

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

## 1708-98

(19)

ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **05. 12. 96**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **05.12.95**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **95/567199**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16. 09. 98**  
(Věstník č. 9/98)

(86) PCT číslo: **PCT/US96/19447**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/20554**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.<sup>6</sup>:

**A 61 K 31/34**  
**A 61 K 31/70**

(71) Přihlášovatel:

**VERTEX PHARMACEUTICALS**  
INCORPORATED, Cambridge, MA, US;

(72) Původce:

**Chaturvedi Pravin Ramsewak**, Quincy, MA,  
US;

(74) Zástupce:

**Hakr Eduard Ing.**, Přístavní 24, Praha 7,  
17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Inhibitory HIV-proteasy pro použití k  
léčení účinků viru na centrální nervový  
systém**

(57) Anotace:

Použití inhibitoru HIV-proteasy k výrobě  
farmaceutického prostředku k léčení vlivu,  
zejména demence spojené s AIDS, HIV na  
centrální nervový systém /CNS/.

CZ 1708-98 A3

Inhibitory HIV-proteasy pro použití k léčení účinků viru na centrální nervový systém

#### Oblast techniky

Způsoby a prostředky pro léčení HIV účinků na centrální nervový systém (CNS) zejména s AIDS spojené demence.

#### Dosavadní stav techniky

Lidský virus způsobující ztrátu imunity („HIV“) je příčinou syndromu získané ztráty imunity („AIDS“, což je choroba vyznačující se zničením imunitního systému, zejména  $CD4^+$  T-buněk, která je doprovázená choulostivostí na přízpusobivé infekce) a jeho prekurzor s AIDS spojený komplex („ARC“) je syndrom vyznačující se symptomy jako je trvalá obecná lymfadenopathie, horečka a ztráta hmotnosti.

Stejně jako u některých dalších retrovirů, kóduje HIV produkci proteasy, která provádí posttranslační štěpení prekurzorových polypeptidů v procesu nezbytném pro tvorbu infekčních virionů (S. Crawford a další, „A Deletion Mutation in the 5' Part of the pol Gene of Moloney Murin Leukemia Virus Blocks Proteolytic Processing of the gag and pol Polyproteins“, J. Virol. 53, strana 899 (1985)). Tyto genové produkty obsahují *pol*, který kóduje virion-RNA-závislou-DNA-polymerasu (reverzní transkriptasu), endonukleasu, HIV proteasu a *gag*, který kóduje proteiny jádra virionu (H. Toh a další, „Close Structural Resemblance Between Putative Polymerase of a Drosophila Transposable Genetic Element 17.6 a pol gene product of Moloney Murin Leukemia Virus“, EMBO J. 4, strana 1267 (1985); L.H. Pearl a další, „A Structural Model for the Retroviral Proteases“, Nature, 329-351 (1987); M.D. Power a další, „Nucleotid Sequence of SRV-1, a Type D Simian Acquired Immune Deficiency Syndrome Retrovirus“, Science 231, strana 1567 (1986)).



S cílem působit na různá stadia replikačního cyklu viru HIV byla vytvořena řada syntetických antivirových činidel. Tato činidla obsahují látky, které blokují vazbu viru na CD4<sup>+</sup> lymfocyty T (např. rozpustný CD4), a sloučeniny, které ruší virovou replikaci inhibicí virové reverzní transkriptasy (například didanosin a zidovudin (AZT)) a inhibují integraci virové DNA do buněčné DNA (M.S. Hirsh a R.T. D'Aquila, „Therapy for Human Immunodeficiency Virus Infection“, N. Eng. J. Med., 328, strana 1686 (1993)). Tyto látky, jejichž cílem jsou ranná stadia replikace viru, ale nebrání produkci infekčních virionů v chronicky infikovaných buňkách. Podávání některých těchto látek v účinném množství dále vedlo k buněčné toxicitě a nežádoucím vedlejším účinkům, jako je anemie a potlačení kostní dřeně.

Později se stalo cílem výzkumu antivirových léků vyrobit sloučeninu, která inhibuje tvorbu infekčních virionů rušením zpracování prekurzorů virových polyproteinů. Zpracování těchto proteinových prekurzorů vyžaduje působení virem kódovaných proteas, které jsou nezbytné pro replikaci (Kohl, N.E. a další, „Active HIV Protease is Required for Viral Infectivity“ Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, strana 4686 (1988)). Antivirový potenciál inhibice HIV proteas byl dokázán za použití peptidových inhibitorů. Tyto peptidové sloučeniny jsou ale typicky velké a složité molekuly, které mají tendenci vykazovat nízkou biologickou dostupnost a obecně nejsou vhodné pro perorální podávání. Proto existuje potřeba sloučenin, které by účinně inhibovaly působení virových proteas, pro použití jako činidel pro prevenci a léčení chronických a akutních virových infekcí.

AIDS a další choroby spojené s HIV často působí na centrální nervový systém. Jedním takovým projevem je demence spojená s AIDS.

Nyní sice vzniká řada způsobů léčení HIV a s ním spojených chorob například AIDS a ARC, ale tyto způsoby mají jen malý



nebo žádný účinek na poruchy centrálního nervového systému způsobené infekcí HIV.

Důvodem, že tyto způsoby léčení nejsou účinné proti poruchám centrálního nervového systému způsobeným HIV je, že dosud používané farmaceutické prostředky nejsou schopné překročit bariéru mezi krví a nervovou tkání v množství dostatečném pro ovlivnění a zpomalení HIV infekce v centrálním nervovém systému.

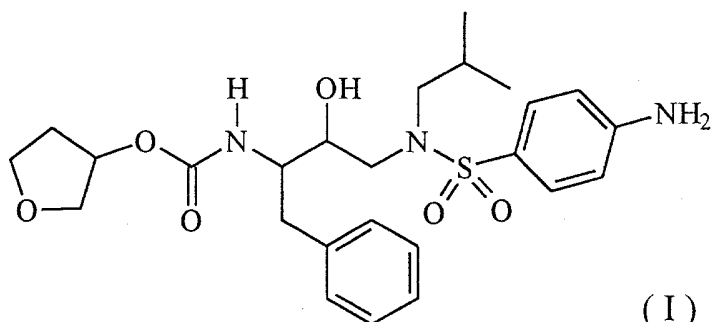
Například při metodě AZT, což je nejznámější způsob léčení HIV, je distribuce mozek/krev pouze 0,3, a po 60 minutách se v mozkové tkáni nenachází žádný AZT. Ostatní HIV nukleosidy, ddC, DDI a d4T mají v centrálním nervovém systému distribuční profily ještě horší.

Ani inhibitory HIV proteas nepronikají do centrálního nervového systému dostatečně. Například Abbottova ABT 536 vykazuje velmi omezený průnik do centrálního nervového systému. Searlův inhibitor má distribuci mozek/krev od 0,2 do 0,3. Merckův L-535524 má distribuci téměř stejnou.

Proto mají současné způsoby léčení založené na HIV nukleosidech a proteasách nižší než požadovanou účinnost proti působení HIV na centrální nervový systém.

#### Podstata vynálezu

Předkládaný vynález poskytuje způsob a prostředek pro léčení vlivu HIV na centrální nervový systém, zejména demenci spojenou s AIDS. Způsob a prostředek v souladu s předkládaným vynálezem se vyznačují inhibitorem HIV proteasy obecného vzorce I:



(I)

Sloučenina vzorce I je inhibitor HIV proteasy. Ale na rozdíl od jiných inhibitorů proteas má distribuci mozek/krev větší než 1,0. To znamená, že je velmi účinná při překonávání bariéry krev/mozek. Ve skutečnosti je v mozku přítomna v přibližně stejné koncentraci jako v krvi. Sloučenina vzorce I má dále v mozku neočekávaně dlouhý poločas života. V důsledku obou těchto vlastností je sloučenina vzorce I neočekávaně účinná při léčení účinků HIV na centrální nervový systém zejména demence spojené s AIDS.

Sloučeninu vzorce I lze připravit z dostupných výchozích látek za použití některého ze známých syntetických postupů. Příklady takových syntéz jsou popsány v mezinárodní patentové přihlášce WO 94/05639, která je zde uvedena jako odkaz.

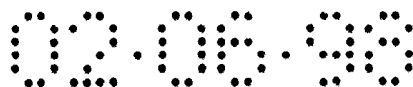
Sulfonamidy vzorce I jsou obecně snadno dostupné z derivátů  $\alpha$ -aminokyselin obecného vzorce P-N(G)-CH(D)-COOH, kde P je definováno jako THF-O-C(C)- nebo chránící skupiny aminokyselin, D je definováno jako benzylová skupina a G je atom vodíku nebo benzylová skupina. Vhodné chránící skupiny aminokyselin jsou popsány v řadě prací, například T.W. Greene a P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydání, John Wiley a synové (1991). Příklady chránících skupin aminokyselin (které nejsou omezující) jsou Boc, Cbz nebo Alloc, nebo může být amin alternativně chráněn jako alkylový derivát jako N,N-dibenzyllová skupina nebo tritylová skupina. Tyto deriváty  $\alpha$ -aminokyselin jsou často dostupné komerčně nebo je lze snadno připravit z komerčně dostupných derivátů  $\alpha$ -aminokyselin za použití známých technik. Přestože



předkládaný vynález uvádí jako výchozí látky racemické směsi, je výhodný izolovaný S enantiomer.

Za použití známých technik lze derivát  $\alpha$ -aminokyseliny obecného vzorce  $P-N(G)-CH(D)-COOH$  snadno převést na aminoketonderivát obecného vzorce  $P-N(G)-CH(D)-CO-CH_2-X$ , kde X je odstupující skupina, která aktivuje  $\alpha$ -uhlík (to je zvyšuje citlivost methylenové skupiny k nukleofilnímu ataku). Vhodné odstupující skupiny jsou v této oblasti techniky známé a zahrnují halogenidy a sulfonáty jako methansulfonát, trifluormethansulfonát nebo 4-toluensulfonát. Skupina X může být také hydroxylová skupina, která se *in situ* převede na odstupující skupinu (například reakcí s trialkylfosfinem nebo triarylfosfinem v přítomnosti dialkylazodikarboxylátu). Způsoby přípravy těchto aminoketonderivátů jsou odborníkům rovněž známé (viz. například S. J. Fittkau, J. Prakt. Chem. 315, strana 1037 (1973)). Alternativně jsou některé aminoketonderiváty komerčně dostupné (například od firmy Bachem Biosciences, Inc., Filadelfie, Pensylvanie).

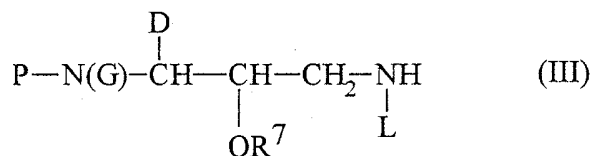
Aminoketonderivát lze pak redukovat na odpovídající aminoalkohol vzorce  $P-N(G)-CH(D)-CH(OH)-CH_2-X$ . Alternativně lze aminoketonderivát redukovat později. Odborníkům je známá řada metod redukce aminoketonderivátů  $P-N(G)-CH(D)-CO-CH_2-X$  (Larock, R.C. „Comprehensive Organic Transformations“, strana 527-547, VCH Publishers, Inc. 1989 a odkazy tam uvedené). Výhodné redukční činidlo je natriumborohydrid. Redukční reakce se provádí při teplotě  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  (s výhodou  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) ve vhodném rozpouštědle jako je například vodný nebo čistý tetrahydrofuran nebo nižší alkohol jako methanol nebo ethanol. Ačkoli předkládaný vynález zahrnuje stereospecifické a nestereospecifické redukce aminoketonderivátu  $P-N(G)-CH(D)-CO-CH_2-X$ , je výhodná stereoselektivní redukce. Stereoselektivní redukce lze provést za použití v této oblasti techniky známých chirálních činidel. V souladu s předkládaným vynálezem lze stereoselektivní redukci provést například za nechelátujících redukčních podmínek, kdy se chirální indukce



nově vzniklé hydroxylové skupiny dosáhne stereochemií skupiny D (to je Felkin-Ahnova adice hydridu). Zejména výhodná je stereoselektivní redukce, kdy je výsledná hydroxylová skupina ke skupině D v postavení *syn*. Zjistili jsme, že pokud je hydroxylová skupina ke skupině D v postavení *syn*, výsledný sulfonamidový produkt je inhibitor HIV proteasy s vyšší účinností než anti diastereomer.

Hydroxylová skupina aminoalkoholu může být případně chráněna jakoukoliv známou skupinou chránící kyslíkový atom, jako je trialkylsilylová skupina, benzylová skupina nebo alkyloxymethylová skupina, za získání chráněného aminoalkoholu vzorce P-N(G)-CH(D)-C(OR<sup>7</sup>)-CH<sub>2</sub>-X, kde R<sup>7</sup> je atom vodíku nebo jiná vhodná skupina chránící hydroxylovou skupinu. Některé vhodné chránící skupiny jsou popsány v knize T.W. Greene a P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydání, John Wiley a synové (1991).

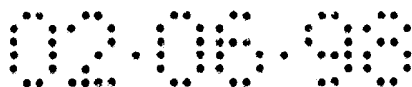
Tento chráněný aminoalkohol se pak může nechat reagovat s nukleofilní aminosloučeninou za vzniku intermediátu vzorce III:



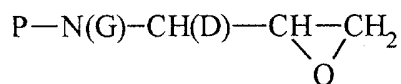
kde skupina P je definována jako THF-O-C(O)- nebo aminokyselinová chránící skupina, skupina D je benzylová skupina, skupina R<sup>7</sup> je popsána výše a skupina L je buď isobutylová skupina nebo atom vodíku.

Alternativně může reagovat vhodně chráněný a aktivovaný derivát aminokyseliny s nukleofilní nitrosloučeninou (například nitromethanovým anionem nebo jeho derivátem), kterou lze po spojení redukovat za získání intermediátu vzorce III.

V zejména výhodném syntetickém postupu se provede současná aktivace methylenové skupiny a chránění alkoholu přípravou



N-chráněného aminoepoxidu (z kyslíku a jeho přilehlé methylenové skupiny) za získání intermediátu vzorce II:

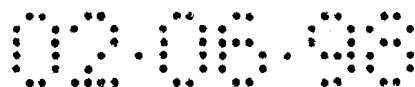


(II)

kde skupiny P, D a G jsou definovány výše. Vhodná rozpouštědla pro přípravu N-chráněného aminoepoxidu zahrnují bezvodá nebo vodná organická rozpouštědla jako ethanol, methanol, isopropanol, tetrahydrofuran, dioxan, dimethylformamid a podobně (včetně jejich směsí). Vhodné báze pro přípravu epoxidu jsou hydroxidy alkalických kovů, t-butoxid draselný, DBU a podobně. Výhodná báze je hydroxid draselný.

Sloučenina vzorce I se s výhodou připraví syntézou N-chráněného aminoepoxidu, a to reakcí dianiontu derivátu kyseliny octové obsahujícího na  $\alpha$ -uhlíku potenciální odstupující skupinu s cyklickým N-karboxyanhydridem chráněné  $\alpha$ -aminokyselina (jako je BOC-Phe-NCA dostupný z propeptidu) nebo jinak vhodně chráněným a aktivovaným derivátem aminokyseliny. Tento způsob zahrnuje použití halogenoocetových kyselin nebo obecně heteroatomem substituovaných octových kyselin, kde lze heteroatom převést na odstupující skupinu. Výhodný dianion octové kyseliny je dianion methylthiooctové kyseliny. Vzniklý aminoketon lze pak redukovat (například natriumborohydridem). V případě, že je nukleofilem dianion methylthiooctové kyseliny, se vzniklý aminoalkohol snadno převede na aminoepoxid alkylací (například methyljodidem) následovanou uzavřením kruhu (například za použití hydridu sodného).

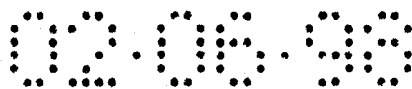
Reakce N-chráněného aminoepoxidu (nebo jiného vhodně aktivovaného intermediátu) s aminem se provádí v substanci, to je bez rozpouštědla, nebo v přítomnosti polárního rozpouštědla jako je nižší alkanol, voda, dimethylformamid nebo dimethylsulfoxid. Reakci lze pohodlně provádět při teplotě  $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ , s výhodou  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Alternativně lze



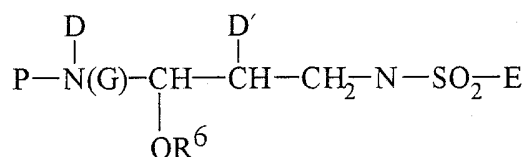
reakci provést v přítomnosti aktivačního činidla jako je aktivovaná alumina v inertním rozpouštědle, s výhodou v etheru jako je diethylether, tetrahydrofuran, dioxan nebo t-butylmethylether, obyčejně při teplotě místnosti až 110 °C, jak je popsáno v Posner a Rogers, J. Am. Chem. Soc., 99, strana 8208 (1977). Další aktivační činidla zahrnují nižší trialkylaluminiové sloučeniny jako triethylaluminium nebo dialkylaluminiumhalogenidy jako diethylaluminumchlorid (Overman a Flippin, Tetrahedron Letters, strana 195 (1981)). Reakce těchto sloučenin se obyčejně provádí v inertních rozpouštědlech jako je dichlormethan, 1,2-dichlorethan, toluen nebo acetonitril při teplotě 0 °C až 100 °C. Další způsoby výměny odstupujících skupin nebo otevření epoxidů aminy nebo jejich ekvivalenty jako azidy nebo trimethylsilylkyanidy (Gassman a Guggenheim, J. Am. Chem. Soc. 104, strana 5849 (1962)) jsou známé a odborníkům v této oblasti zřejmé.

Sloučeniny vzorce II a III a jejich funkčně chráněné deriváty jsou vhodné jako intermediáty pro přípravu sloučeniny vzorce I. Pokud je skupina L isobutylová skupina, lze sloučeninu vzorce III převést na sloučeninu vzorce I reakcí se sulfonyl-aktivovanou sloučeninou za vzniku sulfonamidu. Způsoby přípravy takových sulfonyl-aktivovaných sloučenin jsou v této oblasti techniky dobře známé. Pro přípravu sulfonamidů se typicky používají sulfonylhalogenidy. Řada sulfonylhalogenidů je komerčně dostupná; ostatní lze snadno získat za použití běžných syntetických technik (Gilbert E. E., „Recent Developments in Preparative Sulfonation a Sulfation“ Synthesis 1969: 3 (1969) a tam uvedené odkazy; Hoffman R. V. „M-Trifluormethylbenzenesulfonyl Chlorid“ Org. Synth. Coll. Vol. VII, John Wiley a synové (1990); Hartman G. D. "4-Substituted Thiofene- and Furan-2-sulfonamides as Topical Carbonic Anhydrase Inhibitors", J. Med. Chem., 35, strana 3822 (1992) a tam uvedené odkazy.

V případě sloučenin vzorce III, kde skupina L je atom vodíku, lze známými technikami provést přeměnu vzniklého primárního



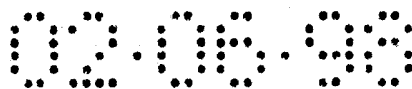
aminu na sekundární amin. Tyto techniky zahrnují reakci s alkyhalogenidem nebo alkylsulfonátem nebo reduktivní alkylation aldehydem za použití například katalytické hydrogenace nebo natriumkyanoborhydridu (Borch a další, J. Am. Chem. Soc., 93, strana 2897 (1971)). Alternativně lze primární amin acylovat a pak redukovat boranem nebo jiným vhodným redukčním činidlem jak je například popsáno v práci Cushman a další, J. Org. Chem., 56, str. 4161 (1991). Tato technika je zejména vhodná u sloučenin vzorce III, kde skupina P reprezentuje chránící skupinu jako t-butoxykarbonyl (Boc) nebo benzyloxykarbonylovou skupinu (Cbz) a skupina G je atom vodíku, nebo pokud jsou obě skupiny P a G benzylové skupiny.



(IV)

Pokud proměnné P a G u sloučeniny vzorce IV reprezentují odstranitelné chránící skupiny, poskytne s výhodou odstranění jedné nebo obou chránících skupin a následná reakce vzniklého aminu s vhodně aktivovaným činidlem odlišnou sloučeninu vzorce IV. Například reakcí s chlorkarbonáty nebo karbonáty esterifikovanými odstupujícími skupinami jako je 1-hydroxybenzotriazol (HOBT) nebo HOSU nebo 4-nitrofenol (protonované sloučeniny) lze získat karbamáty. Příkladem takového karbonátu je N-sukcinimidyl-(3S)-tetrahydrofuran-3-ylkarbonát. Je zřejmé, že za účelem usnadnění specifických reakcí může být žádoucí chránění jedné nebo několika potenciálně reaktivních skupin následované postupným odstraněním chránících skupin. Taková modifikace reakčního schématu uvedeného výše je v rámci běžných znalostí stavu techniky.

Odborníkům v této oblasti je zřejmé, že výše uvedená syntetická schémata nezahrnují vyčerpávající seznam všech prostředků, kterými lze sloučeniny popsané a nárokováné v této přihlášce

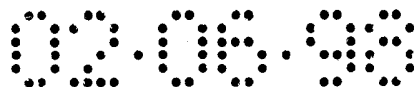


syntetizovat. Odborníkům v této oblasti jsou další metody zřejmé.

Sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem lze modifikovat připojením vhodných funkčních skupin pro zlepšení selektivních biologických vlastností. Tyto modifikace jsou v tomto oboru známé a zahrnují ty, které zlepšují průnik do daného biologického prostředí (například krve, lymfatického systému, centrálního nervového systému), zvyšují perorální přípustnost, zvyšují rozpustnost důležitou pro podávání v injekcích, upravují metabolismus a rychlost vylučování.

Sloučenina v souladu s předkládaným vynálezem je vynikající ligand pro aspartylproteasy, zejména HIV-1 a HIV-2 proteasy. Proto je tato sloučenina schopná zasáhnout a inhibovat pozdní stadium replikace HIV, to je zpracování virových polyproteinů HIV kódovanými proteasami. Sloučenina inhibuje proteolytické zpracování prekurzorů virových polyproteinů inhibicí aspartylproteasy. Protože je aspartylproteasa esenciální pro produkci zralých virionů, inhibice tohoto zpracování účinně blokuje šíření viru inhibicí produkce infekčních virionů, zejména v chronicky infikovaných buňkách. Sloučenina v souladu s předkládaným vynálezem s výhodou inhibuje schopnost HIV-1 viru infikovat přeživší lidské T-buňky po dobu řádově dnů, což bylo dokázáno testováním extracelulárního p24 antigenu, což je specifický indikátor replikace viru. Účinnost této sloučeniny potvrdily i další antivirové testy.

Sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem lze použít způsobem běžným proti virům jako jsou HIV a HTLV, které jsou v rámci svého životního cyklu zcela závislé na aspartylproteasách. Tyto metody léčeni, dávkování a požadavky může odborník v této oblasti zvolit podle známých metod a technik. Sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem lze například kombinovat s farmaceuticky přijatelnou látkou usnadňující podávání pacientům s virovou infekcí farmaceuticky vhodným



způsobem v množství účinném proti virové infekci nebo pro zmírnění patologických účinků spojených s HIV infekcí.

Alternativně lze sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem použít pro profylaxi a ochranu jedince proti virové infekci ve specifických případech, jako je narození dítěte nebo delší časová perioda. Sloučeninu lze profylakticky použít samostatně nebo spolu s dalším antiretrovirovým činidlem pro zlepšení účinnosti každého činidla. Jako takové mohou být nové proteasové inhibitory v souladu s předkládaným vynálezem podávány jako činidla pro léčení nebo prevenci HIV infekce u savců.

Sloučenina vzorce I se po perorálním podání snadno vstřebává do krve savců. Sloučenina vzorce I s molární hmotností menší než 600 g/mol a rozpustností ve vodě větší nebo rovnou 0,1 mg/ml je vhodná pro perorální podávání. Tato překvapivě velká vhodnost pro perorální podávání tak poskytuje výbornou sloučeninu pro perorální léčení a preventivní dietu proti HIV infekci.

Kromě perorální biologické vhodnosti má sloučenina v souladu s předkládaným vynálezem velmi vysoký terapeutický index, který definuje poměr toxicity ku antivirové účinnosti. Proto je sloučenina v souladu s předkládaným vynálezem účinná při nižších dávkách než řada dříve popsaných běžných antiretrovirových činidel a postrádá řadu silných toxických účinků spojených s těmito léky. Možnost podávat tuto sloučeninu v dávkách značně převyšujících její antivirově účinnou dávku je výhodná při zpomalování nebo prevenci možnosti vývoje odolných variant.

Sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem lze podávat zdravým pacientům nebo pacientům infikovaným HIV samostatně nebo v kombinaci s dalšími antivirovými činidly, která narušují replikační cyklus HIV. Podáváním sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem s dalšími antivirovými činidly, která zasahují různá stadia životního cyklu viru, se terapeutický účinek těchto sloučenin zesiluje. Spolu podávaným antivirovým

čínidlem může například být látka, která zasahuje časná stadia životního cyklu viru, jako je vstup do buňky, reverzní transkripce a integrace virové DNA do buněčné DNA. Anti-HIV čínidla zasahující tato časná stadia životního cyklu zahrnují didanosin (ddI), dideoxycytidin (ddC), d4T, zidovudin (AZT), 3TC, 935U83, 1592U89, 524W91, polysulfatované polysacharidy, sT4 (rozpuštěný CD4), ganciclovir, fosfonoformát trisodný, eflornithin, ribavirin, acyklovir, alfa interferon a trimenotrexat. Pro zesílení účinku sloučenin v souladu s předkládaným vynálezem lze dále použít nenukleosidové inhibitory reverzní transkriptasy jako TIBO, delavirdin (U90) nebo nevirapin a dále virové inhibitory tvorby povlaku, inhibitory trans-aktivujících proteinů jako tat nebo rev nebo inhibitory virové integrasy.

Kombinační léčby v souladu s předkládaným vynálezem využívají při inhibici replikace HIV aditivní nebo synergický účinek, protože každá složka směsi působí na jiné místo replikace HIV. Použití takové kombinační terapie také s výhodou redukuje v porovnání podáváním čínidla při monoterapii dávku daného konvenčního antiretrovirového čínidla, což je žádoucí pro požadovaný terapeutický nebo profylaktický účinek. Tyto kombinace mohou redukovat nebo eliminovat vedlejší účinky konvenčních jednoduchých antiretrovirových čínidel, ale přitom nenarušují antiretrovirovou aktivitu těchto čínidel. Tyto kombinace také redukují potenciál odolnosti k jednoduchým čínidlům a zároveň minimalizují jejich související toxicitu. Tyto kombinace mohou také zvýšit účinnost běžných čínidel bez zvýšení související toxicity. Zejména jsme objevili, že v kombinaci s dalšími anti-HIV čínidly působí sloučenina v souladu s předkládaným vynálezem aditivně nebo synergicky při prevenci replikace HIV v lidských buňkách T. Výhodné kombinační terapie zahrnují podávání sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem s AZT, ddI, ddC, d4T, 3TC, 93SUB3, 1592U89, 524W91 nebo jejich kombinací.

Alternativně lze sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem podávat společně s dalšími inhibitory HIV proteas jako je sachinavir (Ro 31-8959, Roche), L-735,524 (Merck), ABT 538 (A-80538, Abbott), AG 1341 (Agouron), XM 412 (DuPont Merck), XM 450 (DuPont Merck), BMS 186318 (Bristol-Meyers Squibb) a CPG 53,437 (Ciba Geigy) nebo proformami těchto nebo odvozených sloučenin pro zvýšení účinnosti léčení nebo profylaxe různých mutací virů nebo členů HIV kvazi druhů.

Navrhujeme podávání sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem samostatně nebo v kombinaci s inhibitory retrovirové reverzní transkriptasy, jako jsou deriváty AZT nebo další inhibitory HIV aspartylproteasy, včetně vicesložkových kombinací obsahujících 3 až 5 činidel. Podle nás společné podávání sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem s inhibitory retrovirové reverzní transkriptasy nebo inhibitory HIV aspartylproteasy může znamenat zásadní aditivní nebo synergický účinek, a tak působit při prevenci, zásadní redukci nebo úplné eliminaci virové replikace nebo infekce (nebo obou) a s nimi spojených symptomů.

Sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem lze také podávat v kombinaci s imunomodulátory a imunostimulátory (například bropirimin, protilátka lidského alfa-interferonu, IL-2, GM-CSF, interferon alfa, diethyldithiokarbamat, faktor nekrózy nádoru, naltrexon, tuscarasol a REPO); a antibiotiky (například pentamidin-isethikrát) za účelem prevence nebo boje s infekcí a chorobami spojenými s HIV infekcí jako je AIDS a ARC.

Při podávání sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem při kombinační léčbě s dalšími činidly, mohou být tato podávána pacientům jako po sobě následující nebo současně. Alternativně mohou farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem obsahovat kombinaci inhibitoru aspartylproteasy v souladu s předkládaným vynálezem a dalšího terapeutického nebo profylaktického činidla.

Přestože je tento vynález zaměřen na použití zde uvedených sloučenin pro prevenci a léčeni HIV infekce, sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem lze použít i jako inhibiční činidlo pro další viry, které jsou v esenciálních stádiích životního cyklu závislé na podobných aspartylproteasách. Tyto viry zahrnují další choroby podobné AIDS způsobené retroviry jako opičí virus ztráty imunity, HTLV-I a HTLV-II. Sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem lze dále použít pro inhibici dalších aspartylproteas a zejména dalších lidských aspartylproteas zahrnujících reninproteasy a aspartylproteasy, které zpracovávají endothelinové prekurzory.

Prostředky v souladu s předkládaným vynálezem se typicky berou perorálně a obsahují množství sloučeniny vzorce I, které je účinné při inhibici replikace HIV, a to inhibicí jeho (HIV) proteasy v centrálním nervovém systému.

Sloučenina vzorce I se používá ve způsobu a prostředku v souladu s předkládaným vynálezem v kombinaci s farmaceuticky přijatelným nosičem. Typicky se také používá v kombinaci s dalšími léčbami AIDS, zejména AZT a 3TC.

Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem obsahují sloučeninu v souladu s předkládaným vynálezem, její farmaceuticky vhodné soli s jakýmkoliv farmaceuticky vhodným nosičem, adjuvantem nebo přísadou. Farmaceuticky vhodné nosiče, adjuvanty a přísady, které lze použít ve farmaceutických prostředcích v souladu s předkládaným vynálezem jsou (ale nejsou omezeny na) iontové měniče, alumina, stearát hlinitý, lecitin, samoemulgující systémy pro distribuci léčiv (SEDDS) jako  $\alpha$ -tokoferolpolyethyleneglykol 1000 sukcinát, sérové proteiny jako albumin lidského séra, pufrující látky jako fosforečnany, glycin, kyselina sorbová, sorbát draselný, parciální glyceridové směsi nasycených rostlinných mastných kyselin, voda, soli nebo elektrolyty jako prolaminsulfát, hydrogenfosforečnan sodný, hydrogenfosforečnan draselný, chlorid sodný, soli zinku, koloidní křemelina, křemičitan

hořečnatý, polyvinylpyrrolidon, látky na bázi celulózy, polyethylenglykol, karboxymethylcelulzá sodná, polyakryláty, vosky, polyethylenpolyoxypropylenové polymery, polyethylenglykol a lanolín.

Pro zlepšení distribuce sloučeniny vzorce I lze s výhodou použít také cyklodextriny jako  $\alpha$ -,  $\beta$ -, a  $\gamma$ -cyklodextrin nebo jejich chemicky modifikované deriváty jako hydroxyalkylcyklodextriny zahrnující 2- a 3-hydroxypropyl- $\beta$ -cyklodextriny nebo další solubilizované deriváty.

Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem lze podávat perorálně, parenterálně, v inhalačním spreji, topicky, rektálně, nasálně, bukálně, vaginálně nebo přes implantát. Výhodné je perorální podávání nebo podávání injekcemi. Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem mohou obsahovat všechny běžné netoxické farmaceuticky vhodné nosiče, adjuvanty nebo přísady. V některých případech lze pH prostředku upravit farmaceuticky vhodnými kyselinami, zásadami nebo pufrů pro zvýšení stability sloučeniny v prostředku nebo její lékové formě. Zde použitý termín parenterální znamená injekce nebo infuze podávané podkožně, do kůže, intravenózně, intramuskulárně, do kloubů, intrasynoviálně, intrasternálně, intrathékálně, do rány a do lebky.

Farmaceutické prostředky mohou být ve formě sterilního injektovatelného prostředku například jako sterilní injektovatelná vodná nebo olejová suspenze. Takovou suspenzi lze připravit podle technik známých v této oblasti za použití vhodných dispergujících nebo zvlhčujících činidel (jako například Tween 80) a suspendujících činidel. Sterilní injektovatelné prostředky mohou být také sterilní injektovatelné roztoky nebo suspenze v netoxickém parenterálně vhodném ředidle nebo rozpouštědle například jako roztok v 1,3-butandiolu. Mezi vhodnými přísadami a rozpouštědly, která mohou být použita jsou mannitol, voda, Ringerův roztok a izotonický roztok chloridu sodného. Jako rozpouštědlo nebo

médium suspenze se běžně používají sterilní husté oleje. Pro tento účel lze použít jakýkoliv nedráždivý olej včetně syntetických monoglyceridů nebo diglyceridů. V prostředcích pro injekce jsou vhodné mastné kyseliny jako kyselina olejová a její glyceridové deriváty, což jsou přírodní farmaceuticky přijatelné oleje jako olivový a ricínový olej zejména ve své polyoxyethylované verzi. Tyto olejové roztoky nebo suspenze mohou také obsahovat jako ředidlo alkoholy s dlouhým řetězcem nebo dispergující látky jako Ph. Helv. nebo podobné alkoholy.

Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem lze podávat perorálně ve všech perorálně vhodných lékových formách zahrnujících (ale neomezených na) kapsle, tablety a vodné suspenze a roztoky. V případě tablet pro perorální použití se běžně používají nosiče jako laktosa a kukuřičný škrob. Typicky se přidávají i lubrikační činidla jako stearát hořečnatý. Pro perorální podávání ve formě kapslí jsou vhodná ředidla laktosa a sušený kukuřičný škrob. Pokud se perorálně podávají vodné suspenze, je aktivní složka kombinována s emulgujícími a suspendujícími činidly. V případě potřeby lze přidat určitá sladidla a/nebo příchuti a/nebo barviva.

Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem lze podávat také ve formě čípků pro rektální podávání. Takové prostředky lze připravit smícháním sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem a vhodného nedráždivého excipientu, který je při teplotě místnosti pevný, ale při rektální teplotě tekutý, a proto v rektu taje za uvolnění aktivních složek. Takové látky zahrnují (ale nejsou omezeny na) kakaové máslo, včelí vosk a polyethylenglykoly.

Pokud požadovaná léčba má být směřována na místa nebo orgány snadno dostupné topickou aplikací, je zejména výhodné podávat farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem topicky. Pro topickou aplikaci na kůži se připraví farmaceutický prostředek s vhodnou mastností, který obsahuje aktivní složku suspendovanou nebo rozpuštěnou v nosiči. Nosiče

pro topické podávání sloučeniny v souladu s předkládaným vynálezem zahrnují (ale nejsou omezeny na) minerální olej, tekutou vazelínu, bílou vazelínu, propylenglykol, polyoxyethylenpolyoxypropylenové sloučeniny, emulgující vosk a vodu. Alternativně lze připravit farmaceutický prostředek jako vhodné pletové mléko nebo krém obsahující aktivní sloučeninu suspendovanou nebo rozpuštěnou v nosiči. Vhodné nosiče zahrnují (ale nejsou omezeny na) minerální olej, sorbitan-monostearát, polysorbát 60, cetylové estery vosku, cetearylalkohol, 2-oktyldodekanol, benzylalkohol a vodu. Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem lze také topicky aplikovat do spodního intestinálního traktu, ato rektálními čípkami nebo ve vhodném klystýrovém prostředku. Předkládaný vynález zahrnuje i topické transdermální náplasti.

Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem lze podávat jako nosní aerosol nebo inhalační látku. Takové prostředky se připraví technikami v oblasti farmaceutických prostředků dobře známými a mohou být připraveny jako roztoky v salinu za použití benzylalkoholu nebo dalších vhodných konzervačních látek, promotorů absorpce pro zvýšení biologické dostupnosti, fluoruhlovodíků a/nebo jiných solubilizujících nebo dispergujících činidel, která jsou odborníkům známá.

Při prevenci a léčení virových infekcí včetně HIV infekce jsou vhodné dávky 0,01 až 100 mg na kg tělesné hmotnosti a den, s výhodou 0,5 až 75 mg na kg tělesné hmotnosti a den aktivní složky. Farmaceutické prostředky v souladu s předkládaným vynálezem se typicky podávají jednou až pětkrát denně nebo alternativně jako kontinuální infuze. Takové podávání lze použít při chronické nebo akutní terapii. Množství aktivní složky, které lze kombinovat s nosiči za přípravy jednorázové dávky je závislé na léčené chorobě a zejména způsobu podávání. Typický prostředek obsahuje 5 % až 95 % hmotnostních aktivní sloučeniny. Tento prostředek s výhodou obsahuje 20 % až 80 % hmotnostních aktivní sloučeniny.

Po zlepšení stavu pacienta lze v případě potřeby podávat udržovací dávku sloučeniny, prostředku nebo kombinace v souladu s předkládaným vynálezem. Následně lze dávku nebo frekvenci (nebo obojí) podávání redukovat, a to v závislosti na symptomech, až na úroveň, při které trvá zlepšený stav. Když byly symptomy zmírněny na požadovanou úroveň, léčení se zastaví. Pacienti ale mohou při opětovném výskytu symptomů choroby vyžadovat dlouhodobé občasné léčení.

Jak je odborníkům zřejmé, mohou být žádoucí i nižší nebo vyšší dávky, než jaké jsou uvedeny výše. U všech jednotlivých pacientů závisí specifická dávkovací a léčebná dieta na různých faktorech zahrnujících aktivitu použité specifické sloučeniny, věku, tělesné hmotnosti, celkovém zdravotním stavu, pohlaví, dietě, době podávání, rychlosti vyměšování, kombinaci léků, závažnosti a průběhu infekce, dispozicích pacienta k infekci a úsudku ošetřujícího lékaře.

Za účelem lepšího porozumění vynálezu jsou připojeny následující příklady, které jsou uvedeny pouze za účelem ilustrace ale v žádném případě vymezení rozsahu vynálezu.

#### Příklady provedení vynálezu

##### **Příklad 1**

Prekurzor A. Roztok 102 mg N-((2 syn, 3S)-2-hydroxy-4-fenyl-3-((S)-tetrahydrofuran-3-yloxykarbonylaminobutylaminu ve směsi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /nasycený vodný  $\text{NaHCO}_3$  (4:1) se nechá postupně reagovat při teplotě místnosti v atmosféře dusíku s 65 mg p-nitrobenzensulfonylchloridu a 51 mg hydrogenuhličitanu sodného. Směs se míchá 14 hodin, zředí se dichlormethanem, promyje se nasyceným roztokem chloridu sodného, vysuší se síranem hořečnatým, zfiltruje se a zahustí ve vakuu. Zbytek se chromatograficky čistí na silikagelu s eluentem 20% diethylether/dichlormethan za získání 124 mg uvedeného produktu jako bílé pevné látky. TLC:  $R_f = 0,36$ , 20 % diethylether/dichlormethan.

HPLC: Rt = 15,15 minuty. ( $^1\text{H}$ )-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) odpovídá struktuře.

#### Příklad 2

Sloučenina I. Roztok 124 mg látky získané v příkladu 1 v ethylacetátu se nechá reagovat při teplotě místnosti s 13 mg 10% palladia na uhlí. Směs se 14 hodin míchá v atmosféře vodíku, zfiltruje se přes křemelinu a zahustí ve vakuu. Zbytek se podrobí preparativní HPLC za získání 82 mg uvedeného produktu jako bílé pevné látky. TLC:  $R_f = 0,10, 20\%$  ether/dichlormethan.

HPLC: Rt = 13,16 minuty. ( $^1\text{H}$ )-NMR ( $\text{CDCl}_3$ ) odpovídá struktuře.

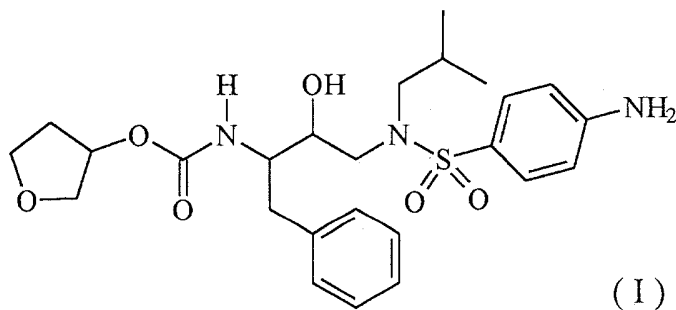
#### Průmyslová využitelnost

Předkládaný vynález poskytuje způsob a prostředek pro léčení vlivu HIV na centrální nervový systém, zejména demence spojené s AIDS.

Ačkoli jsme popsali řadu provedení tohoto vynálezu, je zřejmé, že náš základ lze pozměnit za získání dalších provedení, která využívají produkty a způsoby tohoto vynálezu. Proto je nutné mít na vědomí, že rozsah tohoto vynálezu je definován připojenými nároky, přesněji než specifickými provedeními, která byla prezentována příklady.

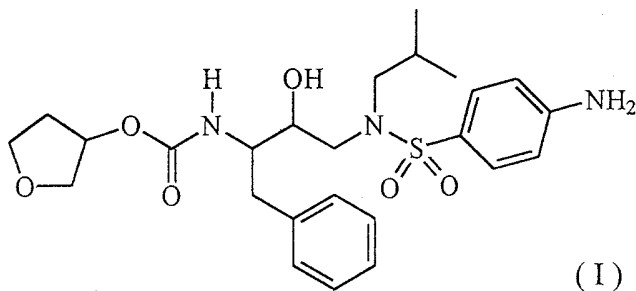
## P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Použití sloučeniny vzorce I:



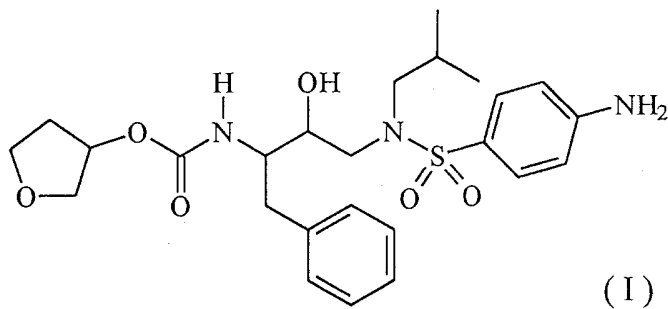
pro přípravu léčiva pro léčení savců trpících účinky viru, závislého v esenciálním bodě svého životního cyklu na aspartylprotease, na centrální nervový systém.

2. Použití sloučeniny vzorce I:



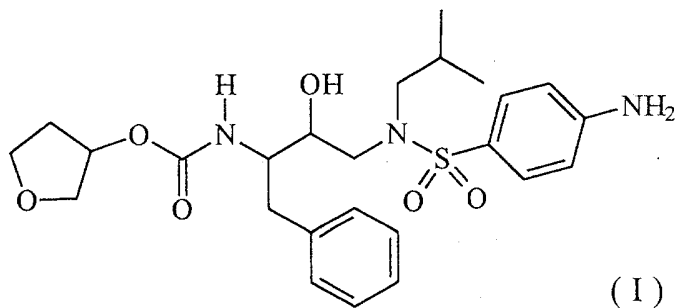
pro přípravu léčiva pro inhibici produkce HIV infekčních virionů v centrálním nervovém systému savců.

3. Použití sloučeniny vzorce I:



pro přípravu léčiva pro inhibici enzymatické aktivity aspartylproteasy v centrálním nervovém systému savců.

4. Použití sloučeniny vzorce I:



(I)

pro přípravu léčiva pro redukci virové infekce v centrálním nervovém systému savců, kde uvedený virus v esenciálním bodě svého životního cyklu vyžaduje aspartylproteasu.

5. Použití podle kteréhokoliv nároku 1 až 4, kde uvedený virus je HIV.
6. Použití podle nároku 5, kde uvedené léčivo dále obsahuje AZT, 3TC nebo obě tyto látky.