pro prevenci nebo léčení infekce HIV nebo pro léčení syndromu AIDS nebo ARC, v y - z n a ě u j í c í s e t í m , že jako svou účinnou složku obsahuje účinné množství prekursoru podle nároku 1 spolu s farmaceuticky přijatelným nosičem.

Zastupuje:


Dr. ZDENKA KOREJZOVÁ