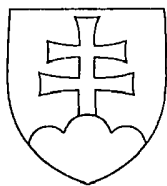


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU

(21) Číslo dokumentu:

1233-95

(22) Dátum podania: 05.04.94
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 9307043.1
(32) Dátum priority: 05.04.93
(33) Krajina priority: GB
(43) Dátum zverejnenia: 03.04.1996
(86) Číslo PCT: PCT/NO94/00071, 05.04.94

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶ :

C 07H 19/02,
C 07H 19/04,
C 07H 19/06,
C 07H 19/067,
C 07H 19/16,
C 07H 19/167,
C 07H 19/19,
A 61K 31/70

(71) Prihlasovateľ: NORSK HYDRO A.S., Oslo, NO;

(72) Pôvodca vynálezu: Borretzen Bernt, Heistad, NO;
Dalen Are, Trondheim, NO;
Myhren Finn, Porsgrunn, NO;
Stokke Kjelltorgeir, Oslo, NO;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Monoesterová zlúčenina, farmaceutická kompozícia s jej obsahom a jej použitie**

(57) Anotácia:
Zlúčenina vzorca (I) Nu - O - Fa, v ktorom O je kyslík, Nu je nukleozidový analóg, Fa je acylová skupina mononenásytenej C18 alebo C20 w-9 mastnej kyseliny, ktorá je esterifikovaná hydroxylovou skupinou v 5'-polohe štruktúrneho zoskupenia cukru nukleozidového analógu, alebo koncovou hydroxylovou skupinou neryklickej skupiny nukleozidového analóga, v ktorom Nu znamená skupinu vzorca (II) B - S, kde S je derivát monosacharidu vybraný z: 1-β-D-ribofuranó-zy, 1-β-D-arabinofuranózy, 2-deoxy-1-β-D-ribofuranó-zy, 2, 3-dideoxy-1-β-D-ribofuranózy, 2, 3-di-dehydro-2,3-dideoxy-1-β-D-ribofuranózy, 2-deoxy-2-fluór-1-β-D-arabinofuranózy, 2,3-di-de-oxy-3-azido-1-β-ribofuranózy alebo 4-hydroxy-metyl-2-cyklopentén-1-yl, alebo vybrané zo skupiny 2-hydroxy-ctoxy-metyl, 4-hydroxy-3-(hydroxy-metyl)-butyl, 2-hydroxy-1-(hydroxy-metyl)-ctoxy-metyl, 2,3-di-hydroxy-propoxy alebo 2,3-di-hydroxy-propyl); a B je heterocyklický kruhový systém.

Monoesterová zlúčenina, farmaceutická kompozícia s jej obsahom a jej použitie

Oblasť techniky

Tento vynález sa vzťahuje na skupinu nových monoesterových zlúčenín, farmaceutické kompozície s ich obsahom a ich použitie.

Určité zlúčeniny podľa tohto vynálezu sa môžu použiť podobne ako antibiotikum alebo pri liečbe rakovinových ochorení.

Doterajší stav techniky

Vírusové nákazy spôsobujú veľký počet vážnych ochorení ako je AIDS, hepatitis B, herpes a gynekologická rakovina, ako neskorší výsledok papilómových bradavíc.

Vírusy sú malé infekčné látky, ktoré nie sú schopné nezávislej replikácie a ak sa majú replikovať, potom sú závislé od hostiteľskej bunky. Genetický materiál vírusov je alebo RNA alebo DNA.

Pri nákuze organizmu vírus napadá špecifickú hostiteľskú bunku. Po pripojení sa vírusu k bunke vírus preniká cytoplazmovou membránou a z vírusovej častice sa uvoľňuje vírusový genóm. Vírusový genóm sa zvyčajne dopravuje do bunkového jadra, kde sa replikujú nové vírusové genómy. Nový vírusový proteín sa syntetizuje v cytoplazme a nové častice sa vytvárajú alebo v tesnej blízkosti cytoplazmovej alebo jadrovej membrány.

Niektoré vírusy majú genomický materiál, ktorý je priamo (DNA vírusy) alebo nepriamo (reverznou transkripciou RNA, retrovírusy) zabudovaný do hostiteľských bunkových genómov.

Mimobunkové vírusy sa neutralizujú cirkulujúcimi protilátkami a bunkový imunitný aparát môže napádať a odstraňovať

infikované bunky. Vírusy v infikovaných bunkách opúšťajú imunizovaný okruh, ak vírusové protilátky nie sú exponované na povrchu buniek.

Imunitný nápor na infikované orgány prispieva k chorobe mechanizmom, zvyčajne označovaným ako vírusami vyvolaná imunopatológia.

Vlastné mechanizmy niektorých z najvýznamnejších vírusových chorôb sa vzájomne odlišujú.

Keď pacient trpí HIV infekciou, jeho T pomocné bunky sú napadané a ničené. To vedie k imunitnej nedostatočnosti, ktorá zapríčiňuje, že pacient je veľmi náchylný ešte aj k infekciám, ktoré sú normálne prekonávané imunitným systémom bez akýchkoľvek škodlivých účinkov pre pacienta.

Vírus hepatitídy B napadá bunky pečene a pacient môže vážne ochoreť, ak sa imunitný systém snaží očistiť telo od týchto infikovaných buniek. Ak nie je infekcia potlačená imunitným systémom v rannom štádiu, výsledkom bude chronická hepatitída. Pacient bude potom nositeľom infekcie po celý život. U časti pacientov s chronickou hepatitídou sa táto vyvinie do cirhózy alebo rakoviny pečene.

Pri infekciách herpes simplex, vírusy prvotne vnikajú do epidermálnych buniek. Vírusy herpes simplex sa dopravujú do nervového centra, kde sú latentne prítomné a po nejakých intervaloch vzplanú. Hoci nie sú vo väčšine prípadov životu nebezpečné, je herpesová infekcia bolestivá a pacient je infekčný vždy pri vzplanutí choroby.

Vírusový genóm papilárnych vírusov, osobitne v genitálnom trakte žien, je lokalizovaný v jadre epiteliálnych buniek, ale nie je integrovaný do bunkových chromozómov. To je pretrvávajúci stav a nakoniec nastáva tumorom podnietená integrácia, vedúca k rozvoju malignantu. Vírusový genóm v tomto prípade má rozhodujúci iniciačný vplyv v procese vzniku rakoviny.

Ak imunitný systém zvládne zbaviť telo vírusov už v rannom štádiu, vedie to k celoživotnej imunite. Naopak, ak

je vírus príliš agresívny a prekoná imunitný systém, nezíska sa nijaká imunita a výsledkom je, že pokračuje stav nákazy.

Výsledkom odlišných mechanizmov je aj odlišná stratégia terapie týchto stavov.

Konečný cieľ liečby HIV/AIDS by mal byť zbaviť pacienta infekčných vírusov. To sa zdá byť veľmi vzdialené od doteraz dosiahnutého stavu. Avšak sa dá veľa dosiahnúť zlepšením všeobecného stavu pacienta. Znížením infekčnej záťaže sa predĺži bezsymptómová perioda a zníži sa infekčnosť, čo má vynímočnú dôležitosť vzhľadom na epidemiologickú situáciu. Všetky doteraz používané protivírusové prostriedky majú vedľajšie toxické účinky, ktoré v súčasnosti znamenajú, že dostatočne agresívne liečenie nie je možné.

Predpokladá sa, že na svete je 250 až 300 miliónov nosičov hepatitídy B. Je známe, že u značnej časti z nich sa v dôsledku infekcie rozvíja hepatomóza alebo pečeňová nedostatočnosť. V posledných rokoch sa dosiahli slubné výsledky pri liečbe nositeľov vírusu zavedením imunitnej odozvy interferónom. Pritom sú dôležité terapie, znižujúce vírusovú záťaž a ako účinné liečenie akútnej hepatitídy B znižujú počet tých, ktoré sa vyvíjajú do stavu prenášača vírusu. Nedávno identifikovaný vírus hepatitídy C spôsobuje veľmi veľký počet prípadov hepatitídy, ktorých veľká časť sa vyvinie do štádia prenášačov. Z predbežných štúdií sa zdá, že štádium nositeľa - prenášača vírusu sa môže prerušiť podobným terapeutickým režimom ako pri hepatitíde B.

Herpes simplex 1 a 2 často spôsobuje infekcie u ľudí a je príčinou stavov nositeľov s opakovaním lokálnych nákaz.

Celkové infekcie vrátane encefalitídy sú zriedkavé ale katastrofické pre pacienta. Tu sú veľké individuálne odchýlky vo výskyte lokálnych infekcií. U tých pacientov, ktorí sú

postihnutí alebo genitálne alebo faciálne, choroba vyvoláva vážny problém fyzický, mentálny a sociálny. Žiadny z doteraz vyvinutých terapeutických režimov nepôsobí na latentné infekcie buniek centrálnej nervovej sústavy. Terapeutickým cieľom je potom minimalizovať klinické manifestácie opakovania či symptómov, alebo pretrvávania.

Rozšírenie genitálnych nákaz vírusom papilómu sa výrazne zvýšilo v priebehu 80-tych rokov. Teraz sa uznáva, že niektoré genotypy sú onkogénne tak, že iniciujú zmeny v bunkách, ktoré sa po období latencie vyvinú na rakovinu. Vírus papilómu genitálneho traktu vyvoláva dlho trvajúce infekcie. Vplyvy, ktoré spôsobujú maligné premeny postihnutých miest nie sú dobre známe, ale predpokladá sa, že veľkú dôležitosť pritom má imunitný systém. Postihnuté miesta, ktoré sa nehoja po mesiace a roky sa považujú za miesta vzniku rakoviny. Genitálne papilómy označované ako kondylómy sa v súčasnosti liečia fyzikálnym spôsobom ako je chirurgické odstránenie, nekrotizačný spôsob, kvapalným dusíkom a podobne. Genitálne bradavičné nádory sú na začiatku benigných tumorov s pozmenenými formami enzýmov, ktoré ovplyvňujú medzi inými tiež matbolizmus nukleozidových analógov. Nukleozidové pro-liečivá vplývajú na episomálnu proliferáciu papilómového vírusu, pričom vyvolávajú bradavičnú regresiu.

Profylaktická vakcinácia je veľmi úspešná pri akútnych nákazách ako je detská obrna, osýpky, mumps a podobne, ale nie je vyvinutá nijaká účinná vakcinácia proti veľa ďalším vážnym vírusovým nákazám.

Napriek intenzívnym snahám v priebehu posledných desaťročí o prípravu účinných protivírusových chemoterapeutík, nie je dnes možné ponúknuť nijaké úspešné liečenie väčšiny vírusových chorôb. Bolo vyvinuté mimoriadne úsilie v dôsledku objavenia sa HIV a podobných vírusových nákaz, ktoré sa svetom šíria nebezpečnou rýchlosťou; doteraz sa pri AIDS a herpes dosiahol určitý úspech s látkami ako je azidotymi-

dín (AZT) a acyklovir (ACV), ktorý však možno charakterizovať ako iba čiastkový. Tieto najviac sľubné protivírusové látky sú derivátmi v prírode sa vyskytujúcich nukleozidov, ktoré sa modifikovali alebo v štruktúrnej jednotke bázy, alebo v štruktúrnej jednotke cukru. Avšak nemali očakávaný terapeutický potenciál, nakoľko prinášajú spolu so sebou vážne vedľajšie účinky u niektorých pacientov, alebo vykazujú iba slabý alebo nijaký účinok u iných pacientov. Liečba s týmito látkami je ďalej veľmi drahá. Z týchto dôvodov možno liečiť iba pacientov, trpiacich skutočne vážnymi vírusovými ochoreniami ako je AIDS. Pacienti trpiaci menej vážnymi chorobami, ale tiež veľmi bolestivými vírusovými nákazami sú často ponechaní bez akéhokoľvek liečenia a nákaza prebieha jej vlastným spôsobom.

Neliečený pacient prenáša veľkú infekčnú záťaž a znamená riziko pre okruh ľudí, s ktorými prichádza do styku. Ak je liečený protivírusovým liekom, cieľom je znížiť infekčnú záťaž tak, aby sa umožnilo imunitnému systému tela zvíťaziť nad nákazou. Ďalším cieľom je znížiť nákazovosť a tak počet nových pacientov a nosičov.

Z toho je teda zrejmá potreba zlúčenín s lepším terapeutickým indexom.

Potreba je osobitne veľká pri chronických a opakujúcich sa vírusových infekciách s nebezpečným akútnym obdobím vývoja nákazy, alebo pri dlhotrvajúcich chorobách, ovplyvňujúcich zdravie a život, ako je AIDS, hepatitída B a C, nákazy herpesovej skupiny a papilómové vírusové nákazy. Podobne sú tiež potrebné protivírusové látky, použiteľné pri liečbe zvierat, trpiacich vírusovými chorobami.

Na zlepšenie účinnosti liekov sa vyvinuli deriváty nukleozidov, alebo modifikáciou v ich dusíkovej báze, alebo v ich štruktúrnom zoskupení cukru. Na zlepšenie lipofilných vlastností a na dosiahnutie lepšieho priechodu membránou sa vyvinuli najmä estery mastných kyselín nukleozidových analógov.

Z patentu USA 3,984.396 (Witkowski et al.) sú známe estery ribavirinu s aromatickými a nasýtenými mastnými kyselinami, ktoré majú 1 až 18 uhľíkových atómov.

Podstata vynálezu

Neočakávane sa teraz zistilo, že vybraná skupina esterov mastných kyselín protivírusových nukleozidových analógov, v ktorých mastná kyselina je mono-nenasýtená C18 alebo C20 kyselina, vykazuje veľmi zlepšenú účinnosť.

Hoci je známe, že aj nukleozidy aj nukleozidové analógy samotné, a tiež niektoré samotné nenasýtené mastné kyseliny majú protivírusový účinok, intenzita dosahovaných účinkov zlúčeninami podľa tohto vynálezu poukazuje na to, že účinky nie sú aditívne, ale majú synergetický účinok, ktorý je výrazný najmä pre zlúčeniny so vzorcom I.

Mechanizmus týchto účinkov nie je v súčasnosti známy. Neuvažuje sa s tým, že by vznikal len ako dôsledok membránového vplyvu alebo cieľovaného vplyvu.

Ďalej je zrejmé, ako bude objasnené v biologických príkladoch zahrnutých v tomto texte, že sa účinky týchto zlúčenín dosahujú v systémoch, v ktorých sa môžu dosiahnuť menej výrazné účinky aj s materskou nukleozidovou zlúčeninou.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu sa môžu charakterizovať všeobecným vzorcom I:



v ktorom O je kyslík, B - S je nukleozidový analóg, v ktorom B znamená voliteľne substituovaný heterocyklický kruhový systém, S je derivát monosacharidu a Fa je acylová skupina mononenasýtenej C18 alebo C20 mastnej kyseliny.

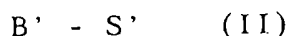
Prírodné nukleozidy sú tak pomenované vo vzťahu k ich prítomnosti v RNA a DNA a sú to molekuly obsahujúce heterocyklickú bázu ako je cytozín, uracil, tymín, adenín alebo guanín, viazanú s ribózou alebo 2-deoxy-ribózovou jednotkou.

Analógy nukleozidov môžu byť nukleozidy modifikované alebo v báze, alebo v ribózovom zoskupení. Napríklad sa môže nahradiť ribózové zoskupenie iným cukrom, alebo necyklickým reťazcom.

Modifikovaná báza môže byť vo vzťahu k zlúčeninám, vybraným zo skupín pyrimidínov alebo purínov, substituovaných rozdielne od uvedených prírodných báz, alebo voliteľne ako substituované hetero- (mono- alebo poly-) cyklické kruhové systémy, ktoré nie sú pyrimidín alebo purín.

Mastná kyselina je esterifikovaná hydroxylovou skupinou štruktúrnej jednotky cukru nukleozidového analóga, alebo hydroxylovou skupinou na necyklickej skupine nukleozidového analóga.

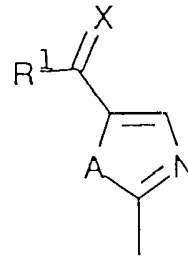
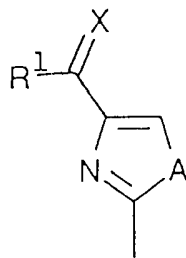
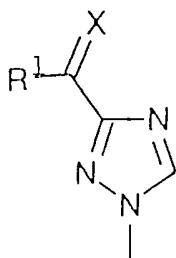
Nukleozidové analógy, ktoré sa môžu zvoliť ako B - S v zlúčeninách so vzorcom I môžu sa prednostne vyjadriť vzorcom II:



v ktorom S' je alebo derivát monosacharidu vybraný z : 1- β - D-ribofuranózy, 1- β -D-arabinofuranózy, 2-deoxy- 1- β -D- ribofuranózy, 2,3- dideoxy- 1- β - D- ribofuranózy, 2,3- didehydro- 2,3- dideoxy- 1- β - D- ribofuranózy, 2- deoxy- 2-fluór- 1- β - D- arabinofuranózy, 2,3- di- deoxy- 3- azido- 1- β - ribofuranózy alebo 4-hydroxy- metyl- 2- cyklopentén- 1-yl, alebo vybrané zo skupiny 2- hydroxy- etoxy- metyl, 4- hydroxy- 3- (hydroxy- metyl)- butyl, 2- hydroxy- 1- (hydroxy- metyl)- etoxy- metyl, 2,3- di- hydroxy- propoxy alebo 2,3- di- hydroxy- propyl);

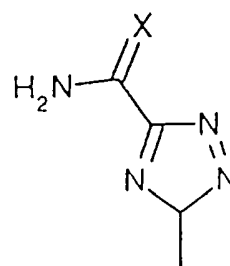
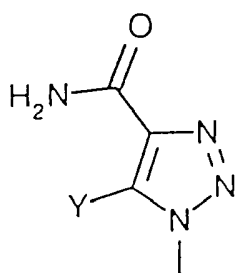
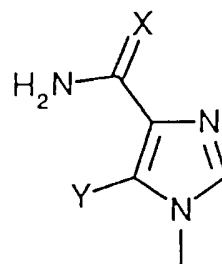
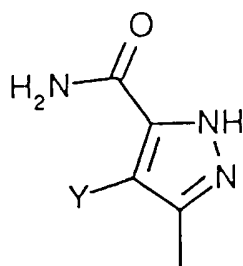
a B' je heterocyklický kruhový systém, vybraný z:

(i)



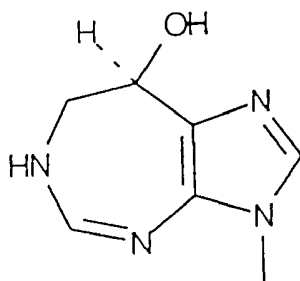
v ktorom $X = O, S, NH$ a $R^1 = NH_2, CH_3, CH_3O$ a $A = NH, S, Se, CH_2, O$; alebo

(ii)



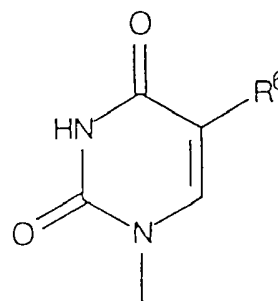
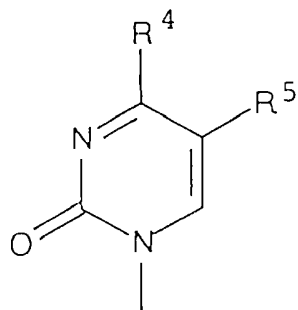
kde $X = NH, S, O$ a $Y = H, OH, F, Cl, Br, I, NH_2, CH_2CN, C\equiv CH$, alebo

(iii)



alebo

(iv)

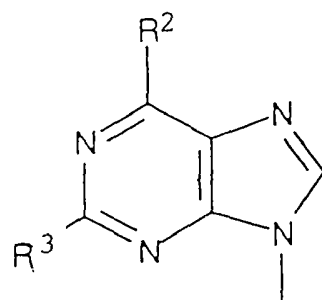


kde $R^4 = H, NH_2, NHOH, NHCOCH_3, NHCH_3, NHNH_2$, a $R^5 = H, F, Cl, Br, I, CH_3, CF_3$,

a $R^6 = \text{CH}_3, \text{F}, \text{I}, \text{CH}=\text{CHBr}, \text{CH}_2\text{OH}, \text{CH}_2\text{NH}_2, \text{C}\equiv\text{CCH}_3,$

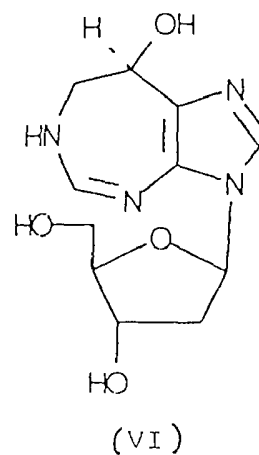
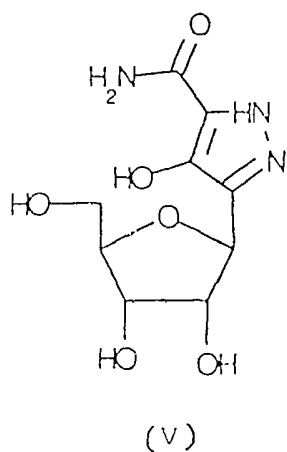
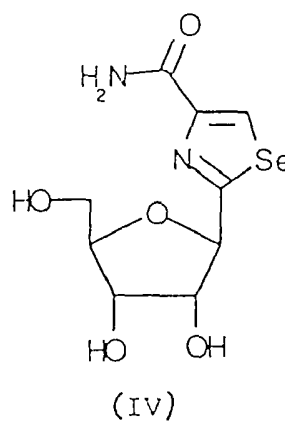
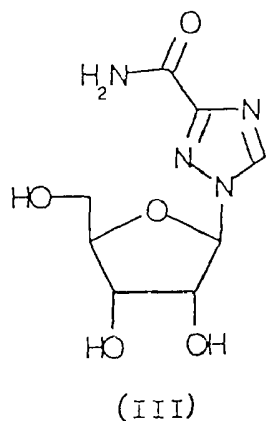
alebo

(v)



kde $R^2 = \text{OH}, \text{SH}, \text{H}, \text{Cl}$ a $R^3 = \text{H}, \text{OH}, \text{Cl}, \text{SH}, \text{NH}_2$.

Príklady týchto nukleozidových analógov sú:



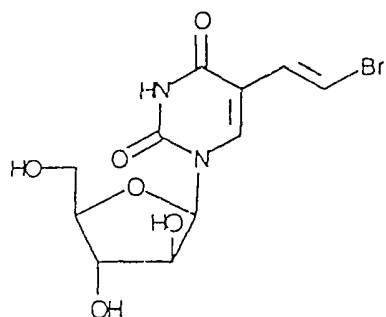
III = 1- β -D-ribofuranozyl-1,2,4-triazol-3-karboxamid
(Ribavirín),

IV = 2- β -D-ribofuranozylselenazol-4-karboxymid (Selenazol),

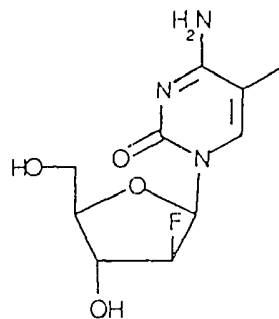
V = 4-hydroxy-3- β -D-ribofuranozylpyrazol-5-karboxamid

(Pyrazofurín, Pyrazomycín),
VI = 2'-deoxy-koformycín.

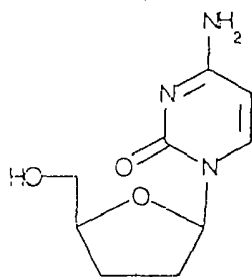
Príklady iných nukleozidových analógov sú:



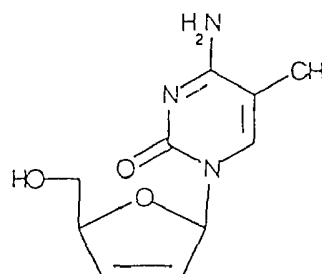
(VII)



(VIII)



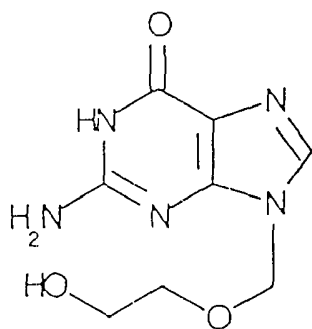
(IX)



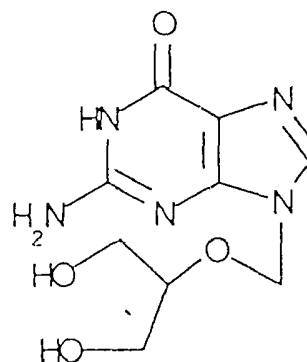
(X)

VII = BVAU, VIII = FIAC, IX = ddC, X = D4T

a

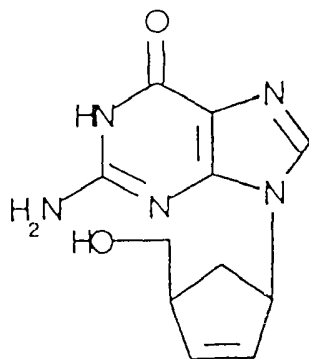


(XI)

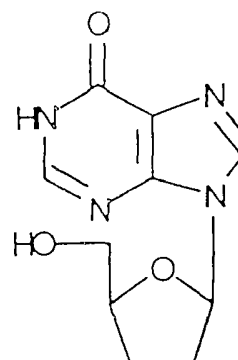


(XII)

XI = Acyklovir, XII = Gancyklovir,



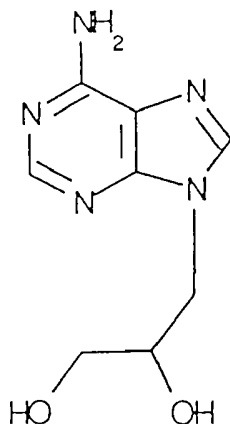
(XIII)



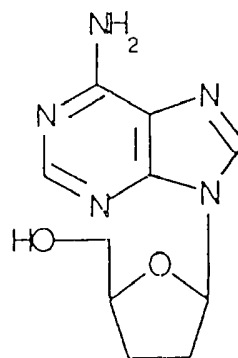
(XIV)

XIII = Carbovir, XIV = ddI

a



(XV)



(XVI)

XV = (S) - DHPA, XVI = ddA.

Z uvedených zlúčenín sú zaujímavé najmä estery mastných kyselín s VI (2'-deoxykofoemycínom) pri liečbe rakoviny, zatiaľ čo estery mastných kyselín s V (Pyrazomycínom) sa môžu použiť ako antibiotiká.

Na označovanie polohy dvojitej väzby v mastných kyselinách sa používajú viaceré systémy. V tejto prihláške sa používa w-sústava [Poznámka - z technických dôvodov sa v preklade použil symbol w, zatiaľ čo správny symbol je malé podčiarnuté písmeno omega] v ktorej sa poloha dvojitej väzby v nenasýtených mastných kyselinách počíta od koncovej metyllovej skupiny. Napríklad kyselina eikosenová (C₂₀:1w-9) má 20 uhlíkových atómov v reťazci, dvojitá väzba sa nachádza medzi 9 a 10 uhlíkovým atómom pri počítaní uhlíkov od konca reťazca.

Zistilo sa, že iba vybraná skupina mastných kyselín môže reagovať s nukleozidovými analógmi za vzniku esterov s výraznou aktivitou podľa tohto vynálezu; sú to len C₁₈ a C₂₀ mononenасыtené mastné kyseliny. Hoci pozorované účinky sa čiastočne odlišujú medzi jednotlivými kyselinami s rovnakou dĺžkou reťazca podľa toho, či je dvojitá väzba v cis alebo trans konfigurácii, obidve konfigurácie sú silne aktívne.

Mastné kyseliny C₁₈ alebo C₂₀ w-9, ktoré sú viazané k nukleozidovým analógom a majú prekvapivo zvýšený účinok

sú:

kyselina olejová (C18:1, w-9, cis), kyselina elaidová (C18:1, w-9, trans), kyselina eikosenová (C20:1, w-9, cis) a (C20:1, w-9, trans).

Výhodní zástupcovia zlúčenín podľa tohto vynálezu sú ďalej uvedené zlúčeniny:

ester kyseliny olejovej s Ribavirinom, ester elaidovej kyseliny s Ribavirinom, ester kyseliny cis-eikosenovej s Ribavirinom, ester kyseliny trans-eikosenovej s Ribavirinom, ester kyseliny olejovej so Selenazolom, ester kyseliny elaidovej so Selenazolom, ester kyseliny cis-eikosenovej so Selenazolom, ester kyseliny trans-eikosenovej so Selenazolom, ester kyseliny olejovej s Pyrazomycínom, ester elaidovej kyseliny s Pyrazomycínom, ester kyseliny cis-eikosenovej s Pyrazomycínom, ester kyseliny trans-eikosenovej s Pyrazomycínom, ester kyseliny olejovej s 2-deoxy-koformycínom, ester elaidovej kyseliny s 2-deoxy-koformycínom, ester kyseliny cis-eikosenovej s 2-deoxy-koformycínom, ester kyseliny trans-eikosenovej s 2-deoxy-koformycínom, ester kyseliny olejovej s d4T, ester elaidovej kyseliny s d4T, ester kyseliny cis-eikosenovej s d4T, ester kyseliny trans-eikosenovej s d4T, ester kyseliny olejovej s ddC, ester elaidovej kyseliny s ddC, ester kyseliny cis-eikosenovej s ddC, ester kyseliny trans-eikosenovej s ddC, ester kyseliny olejovej s ddI, ester elaidovej kyseliny s ddI, ester kyseliny cis-eikosenovej s ddI, ester kyseliny trans-eikosenovej s ddI, ester kyseliny olejovej s Karbovirom, ester elaidovej kyseliny s Karbovirom, ester kyseliny cis-eikosenovej s Karbovirom, ester kyseliny trans-eikosenovej s Karbovirom, ester kyseliny olejovej s (S)-DHPA, ester elaidovej kyseliny s (S)-DHPA, ester kyseliny cis-eikosenovej s (S)-DHPA, ester kyseliny trans-eikosenovej s (S)-DHPA, ester kyseliny olejovej s BVARAU, ester elaidovej kyseliny s BVARAU, ester kyseliny cis-eikosenovej s BVARAU, ester kyseliny trans-eikosenovej s BVARAU, ester kyseliny olejovej s BVDU, ester elaidovej kyseliny s BVDU, ester kyseliny

cis-eikosenovej s BVDU, ester kyseliny trans-eikosenovej s BVDU, ester kyseliny olejovej s FIAC, ester elaidovej kyseliny s FIAC, ester kyseliny cis-eikosenovej s FIAC, ester kyseliny trans-eikosenovej s FIAC, ester kyseliny olejovej s EICAR, ester elaidovej kyseliny s EICAR, ester kyseliny cis-eikosenovej s EICAR, ester kyseliny trans-eikosenovej s EICAR, ester kyseliny olejovej s 2 -F ARA-Ribavirínom, ester elaidovej kyseliny s 2 -F ARA-Ribavirínom, ester kyseliny cis-eikosenovej s 2 -F ARA-Ribavirínom, ester kyseliny trans-eikosenovej s 2 -F ARA-Ribavirínom. Ich vzorce sa uvádzajú na obraze 4.

Zlúčeniny podľa tohto vynálezu majú protivírusový účinok a tento vynález zahŕňa farmaceutické alebo veterinárne kompozície, obsahujúce najmenej jednu zlúčeninu so vzorcom I, buď samotnú, alebo v kombinácii s farmaceuticky prípustným nosičom alebo prísadou. V ďalšom texte a v nárokoch sa používa termín farmaceutická kompozícia pre kompozície, použiteľné pri liečbe osôb aj zvierat.

Ďalej sa ukazuje, že určité nukleozidové analógy, modifikované mononenasýtenými mastnými kyselinami, budú vhodné najmä na liečenie určitých vírusových nákaz. Tak sa estery mastných kyselín s Ribavirínom podľa tohto vynálezu javia ako vhodné najmä na liečbu herpesových nákaz.

Podobne sa ukazuje, že zlúčeniny podľa tohto vynálezu, alebo kompozície obsahujúce tieto zlúčeniny sú užitočné pri liečbe chorôb ľudí, spôsobených adenovírusmi, vírusmi chrípky A a B, respiračným syncytiálnym vírusom (RSV), cytomegalovírusom (CMV), papilómovým vírusom, bunyavírusmi, arenavírusmi a HIV.

Ak bolo spomenuté, nevyhnutná imunitná odozva na prekonanie vírusovej nákazy ako je hepatitída, môže sa vyvolať v niektorých prípadoch spoločným podávaním s interferónom.

Ďalej je zrejmé, že estery mastných kyselín podľa tohto vynálezu, alebo kompozície obsahujúce tieto zlúčeniny sú užitočné pri liečbe cicavcov aj mimo človeka, vtákov, napríklad hydiny a moriek, a studenokrvných zvierat, napríklad rýb, trpiacich nákazami vyvolanými : herpesovým vírusom 1,

2, 3, 4 hovädzieho statku, herpesovým vírusom 1, 2, 3 koní, herpesovým vírusom 1, 2 ošípaných, fázovaným herpesovým vírusom 1, 2 (Markova choroba) a IPN (Infectious Pancreas Necrosis) vírusom.

V závislosti od druhu vírusovej infekcie, ktorá sa má liečiť a v akom štádiu je nákaza rozvinutá, alebo od toho, či je pacient človek alebo zviera, môže sa zvoliť systémové alebo miestne podávanie uvedených zlúčenín.

Na miestne podávanie sa zlúčeniny môžu formulovať známym spôsobom na podávania na pokožku alebo na sliznicu v akejkoľvek vhodnej forme.

Na miestne podávanie môžu sa zlúčeniny so vzorcom I formulovať ako masť, krém, gél, tinktúra, sprej, pleťová voda a podobné formy, obsahujúce zlúčeninu so vzorcom I v zmesi s inertným, tuhým alebo tekutým nosičom, ktorý je zvyčajný v prípravkoch na miestne podávanie. Osobitne vhodné je použiť formuláciu, ktorá chráni aktívnu zložku proti oxidácii alebo degradácii.

Farmaceutické prípravky obsahujúce zlúčeniny so vzorcom I sa môžu tiež podávať systémovo, buď cez zažívací trakt alebo mimo neho.

Ak sa podávajú cez zažívací trakt, tak sa môžu zlúčeniny so vzorcom I formulovať napríklad ako mäkké alebo tvrdé želatínové kapsule, tablety, granule, zrnká alebo prášky, dražé, sirupy, suspenzie alebo roztoky.

Ak sa podávajú parenterálne, potom sú vhodné prípravky obsahujúce zlúčeniny so vzorcom I vo forme injekčných alebo infúzných roztokov, suspenzií alebo emulzií.

Prípravky môžu obsahovať inertné alebo farmakodynamicky aktívne prísady. Tablety alebo granuláty môžu napríklad obsahovať celý rad spojivových látok, plnidiel, nosičových látok alebo riedidiel. Tekuté prípravky sa môžu predkladať napríklad vo forme sterilných roztokov. Kapsule môžu popri aktívnej látke obsahovať aj plnivo alebo zahusťovaciu prírodu. Navyše môžu byť prítomné prísady zlepšujúce chuť ako aj látky zvyčajne používané ako konzervačné prísady, stabilizátory, vlhkosť udržiavajúce prísady, a emulgátory, soli na ov-

plyvnenie osmotického tlaku, pufre a iné aditíva.

Dávky v ktorých sa prípravky podľa tohto vynálezu podávajú sa menia podľa spôsobu a cesty užívania, ako aj podľa nárokov pacienta. Vo všeobecnosti bude denná dávka pri systémovej liečbe priemerného dospelého pacienta alebo zvierata asi 0,1 až 100 mg/kg telesnej hmotnosti za deň, prednostne 1 až 20 mg/kg a deň. Na miestne podávanie môže vhodná masť obsahovať 0,1 až 10 % hmotnostných farmaceutickej formulácie, výhodne 0,5 až 5 % hmotnostných.

Ak sa vyžaduje, môže farmaceutický prípravok obsahujúci zlúčeninu so vzorcom I obsahovať antioxidant, napríklad tokoferol, N-metyl-tokoferamín, butylovaný hydroxyanizol, kyselínu askorbovú, alebo butylovaný hydroxytoluén.

Vynález ďalej opisuje spôsob liečenia vírusových nákaz, ktorý zahŕňa podávanie najmenej jednej zlúčeniny so vzorcom I osobe alebo zvieratu, ktoré toto liečenie potrebuje.

Vynález ďalej ešte zahŕňa spôsob liečby pacienta, ktorý toto liečenie potrebuje, kombináciou zlúčeniny so vzorcom I a interferónu.

Biologické účinky

Tkanivové kultúry IPN vírusu

Prípravok s IPN vírusom (1000 pfu) sa zaočkoval a inkuboval za pretrepávania počas 1 hodiny pri 20 °C na monovrstve CHSE-214 buniek. K bunkám sa pridá malý objem rastového prostredia, obsahujúceho protivírusové činidlo. Bunky sa potom kultivujú (48 hodín) do objavenia sa CPE v kontrolnej vzorke. Potom sa bunky uložia v mrazničke cez noc. Po roztopení nasleduje odstredenie, supernatant sa pridá v piatich urovniah zriedenia k monovrstve čerstvo pripravenej kultúry na 96 jamkovej platni. CPE sa zaznamená po 48 hodinách a vypočíta sa vírusový titer ako TCID₅₀.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Na priložených výkresoch obrázky 1, 2, 3 znázorňujú výsledky skúšok, ktoré sú ďalej podrobnejšie opísané.

Obrázok 1 znázorňuje inhibičný účinok esteru elaidovej kyseliny s ribavirínom pri troch koncentračných úrovniach. Vírus je celkom zničený pri dvoch vyšších úrovniach dávok a zníženie vírusového titra je poriadku 10^4 aj pri nízkej koncentrácii zlúčeniny.

A. Pokusy In vitro

Postup s počítaním škvŕn (plakov): tkanivová kultúra HSV 1/2 vírusu.

Vírusové prípravky HSV 1 a HSV 2 (tretia pasáž klinického izolátu) sa zriedili na 250 a 100 pfu/jamku a potom sa očkovali na bunky a inkubovali počas 1 hodiny v tkanivovej kultúre s rôznymi radmi buniek.

Infikované bunky sa potom kultivovali počas 48 hodín s protivírusovým činidlom. Kultúry sa zmrazili a roztopili, aby uvoľnili vírus. Pripravili sa zriedenia 1/100 a 1/10000 a pridali sa k čerstvým tkaninovým kultúram. Po inkubačnej dobe 1 hodiny sa pridala karboxymetylcelulóza (CMC) na zabránenie migrácie vírusu medzi bunkami v kultivačnom prostredí. Šírenie vírusu dotykom buniek je naďalej možné a spôsobovalo by vznik plakov.

Jedna škvŕna predstavuje jeden nakažový vírus. Spočítaním škvŕn potom dostaneme spoľahlivú kvantifikáciu počtu nakažových vírusov.

Obrázok 2 znázorňuje inhibičný účinok ribavirínu a 5'-oleyl esteru ribavirínu na HSV 2 kmeň (68495) v HL1 bunkovom rade. Tento vírusový kmeň je relatívne odolný k samotnému ribavirínu, ako možno vidieť z iba malého zníženia vírusového titra. Táto odolnosť bola viac zreteľná u iných skúmaných bunkových radov. Avšak aj pri bunkovom rade, ku ktorému sa vzťahuje obraz 2, je zrejmé, že zavedenie esterovej skupiny

s mononenasytenou mastnou kyselinou ešte stále zvyšuje účinnosť na trojnásobok.

B. Pokusy In vivo

FLC vírusová nákaza myší

Mladé (20 až 25 g) samičky NMRI myší sa nakazili i.p. prípravkom retrovírusu FLC (Friend leukemia Complex). Liečenia sa zahájilo v deň 2 po zaočkovaní vírusom; zvieratá dostali dennú dávku 200 μ l liposomálnej formulácie s koncentráciou 20 μ M skúšanej látky i.p. počas 8 dní. Skupiny zvierat sa utratili 13 a 20 dní po nákaze. Zaznamenala sa hmotnosť tela a sleziny zvierat.

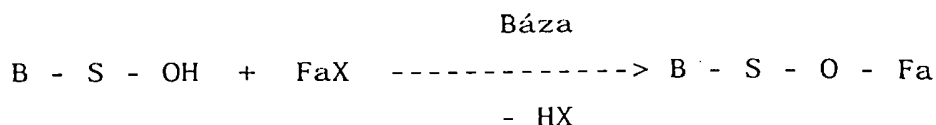
Nákaza FLC vírusom vedie v priebehu 7 až 10 dní k významnému zvýšeniu hmotnosti sleziny, predpokladateľne v dôsledku vysokej koncentrácie leukemických buniek.

Obrázok 3 znázorňuje porovnanie vplyvu AZT, ktoré je hlavným liečivom v liečbe retrovírusovo indukovaných nákaz, ďalej vplyv ddC elaidátu a jemu zodpovedajúceho nasýteného analóga t.zn. ddC stearátu. Údaje sú znázornené ako podiel hmotnosti tela k hmotnosti sleziny; vysoké hodnoty uvedeného pomeru sú charakteristické pre vysoký protiretrovírusový vplyv. Po 13 dňoch je vplyv AZT rovný vysokej hodnote ddC elaidátu. Po 20 dňoch pomery zvierat liečených AZT klesajú na porovnávaciu (kontrolnú) úroveň, zatiaľ čo ddC elaidátom liečené zvieratá vykazujú vysoké hodnoty uvedeného pomeru. Závislosť na druhu mastnej kyseliny je preukazná, ako možno usúdiť vzhľadom na nízke hodnoty (blízke úrovni kontrolných hodnôt) derivátu kyseliny stearovej.

Protivírusové činidlá podľa tohto vynálezu sa pripravili ako 1 mg/ml micelárny zásobný roztok vo vode miešaním s lecitínom a aktívnou prísadou v hmotnostnom pomere 1:1, v sterilnej destilovanej vode.

Príprava zlúčenín

Zlúčeniny so vzorcom I môžu sa všeobecne pripraviť podľa ďalej uvedenej reakčnej rovnice:



kde B, S, O a Fa sú rovnako určené ako hore a X môže byť Cl, Br, O-CO-R', kde R' je Fa, CH₃, CH₂CH₃ alebo CF₃. X môže tiež byť benztriazolová časť esteru benztriazolu mastnej kyseliny.

Reakcia prebieha acyláciou nukleozidového analógu. Dosiahne sa to použitím vhodných reaktívnych derivátov mastných kyselín, osobitne halogenidov alebo anhydridov kyselín. Reaktívne deriváty mastných kyselín môžu byť vopred pripravené, alebo sa môžu vytvárať *in-situ* použitím činidiel ako sú dicyklohexyl-karbodiimid (DCC) alebo O - (1H-benztriazol-1-yl) - N,N,N',N'-tetrametylurónium tetrafluórborát (TBTU). Keď sa použije halogenid kyseliny ako je chlorid kyseliny, pridá sa do reakčnej zmesi terciárny amín (ako je trietylamin, N,N-dimetylanilín, pyridín alebo N,N-dimetylamino-pyridín) ako katalyzátor, ktorý viaže uvoľnenú halogénvodíkovú kyselinu. Tieto reakcie sa výhodne vykonávajú v prostredí nereaktívneho rozpúšťadla ako je N,N-dimetylformamid alebo halogenovaný uhľovodík, ako je dichlórmetán. Ak je potrebný niektorý z hore uvedených terciárnych amínov ako katalyzátor, potom sa môže použiť ako rozpúšťadlo. Pritom treba starostlivo sledovať, aby ho bol vhodný nadbytok. Reakčná teplota sa môže meniť medzi 0 °C a 40 °C, ale výhodne sa udržiava medzi 5 °C a 25 °C. Po 24 až 60 hodinách je reakcia ukončená. Priebeh reakcie sa môže sledovať použitím chromatografie v tenkej vrstve (TLC) a vhodných rozpúšťadlových systémoch. Keď je podľa TLC reakcia dokončená, vzniknutý produkt sa extrahuje organickým rozpúšťadlom a prečistí sa chromatografiou a/alebo sa rekrystalizuje z príslušného rozpúšťadlového systému. Ak je v nukleozidovom anológu viac ako jedna hydroxylová skupina, alebo sú tiež prítomné aminoskupiny, môže vzniknúť zmes acylovaných zlúčenín. Jednotlivé mono- alebo polyacylované zlúčeniny sa môžu deliť napríklad pomocou chromatografie.

Vynález je objasnený príkladmi, ktoré sú v ďalšom texte a ktoré nijako vynález neobmedzujú.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Príklad 1

1-(5'-O-[*cis*-9''-octadecénoyl]- β -D-ribofuranozyl)-1,2,4-triazol-3-karboxamid.

K roztoku 1- β -D-ribofuranozyl)-1,2,4-triazol-3-karboxamidu (ribavirín) ($0,95 \text{ g}$, $3,9 \cdot 10^{-3}$ molu) v 10 ml bezvodého N,N-dimetylformamidu a 15 ml pyridínu sa pridali 2 ml zásobného roztoku *cis*-9-octadecenoylchloridu ($1,34 \text{ g}$, $4,7 \cdot 10^{-3}$ molu) v 6 ml dichlórmetánu a reakčná zmes sa miešala pod ochrannou atmosférou dusíka pri teplote miestnosti. Zvyšný objem zásobného roztoku sa pridal v 2 ml podieloch v približne 8 hodinových intervaloch. Po uplynutí spolu 60 hodinového reakčného času sa rozpúšťadla odparili vo vysokom vákuu, produkt sa čistil na stĺpci silikagélu pomocou 15% -ného roztoku metanolu v chloroforme ako eluačného systému. Homogénne podiely sa odparili, čo poskytlo $1,25 \text{ g}$ (63%) v nadpise uvedenej zlúčeniny vo forme bielej tuhej látky.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : $9,8$ (1H , s, H-5), $7,85$ a $7,65$ ($1+1\text{H}$, s, NH_2), $5,88$ (1H , d, H-1'), $5,65$ (1H , d, OH-2'), $5,35$ (1H , d, OH-3'), $5,32$ (2H , m, CH=CH), $4,35 - 4,25$ (3H , m, H-2', H-3', H-5'), $4,15 - 4,0$ (2H , m, H-4', H-5'), $2,25$ (2H , t, $\text{CH}_2\text{-COO}$), $1,95$ (4H , m, $\text{CH}_2\text{-C=}$), $1,45$ (2H , m, $\text{CH}_2\text{-C-COO}$), $1,25$ (20H , m, CH_2), $0,85$ (3H , t, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : $172,59$ (COO), $160,15$ (CONH $_2$), $157,40$ (C-3), $145,27$ (C-5), $129,46$ (CH=CH), $91,28$ (C-1'), $81,51$ (C-4'), $73,99$ (C-2'), $70,26$ (C-3'), $63,55$ (C-5'), $33,07$, $31,13$, $28,94$, $28,68$, $28,54$, $28,43$, $28,33$, $28,24$, $26,42$, $24,17$, $21,94$ (CH_2), $13,78$ ($\text{CH}_3\text{-CH}_2$).

Príklad 2

1-(5'-O-[*trans*-9''-octadecénoyl]-2,3-dideoxy- β -D-glycero-pent-2-enofuranozyl) tymín.

K roztoku 1-(2,3-dideoxy- β -D-glycero-pent-2-enofuranozyl) tymínu (d4T) (0,83 g, $3,7 \cdot 10^{-3}$ molu) v 10 ml bezvodého N,N-dimetylformamidu a 10 ml pyridínu sa pridali 2 ml zásobného roztoku *trans*-9-octadecenoylchloridu (1,39 g, $4,9 \cdot 10^{-3}$ molu) v 4 ml dichlórmetánu. Reakčná zmes sa miešala pod ochrannou atmosférou dusíka pri teplote miestnosti. Zvyšný zásobný roztok sa pridával v 1 ml dávkach v približne 8 hodinových intervaloch. Po spolu 60 hodinách reakčnej doby sa rozpúšťadla odparili vo vysokom vákuu. Zvyšok sa rozpustil v chloroforme a premyl vodou. Vysušená (MgSO_4) organická fáza sa skoncentrovala a surový produkt sa čistil na stĺpci silikagélu 7 %-ným roztokom metanolu v chloroforme ako elučným systémom. Homogénne podiely sa odparili, čím sa získalo 1,26 g (70 %) v nadpise uvedenej zlúčeniny vo forme bielej tuhej látky.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11,35 (1H, s, NH), 7,25 (1H, s, H-6), 6,81 (1H, m, H-1'), 6,38 (1H, m, H-3'), 6,0 (1H, m, H-2'), 5,35 (2H, m, CH=CH), 4,95 (1H, m, H-4'), 4,2 (2H, m, H-5'), 2,25 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-COO}$), 1,95 (4H, m, $\text{CH}_2\text{-C=}$), 1,75 (3H, s, CH_3), 1,45 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-C-COO}$), 1,25 (2OH, m, CH_2), 0,85 (3H, t, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$).

Príklad 3

5-O-(9'-*trans*-octadecenoyl)-2,3-dideoxy-cytidín.

K suspenzii 2,3-dideoxy-cytidínu (ddC) (1,2 g, $5,7 \cdot 10^{-3}$ molu) v 40 ml bezvodého N,N-dimetylformamidu, obsahujúceho $\text{HCl}_{(g)}$ ($6,3 \cdot 10^{-3}$ molu), sa pridala 1 ml zásobného roztoku *trans*-9-octadecenoylchloridu (1,7 g, $6,0 \cdot 10^{-3}$ molu) v 6 ml dichlórmetánu a reakčná zmes sa miešala pod ochrannou atmosférou dusíka pri teplote miestnosti. Zvyšný zásobný roztok sa pridával v dávkach po 1 ml v približne trojhodinových intervaloch. Po celkovej reakčnej dobe 60 hodín sa rozpúšťadla odparili vo vysokom vákuu. Zvyšok sa rozpustil v chloroforme a premyl vodou. Vysušená (MgSO_4) organická fáza sa skoncentrovala. Zvyšok sa rozpustil v heptáne. Prídavkom petroléteru (40 až 60 ml) vznikla biela tuhá látka (0,7

g), ktorá sa za chladu oddelila. Filtrát sa čistil na stĺpci silikagélu eluáciou s metanolom (0 až 25 %) v octane etyl-natom. Homogénne podiely sa odparili, čím sa získalo ďalších 0,8 g v nadpise uvedenej zlúčeniny (spolu 1,5 g, 55 %).

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 7,63 (1H, d, H-6), 7,1 (2H, d, NH_2), 5,95 (1H, m, H-1'), 5,7 (1H, d, H-5), 5,35 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 4,25 - 4,10 (3H, m, H-4' a H-5'), 2,3 (3H, m, H-2' a $\text{CH}_2\text{-COO}$), 2,0 - 1,6 (7H, m, H-2', a $\text{CH}_2\text{-C=}$), 1,45 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-C-COO}$), 1,25 (20H, m, CH_2), 0,85 (3H, t, CH-CH_2).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 172,67(COO), 165,60 (CNH_2 4), 155,04 (CO 2), 140,45 (CH 6), 130,00 ($\text{CH}=\text{CH}$), 93,62 (CH 5), 85,84 (C 1'), 77,84 (C 4'), 64,87 (C 5'), 33,38, 31,96, 31,30, 29,02, 28,96, 28,86, 28,74, 28,52, 28,46, 28,36, 24,40, 22,11 (CH_2), 31,76, 25,47 (CH 2' a 3'), 13,90 (CH_3).

Príklad 4

5'-O-(9'-*trans*-octadecenoyl)-5-jód-2'-deoxy-uridín.

K roztoku 5-jód-2'-deoxyuridínu (1,0 g, $2,8 \cdot 10^{-3}$ molu) v 10 ml bezvodého N,N-dimetylformamidu a 15 ml pyridínu sa pridal 1 ml zásobného roztoku *trans*-9-octadecenoylchloridu (1,12 g, $3,95 \cdot 10^{-3}$ molu) v 4 ml dichlórmetánu a reakčná zmes sa miešala pod ochrannou atmosférou dusíka pri teplote miestnosti. Zvyšný zásobný roztok sa pridával v 1 ml podieloch v približne štvorhodinových intervaloch. Po celkovej reakčnej dobe 50 hodín sa rozpúšťadla odparili vo vysokom vákuu. Produkt sa čistil na stĺpci silikagélu s 10 %-ným roztokom metanolu v chloroforme ako eluačným systémom. Podiely obsahujúce produkt sa skoncentrovali a odparok sa rekryštalizoval z etanolu, čím sa získalo 1,43 g (82 %) v nadpise uvedenej zlúčeniny vo forme tuhej bielej látky.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 11,71 (1H, s, NH), 7,95 (1H, s, H-6), 6,08 (1H, t, H-1'), 5,4 (1H, d, OH-3'), 5,35 (2H, m, $\text{CH}=\text{CH}$), 4,2 (3H, m, H-3' a 5'), 3,95 (1H, m, H-4'), 2,35 (2H, t, $\text{CH}_2\text{-COO}$), 2,15 (2H, m, H-2'), 1,95 (4H, m, $\text{CH}_2\text{-C=}$), 1,50 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-C-COO}$), 1,25 (20H, m, CH_2), 0,85

(3H, t, CH₂-C).

¹³C NMR (DMSO-d₆, 75 MHz) δ: 172,16 (COO), 159,90 (C=O 4), 149,50 (C=O 2), 143,89 (C-6), 129,51 (CH=CH), 84,43 (C-4'), 83,65 (C-1'), 69,66 (C-3'), 69,21 (C-5), 63,06 (C-5'), 38,85 (C-2'), 33,01, 31,45, 30,79, 28,51, 28,34, 28,22, 28,01, 27,92, 27,85, 27,46, 23,93, 21,60 (CH₂), 13,43 (CH₃-C).

Príklad 5

5'-O-(9'-*trans*-octadecenoyl)-2,3-dideoxy-inozín.

Roztok kyseliny *trans*-9-oktadecénovej (0,33 g, 1,17·10⁻³ molu), O-(1H-benzotriazol-1-yl)-N,N,N,N-tetrametylurónium-tetrafluórborátu (TBTU), (0,52 g, 1,6·10⁻³ molu) a di-izopropyl-etyl-amínu (0,5 ml) v 6 ml bezvodého N,N-dimetylformamidu sa miešal pod ochrannou atmosférou dusíka pri teplote miestnosti. Pridal sa 2,3-dideoxy-inozín (0,19 g, 0,8·10⁻³ molu) a reakčná zmes sa miešala 60 hodín. Rozpúšťadlo sa odstránilo vo vysokom vákuu a zvyšok sa rozpustil v chloroforme a premyl vodou. Vysušená (MgSO₄) organická fáza sa skoncentrovala a surový produkt sa čistil na stĺpci silikagélu elúciou 15 %-ným metanolom v chloroforme. Homogénne podiely sa odparili, čím sa získalo 0,25 g (62 %) v nadpise uvedenej zlúčeniny vo forme hnedkastej voskovitej tuhej látky.

¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ: 12,35 (1H, s, NH), 8,22 (1H, s, H-2), 8,05 (1H, s, H-8), 6,25 (1H, dd, H-1'), 5,32 (2H, m, CH=CH), 4,35 - 4,10 (3H, m, H-4'a H-5'), 2,45 (2H, m, H-2'), 2,25 (2H, m, CH₂-COO), 2,10 (2H, m, H-'), 1,95 (4H, m, CH₂-C=), 1,45 (2H, m, CH₂-C-COO), 1,25 (20H, m, CH₂), 0,85 (3H, t, CH₃-C).

¹³C NMR (DMSO-d₆, 75 MHz) δ: 172,65 (COO), 156,57 (C-6), 147,68 (C-3), 145,62 (C-2), 138,07 (C-8), 129,98 (C=C), 124,38 (C-5), 84,33 (C-1'), 78,54 (C-4'), 64,91 (C-5'), 33,25, 31,94, 31,36, 28,99, 28,93, 28,84, 28,71, 28,50, 28,39, 28,32, 24,34, 22,09 (CH₂), 31,27, 26,00 (CH 2 a 3'), 13,88 (CH₃).

Príklad 6

(S)-9-(2-hydroxy-3-O-[9'-*trans*-oktadecenoyl]propyl)-adenín.

K roztoku (S)-9-(2,3-dihydroxypropyl)-adenínu (0,8 g, $3,8 \cdot 10^{-3}$ molu) a N,N-dimetyl- amino-pyridínu (50 mg) v 20 ml bezvodého N,N-dimetylformamidu sa pridala dicyklohexylkarbo-diimid (0,83 g, $4,0 \cdot 10^{-3}$ molu) a reakčná zmes sa miešala pod ochrannou atmosférou dusíka pri teplote miestnosti počas 40 hodín. Rozpúšťadlo sa odparilo vo vysokom vákuu a zvyšok sa opakovane čistil chromatograficky na stĺpci silikagélu s 5 až 15 %-ným roztokom metanolu v chloroforme ako eluačným činidlom. Jedna sada homogénnych podielov sa skoncentrovala, čím sa získalo 0,7 g (38 %) v nadpise uvedenej zlúčeniny vo forme bielej tuhej látky.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 8,12 (1H, s, H-8), 8,05 (1H, s, H-2), 7,20 (2H, br s, NH_2), 5,48 (1H, d, OH 2'), 5,35 (2H, m, CH=CH), 4,3 (1H, m, H-1'), 4,15 (3H, m, H-3' a H-1'), 3,95 (1H, m, H-2'), 2,25 (3H, t, $\text{CH}_2\text{-COO}$), 1,95 (4H, m, $\text{CH}_2\text{-C=}$), 1,45 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-C-COO}$), 1,25 (20H, m, CH_2), 0,85 (3H, t, $\text{CH}_3\text{-C}$).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 172,69 (COO), 155,94 (C-6), 152,30 (C-2), 149,65 (C-4), 141,48 (C-8), 130,02 (CH=CH), 118,57 (C-5), 66,52 (C-2'), 65,44 (C-3'), 46,10 (C-1'), 33,48, 31,98, 31,31, 29,02, 28,87, 28,75, 28,60, 28,52, 28,40, 24,37, 22,12, (CH_2), 13,93 (CH_3).

Z ďalšej sady podielov sa získalo 0,35 g (20 %) izoméneho produktu (S)-9-(3-hydroxy-2-O-[9'-*trans*-oktadecenoyl]-propyl)-adenínu.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 8,12 (1H, s, H-8), 8,05 (1H, s, H-2), 7,20 (2H, br s, NH_2), 5,35 (2H, m, CH=CH), 5,12 (1H, t, OH 3'), 4,35 (1H, m, H-2'), 4,3 (1H, m, H-1'), 3,5 (2H, m, H-3'), 2,15 (2H, t, $\text{CH}_2\text{-COO}$), 1,95 (4H, m, $\text{CH}_2\text{-C=}$), 1,45 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-C-COO}$), 1,25 (20H, m, CH_2), 0,85 (3H, t, CH_3).

^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 75 MHz) δ : 172,17 (COO), 155,96 (C-6), 152,41 (C-2), 149,78 (C-4), 141,11 (C-8), 130,02 (CH=CH), 118,52 (C-5), 72,26 (C-2'), 60,16 (C-3'), 43,21 (C-1'),

33,49, 31,99, 31,32, 29,02, 28,88, 28,75, 28,53, 28,35, 24,21, 22,13 (CH₂), 13,93 (CH₃).

Príklad 7

5'-O-(9''-*trans*-octadecenoyl)-5-etynyl-1-β-D-ribofuranozyl-imidazol-4-karboxamid.

K roztoku 5-etynyl-1-β-D-ribofuranozylimidazol-4-karboxamidu (EICAR) (0,10 g, 0,37·10⁻³ molu) v 5 ml bezvodého N,N-dimetylformamidu a 5 ml pyridínu sa pridal 1 ml zásobného roztoku *trans*-9-oktadecenoylchloridu (0,13 g, 0,45·10⁻³ molu) v 3 ml dichlórmetánu a reakčná zmes sa miešala pod ochrannou atmosférou dusíka pri teplote miestnosti. Zvyšný zásobný roztok sa pridával v 1 ml dávkach v približne 3 hodinových intervaloch. Po celkovej reakčnej dobe 50 hodín sa rozpúšťadla odparili vo vysokom vákuu a produkt sa čistil na stĺpci silikagélu s 15 %-ným roztokom metanolu v chloroforme ako eluačným systémom. Homogénne podiely sa odparili, čím sa získalo 30 mg (15 %) v nadpise uvedenej zlúčeniny vo forme bielej tuhej látky.

¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ: 8,05 (1H, s, H-2), 7,35 a 7,25 (2H, s+s, NH₂), 5,65 (1H, d, H-1'), 5,6 (1H, br d, OH-2'), 5,35 (3H, m, CH=CH a OH-3'), 4,91 (1H, s, C≡CH), 4,3 (1H, m, H-2'), 4,2 (2H, m, H-5'), 4,05 (2H, m, H-3' a H-4'), 2,30 (2H, t, CH₂-COO), 1,95 (4H, m, CH₂-C=), 1,45 (2H, m, CH₂-C-COO), 1,25 (2OH, m, CH₂), 0,85 (3H, t, CH₃).

¹³C NMR (DMSO-d₆, 75 MHz) δ: 172,76 (COO), 162,57 (CONH₂), 139,80 (C-5), 135,82 (C-2), 130,08 (CH=CH), 115,51 (C-4), 91,39 (-C≡), 88,75 (C-1'), 81,78 (C-4'), 73,91 (C-2'), 71,46 (≡CH), 70,09 (C-3'), 63,57 (C-5'), 33,66, 31,95, 31,29, 29,00, 28,84, 28,72, 28,55, 28,50, 28,42, 28,36, 24,49, 22,12 (CH₂), 13,97 (CH₃).

Postupom uvedeným v príkladoch 1 až 7 môžu sa pripraviť ďalšie zlúčeniny so vzorcom I vychádzajúc z východiskových látok, uvedených v tabuľke 1:

T a b u l k a 1

[Pr. = Príklad č.; R(I) = reaktant 1; R(II) = reaktant 2;
P(III) = produkt (3)]

Pr. 8. R(I): R(II): P(III):	2- β -D-ribofuranozyl- selenazol- 4-karboxamid Kyselina olejová 2-(5'-O-oleyl- β -D-ribofuranozyl)- selenazol- 4-karboxamid
Pr. 9. R(I): R(II): P(III):	4-hydroxy-3- β -D-ribofuranozyl-pyrazol- 5-karboxamid Kyselina olejová 4-hydroxy-3-(5'-O- oleyl- β -D-ribofuranozyl)- pyrazol-5-karboxamid
Pr. 10. R(I): R(II): P(III):	2'-deoxy-koformycín Kyselina elaidová 5'-O-elaidyl-2'-deoxy-koformycín
Pr. 11. R(I): R(II): P(III):	2'-deoxy-2'-fluór-5-jód-1- β -D-arabino- furanozyl- cytozín Kyselina elaidová 5'-O-elaidyl-2'-deoxy-2'-fluór-5-jód-1- β -D- arabinofuranozyl- cytozín
Pr. 12. R(I): R(II): P(III):	(E)-5-(2-brómvinyl)-2'-deoxy-uridín <i>cis</i> -11-eikosenová kyselina 5'-O-(<i>cis</i> -11-eikosenoyl)-(E)-5-(2-brómvinyl)- 2'-deoxy-uridín
Pr. 13. R(I): R(II): P(III):	1- β -D-arabinofuranozyl-(E)-5-(2-brómvinyl)- uracil Kyselina olejová 5'-O-(oleoyl)-1- β -D-arabinofuranozyl-(E)-5- (2-brómvinyl)-uracil
Pr. 14. R(I): R(II): P(III):	9-(4-hydroxymetyl-2-cyklopentenyl)-guanín Kyselina olejová 9-(4-oleoylmetyl-2-cyklopentenyl)-guanín
Pr. 15. R(I): R(II): P(III):	2'-deoxy-2'-fluór-1- β -D-arabinofuranozyl- 1,2,4-triazol-3-karboxamid <i>trans</i> -11-eikosenová kyselina 2'-deoxy-2'-fluór-5'-O-(<i>trans</i> -11"-eikose- noyl)-1- β -D-arabinofuranozyl-1,2,4-triazol- 3-karboxamid.

Poznemenáva sa, že všetkými možnými permutáciami reaktantov sa môže získať viac produktov (3), teda reakciou zlúčenín

označovaných ako reaktant (1) s reaktantom (2); napríklad 5'-O-oleyl-2'-deoxy-koformycín, 5'-O-(*cis*-11"-eikosenoyl)-2'-deoxy-koformycín a 5'-O-(*trans*-11"-eikosenoyl)-2'-deoxykoformycín.

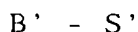
P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Zlúčenina so vzorcom I:



v ktorom O je kyslík, B - S je nukleozidový analóg, v ktorom B znamená voliteľne substituovaný heterocyklický kruhový systém, S je derivát monosacharidu a Fa je acylová skupina mononenásytenej C18 alebo C20 mastnej kyseliny, ktorá je esterifikovaná hydroxylovou skupinou štruktúrneho zoskupenia cukru nukleozidového analóga, alebo hydroxylovou skupinou necyklickej skupiny nukleozidového analóga.

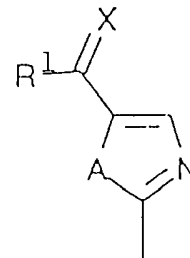
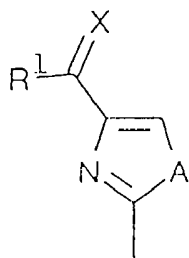
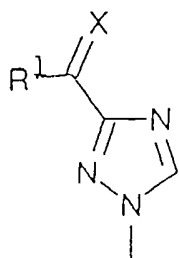
2. Zlúčenina podľa nároku 1, v ktorej B - S môže byť vyjadrené vzorcom II:



v ktorom S' je alebo derivát monosacharidu vybraný z : 1- β -D-ribofuranózy, 1- β -D-arabinofuranózy, 2-deoxy-1- β -D-ribofuranózy, 2,3-dideoxy-1- β -D-ribofuranózy, 2,3-didehydro-2,3-di-deoxy-1- β -D-ribofuranózy, 2-deoxy-2-fluór-1- β -D-arabinofuranózy, 2,3-di-deoxy-3-azido-1- β -ribofuranózy alebo 4-hydroxy-metyl-2-cyklopentén-1-yl, alebo vybrané zo skupiny 2-hydroxy-etoxy-metyl, 4-hydroxy-3-(hydroxy-metyl)-butyl, 2-hydroxy-1-(hydroxymetyl)-etoxy-metyl, 2,3-di-hydroxy-propoxy alebo 2,3-di-hydroxy-propyl);

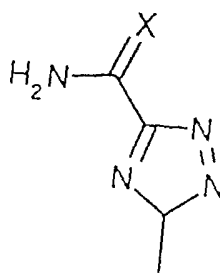
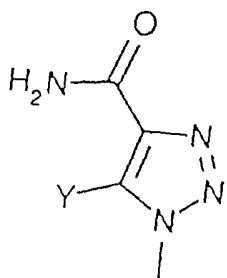
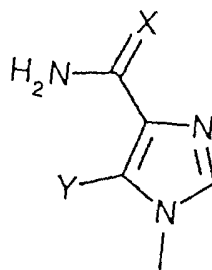
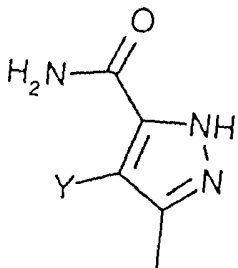
a B' je heterocyklický kruhový systém, vybraný z:

(i)



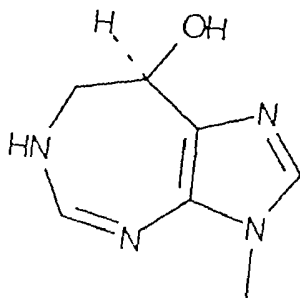
v ktorom $X = O, S, NH$ a $R^I = NH_2, CH_3, CH_3O$ a $A = NH, S, Se,$
 $CH_2, O;$
alebo

(ii)



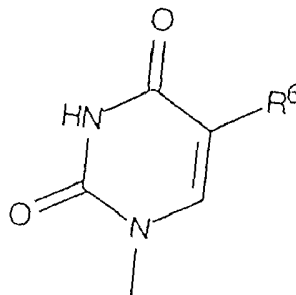
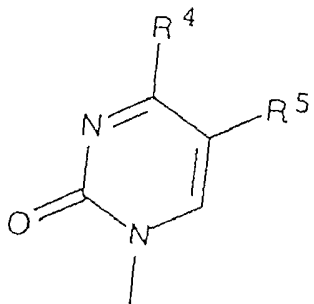
kde $X = NH, S, O$ a $Y = H, OH, F, Cl, Br, I, NH_2, CH_2CN,$
 $C\equiv CH,$
alebo

(iii)



alebo

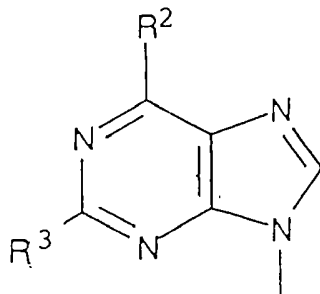
(iv)



kde $R^4 = H, NH_2, NHOH, NHCOCH_3, NHCH_3, NHH_2$, a $R^5 = H, F, Cl, Br, I, CH_3, CF_3$, a $R^6 = CH_3, F, I, CH=CHBr, CH_2OH, CH_2NH_2, C\equiv CCH_3$,

alebo

(v)



kde $R^2 = OH, SH, H, Cl$ a $R^3 = H, OH, Cl, SH, NH_2$;

3. Zlúčenina podľa nároku 2, v ktorej S' - B' je Ribavirin, Selenazol, Pyrazomycin, 2'deoxy-koformycin.

4. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov, v ktorej Fa je kyselina olejová, kyselina elaidová alebo eikosenová kyselina, cis alebo trans.

5. Zlúčenina podľa nároku 1, kde S - B je ribavirin a Fa je kyselina olejová.

6. Zlúčenina podľa nároku 1, kde S - B je kyselina elaidová.

7. Zlúčenina podľa nároku 1, kde S - B je ribavirin a Fa je eikosenová kyselina, cis alebo trans.

8. Farmaceutická kompozícia na liečbu vírusových nákaz, zahrnujúca zlúčeninu podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov ako aj farmaceuticky prijateľný nosič alebo prísadu.

9. Použitie zlúčeniny so vzorcom I na prípravu farmaceutickej kompozície na liečbu vírusových nákaz.

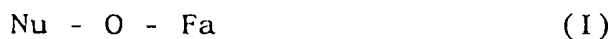
10. Spôsob liečenia pacienta trpiaceho vírusovou nákazou, vyznačujúci sa tým, že sa podáva zlúčenina so vzorcom I podľa nároku 1.

11. Spôsob liečenia vírusovej nákazy, spôsobenej vírusom hepatitídy B vyznačujúci sa tým, že sa podáva zlúčenina podľa nároku 1 v kombinácii s interferónom.

15 04 95

P A T E N T O V É N Á R O K Y nové

1. Monoesterová zlúčenina vzorca I:



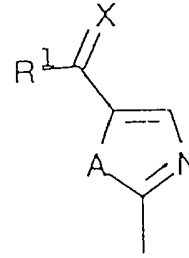
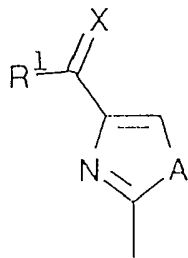
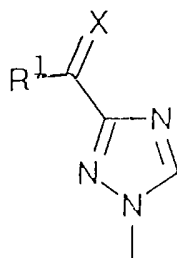
v ktorom O je kyslík, Nu je nukleozidový analóg, Fa je acylová skupina mononenásytenej C18 alebo C20 w-9 mastnej kyseliny, ktorá je esterifikovaná hydroxylovou skupinou v 5'-polohe štruktúrneho zoskupenia cukru nukleozidového analóga, alebo koncovou hydroxylovou skupinou necyklickej skupiny nukleozidového analóga v ktorom Nu znamená skupinu vzorca II



kde S je derivát monosacharidu vybraný z 1- β -D-ribofuranózy, 1- β -D-arabinofuranózy, 2-deoxy-1- β -D-ribofuranózy, 2,3-dideoxy-1- β -D-ribofuranózy, 2,3-didehydro-2,3-di-deoxy-1- β -D-ribofuranózy, 2-deoxy-2-fluór-1- β -D-arabinofuranózy, 2,3-di-deoxy-3-azido-1- β -ribofuranózy alebo 4-hydroxy-metyl-2-cyklopentén-1-yl, alebo vybrané zo skupiny 2-hydroxy-etoxy-metyl, 4-hydroxy-3-(hydroxy-metyl)-butyl, 2-hydroxy-1-(hydroxymetyl)-etoxy-metyl, 2,3-di-hydroxy-propoxy alebo 2,3-di-hydroxy-propyl);

a B je heterocyklický kruhový systém, vybraný z:

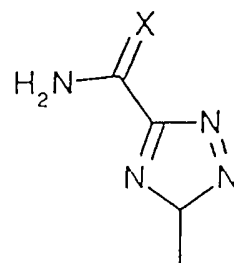
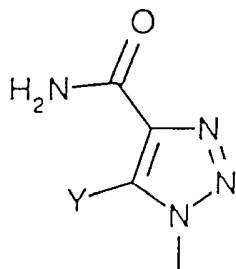
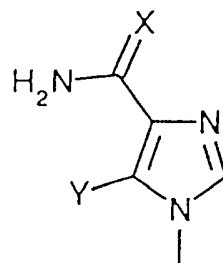
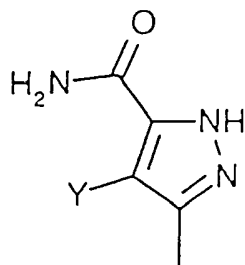
(i)



kde $X = O, S, NH$ a $R^1 = NH_2, CH_3, CH_3O$ a $A = NH, S, Se, CH_2, O$;

alebo

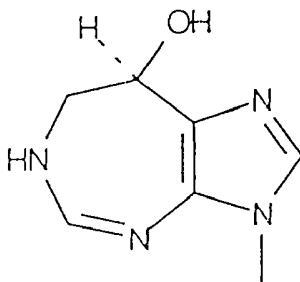
(ii)



kde $X = NH, S, O$ a $Y = H, OH, F, Cl, Br, I, NH_2, CH_2CN, C\equiv CH$,

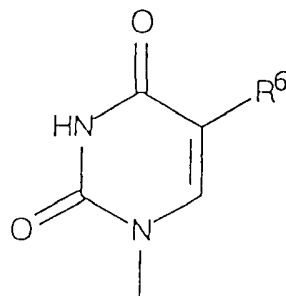
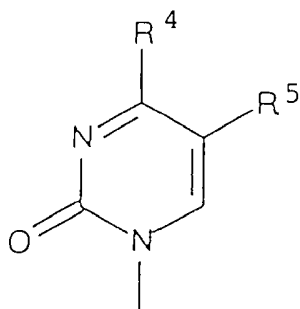
alebo

(iii)



alebo

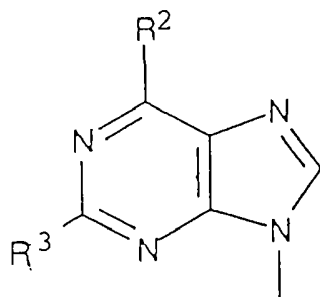
(iv)



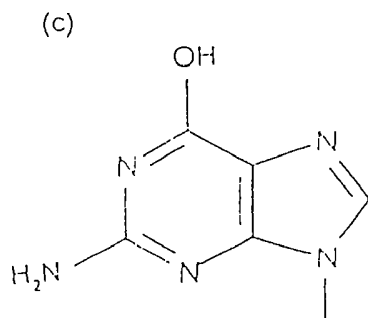
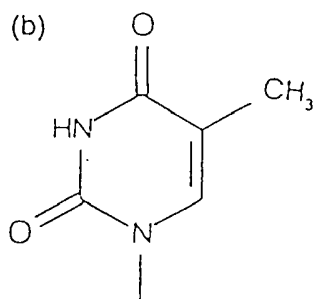
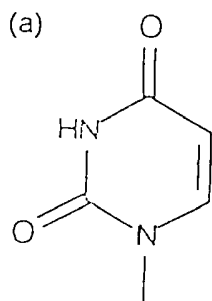
kde $R^4 = H, NH_2, NHOH, NHCOCH_3, NHCH_3, NHNH_2$, a $R^5 = H, F, Cl, Br, I, CH_3, CF_3$, a $R^6 = CH_3, F, I, CH=CHBr, CH_2OH, CH_2NH_2, C\equiv CCH_3$,

alebo

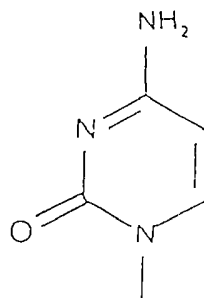
(v)



kde $R^2 = OH, SH, H, Cl$ a $R^3 = H, OH, Cl, SH, NH_2$; za predpokladu, že S je 1- β -D-arabinofuranóza, 2,3-dideoxi-3-azido-1- β -D-ribofuranóza, 2-hydrxy-etoxy-metyl, 4-hydroxy-3-(hydroxymetyl)-butyl, 2-hydroxy-1-(hydroxymetyl)-etoxy-metyl alebo 2,3-di-hydroxy-propoxy, potom B nemôže byť



alebo (d)



2. Zlúčenina podľa nároku 1, v ktorej B - S je Ribavirin, Selenazol, Pyrazomycin, 2'deoxy-koformycin.

3. Zlúčenina podľa nároku 1 alebo 2, kde Fa je kyselina olejová, kyselina elaidová alebo eikosenová kyselina, cis alebo trans.

4. Zlúčenina podľa nároku 1, kde B - S je ribavirin a Fa je kyselina olejová.

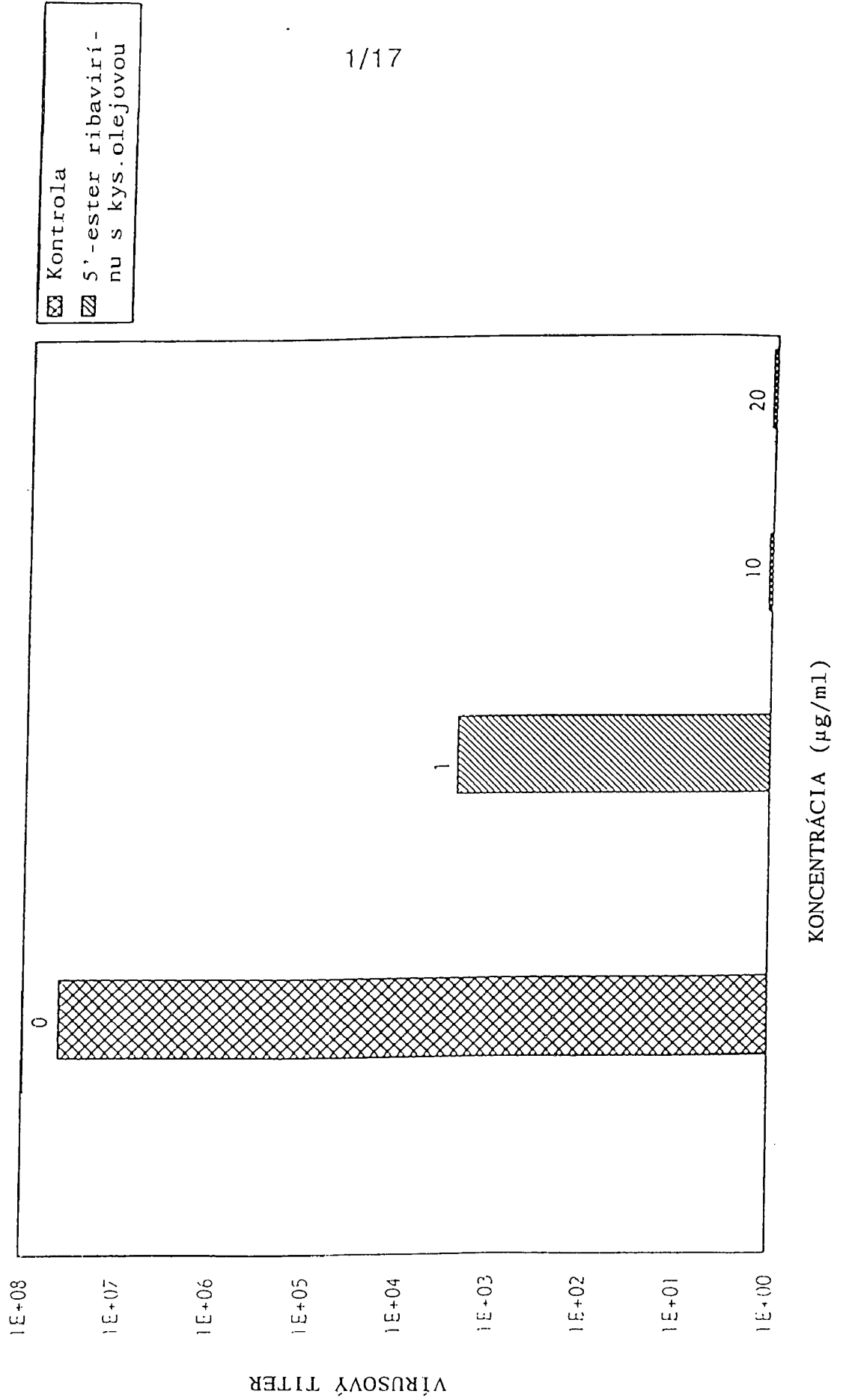
5. Zlúčenina podľa nároku 1, kde B - S je ribavirín a Fa kyselina elaidová.

6. Zlúčenina podľa nároku 1, kde B - S je ribavirin a Fa je kyselina eikosenová, cis alebo trans.

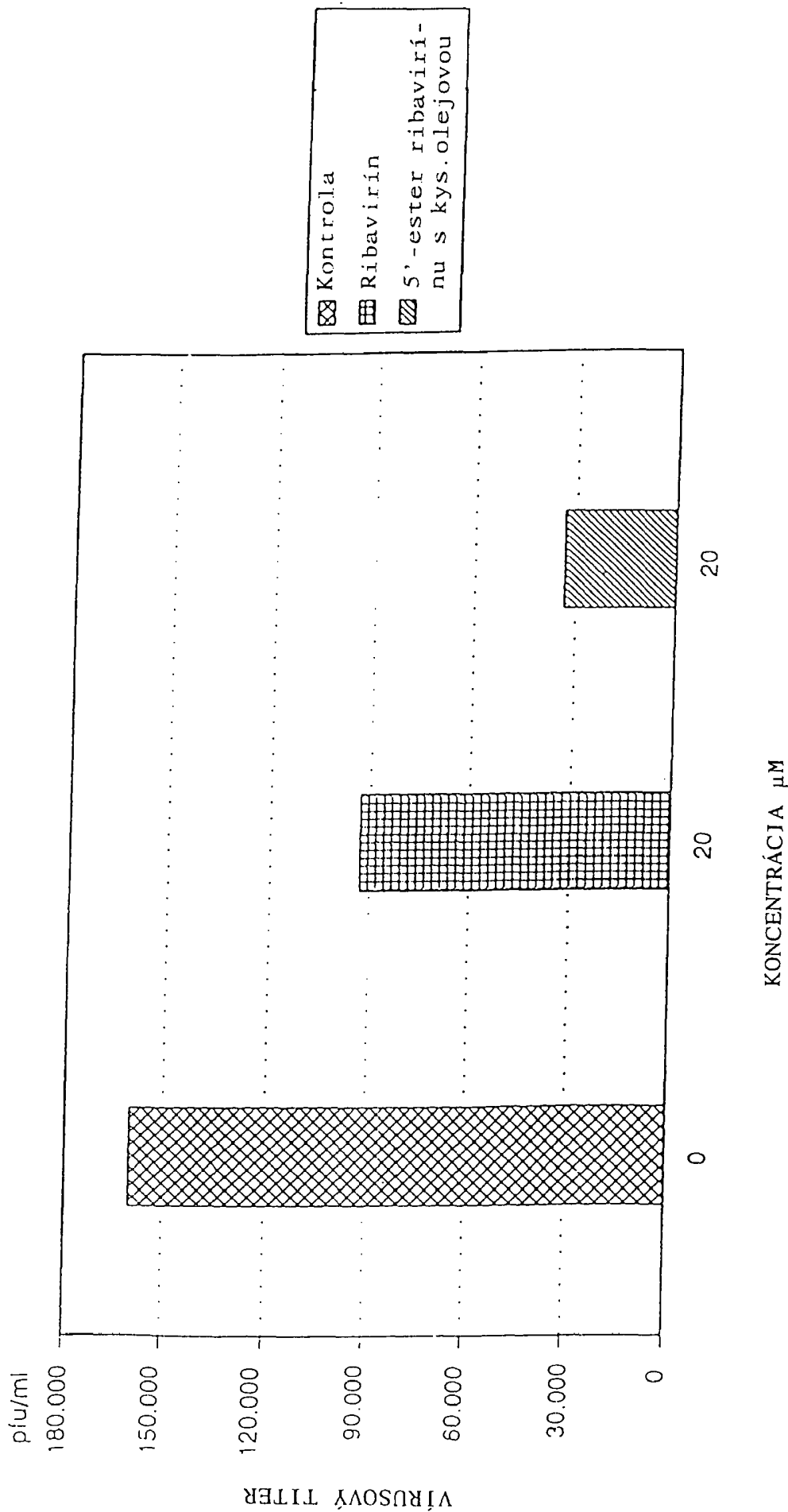
7. Farmaceutická kompozícia na liečbu vírusových nákaz, zahrnujúca zlúčeninu podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov ako aj farmaceuticky prijateľný nosič alebo prísadu.

8. Použitie zlúčeniny so vzorcom I na prípravu farmaceutickej kompozície na liečbu vírusových nákaz.

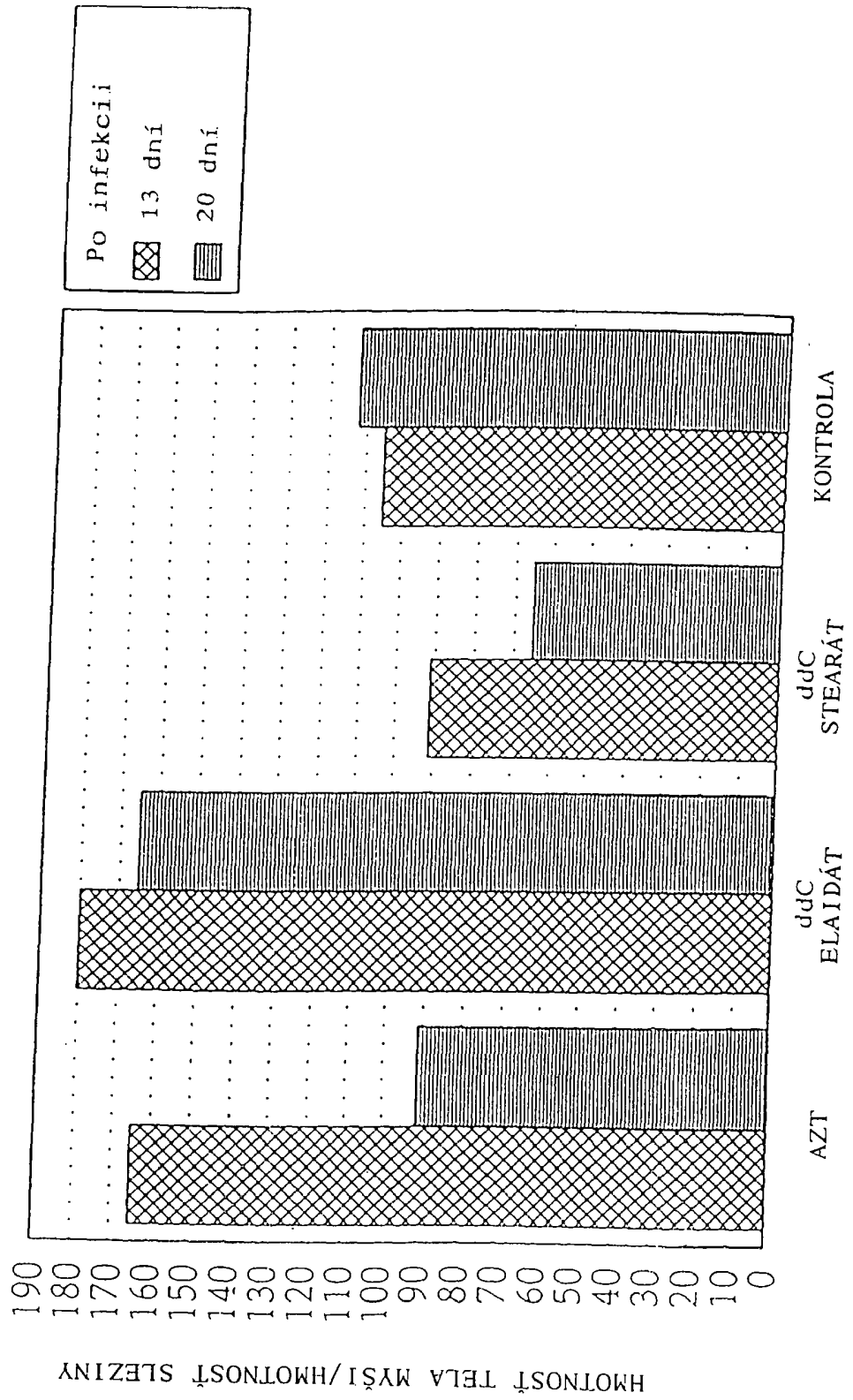
OBR. 1



OBR. 2

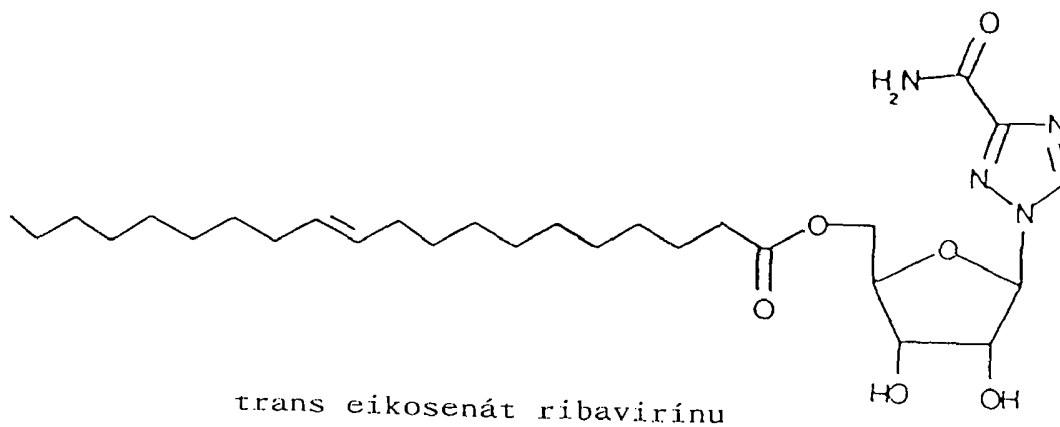
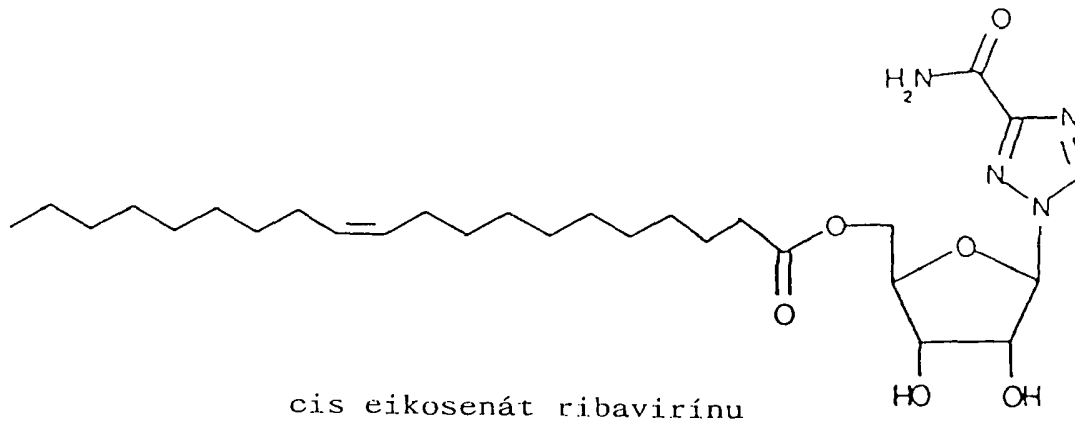
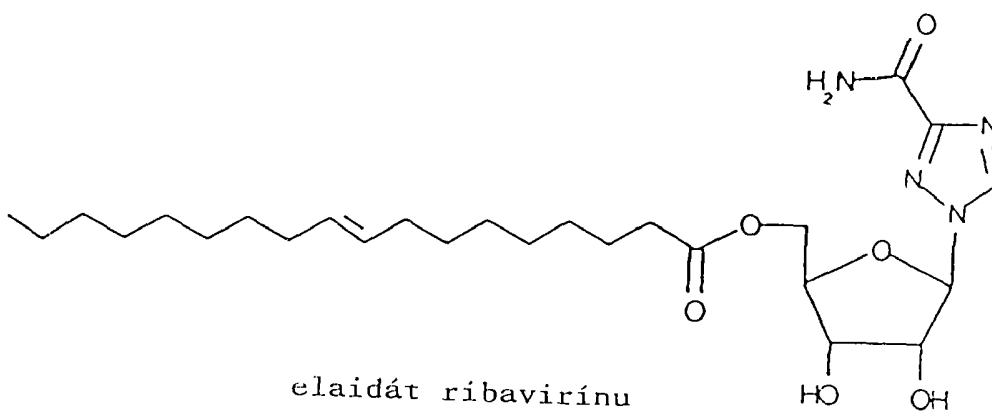
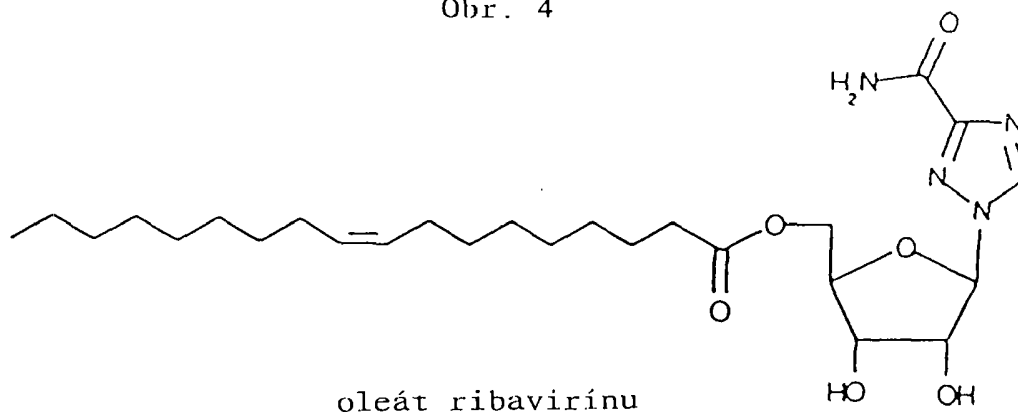


OBR. 3



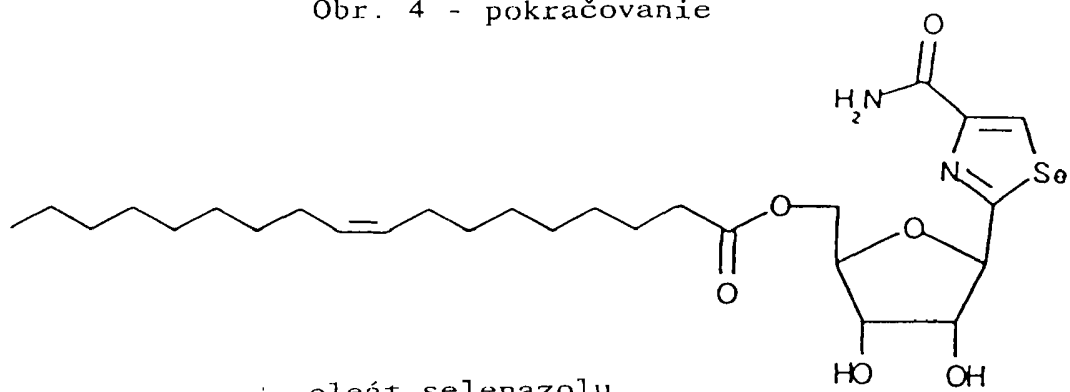
4/17

Obr. 4

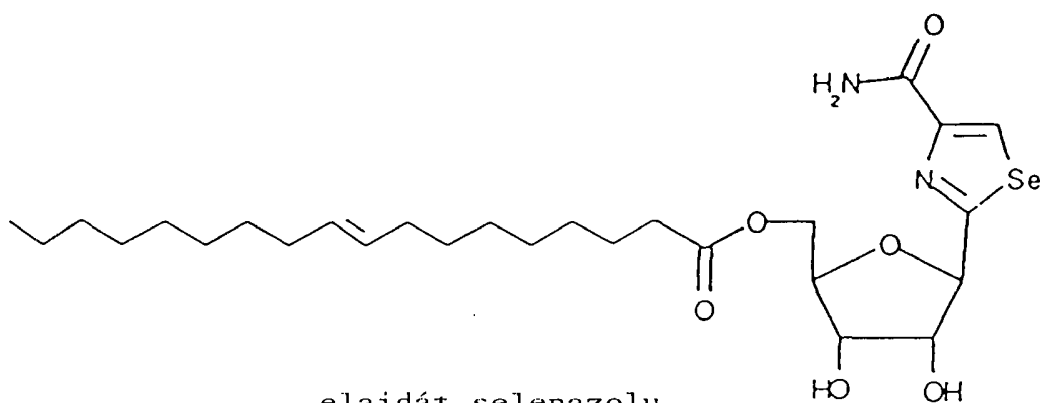


5/17

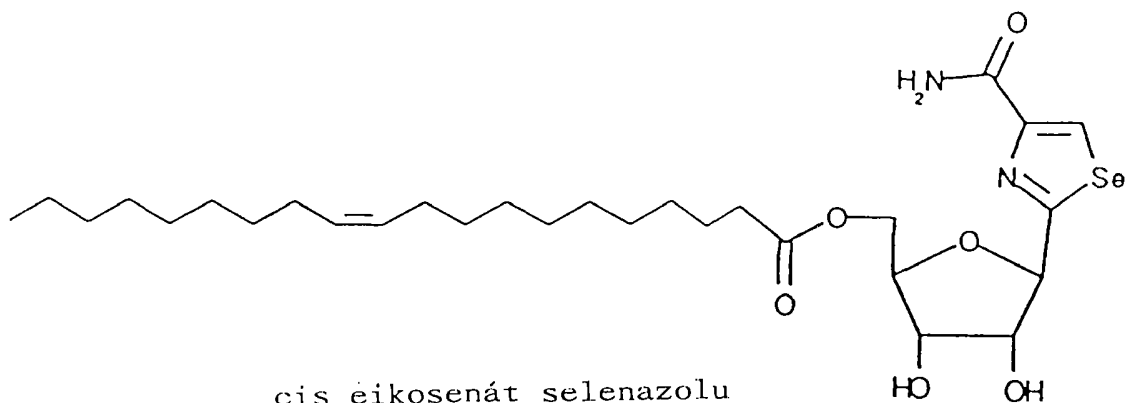
Obr. 4 - pokračovanie



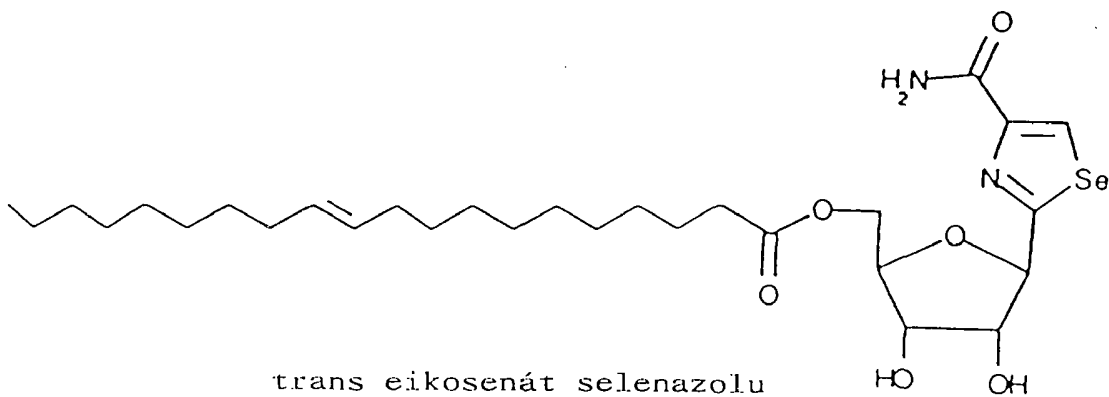
oleát selenazolu



elaidát selenazolu



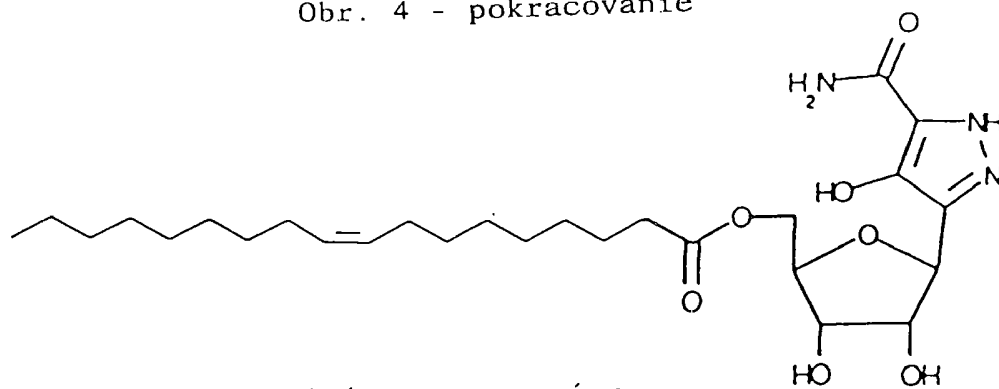
cis eikosenát selenazolu



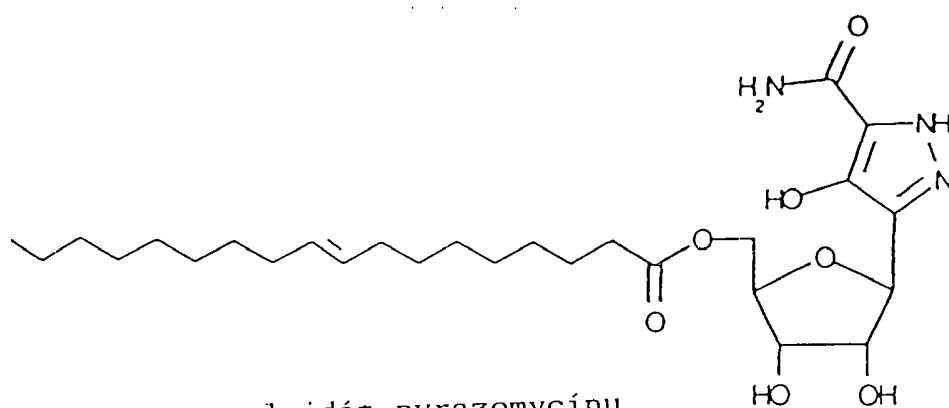
trans eikosenát selenazolu

6/17

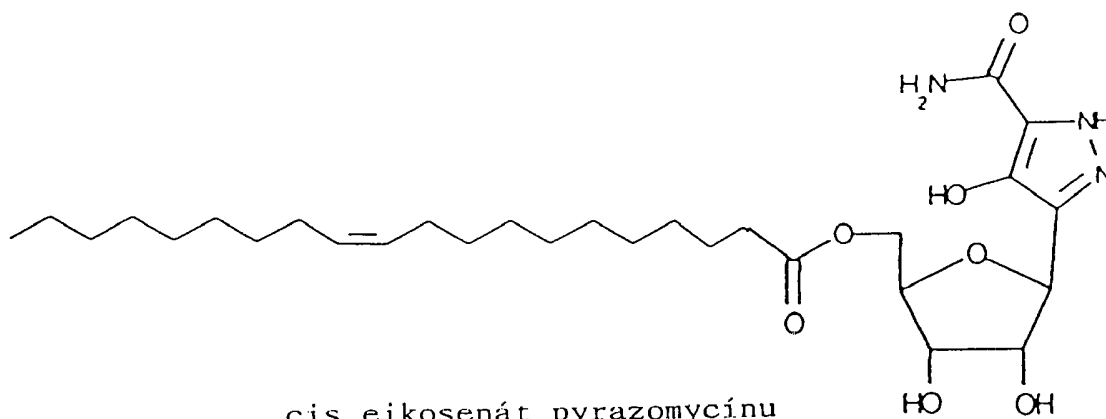
Obr. 4 - pokračovanie



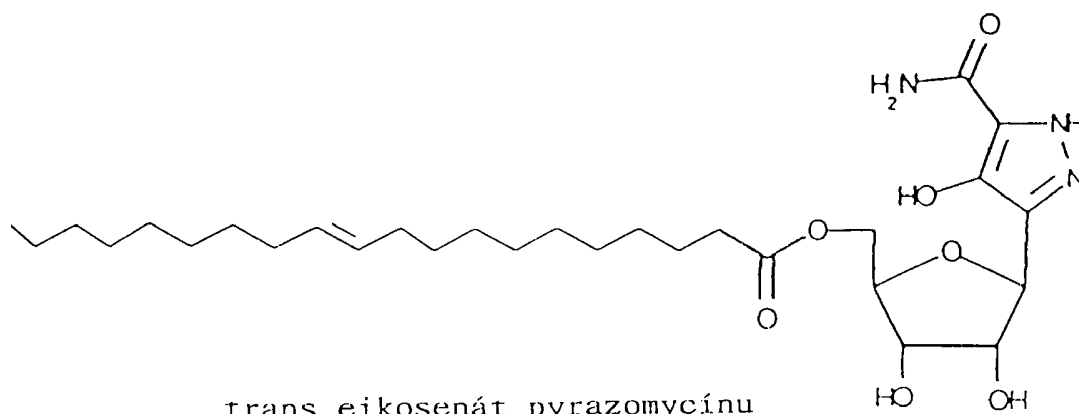
oleát pyrazomycínu



elaidát pyrazomycínu

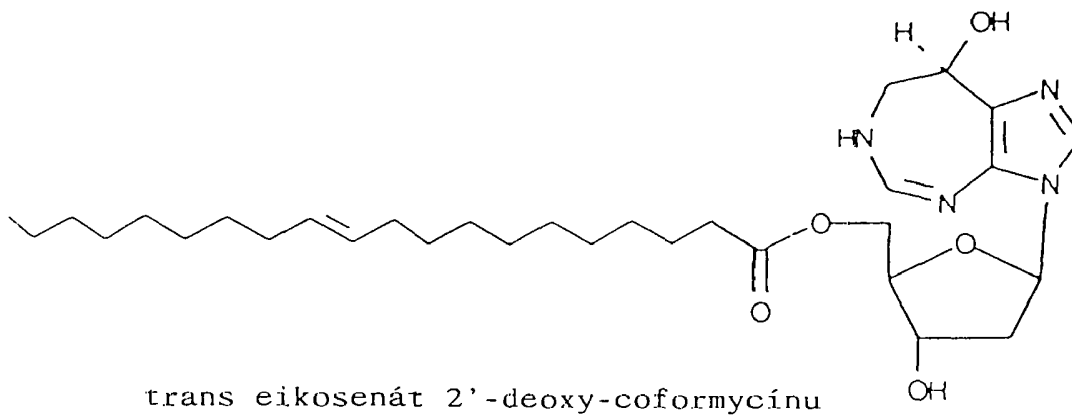
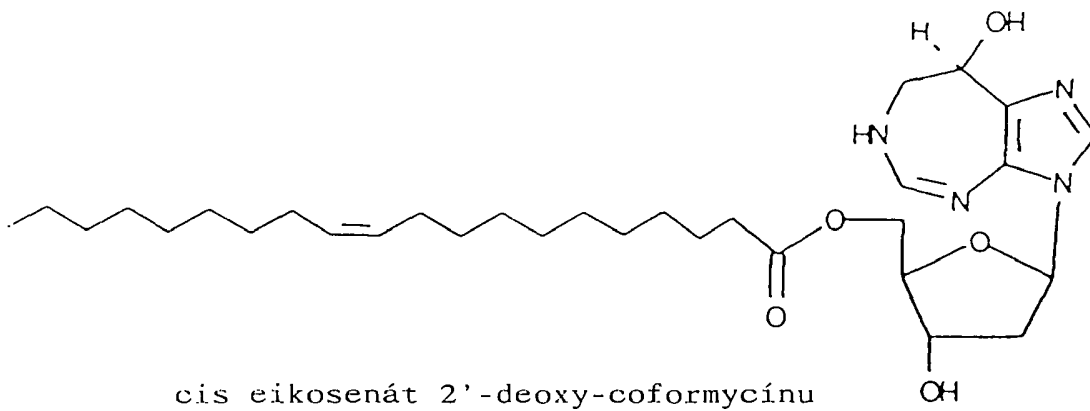
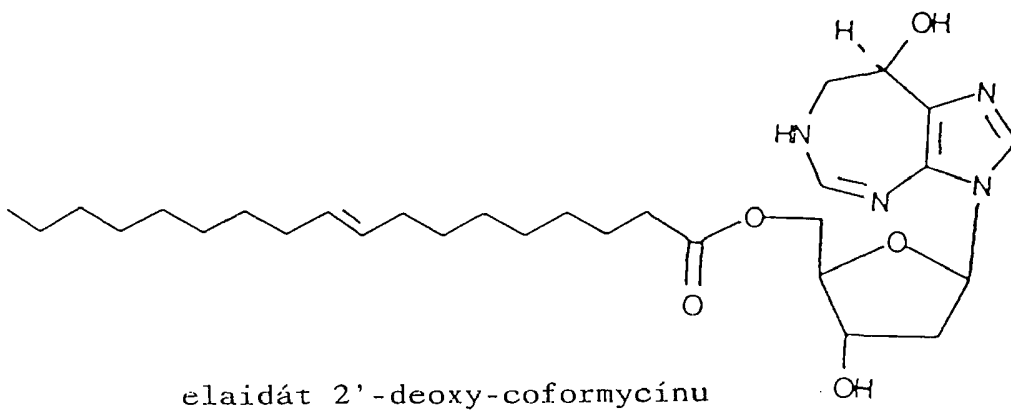
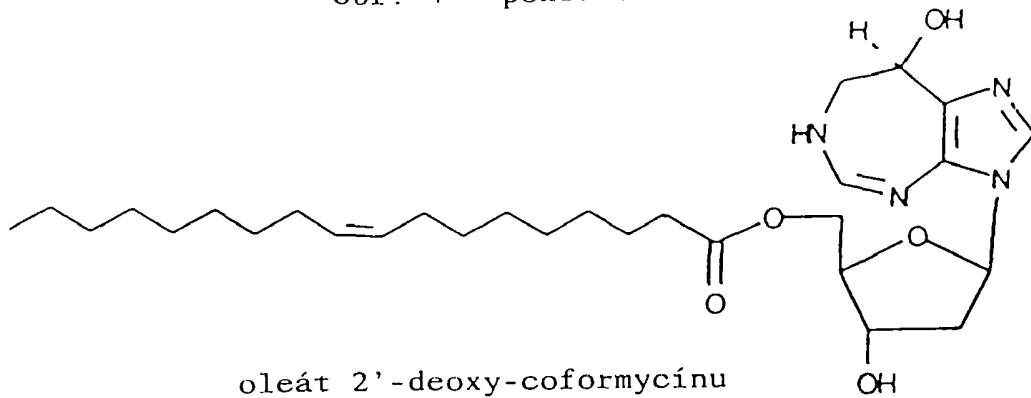


cis eikosenát pyrazomycínu



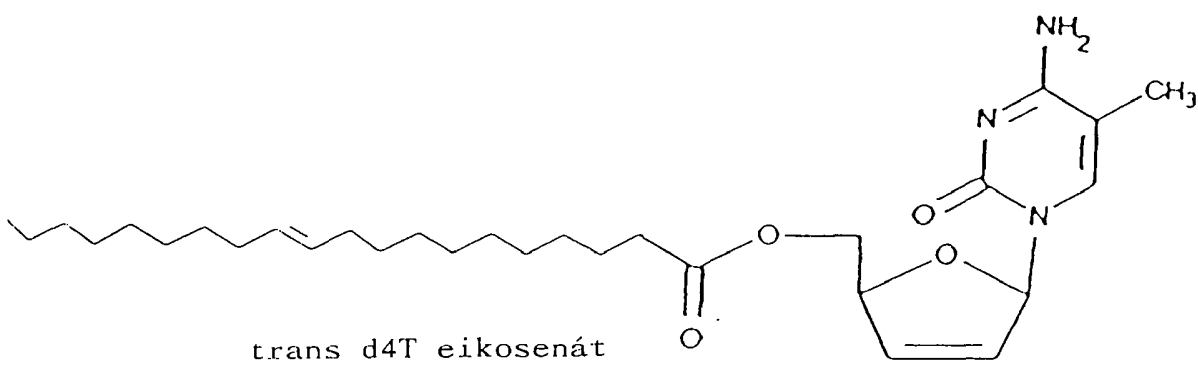
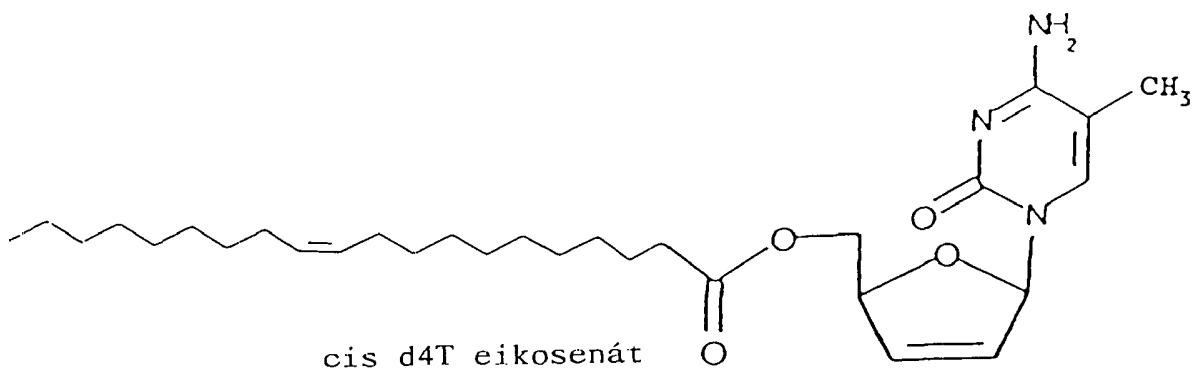
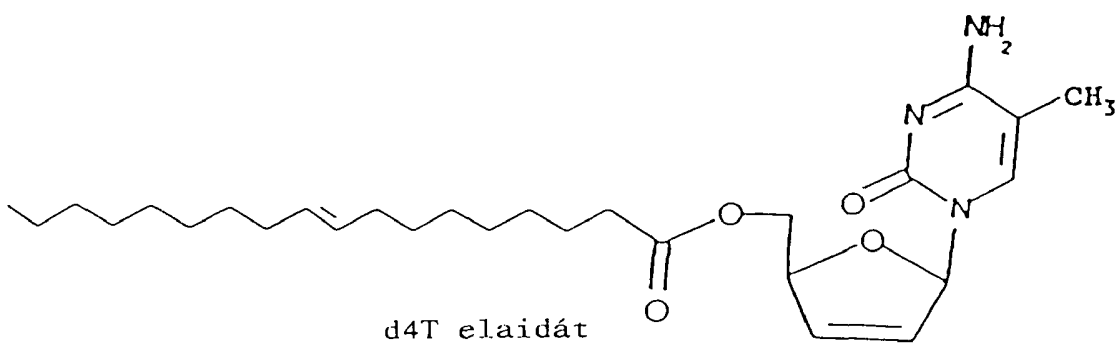
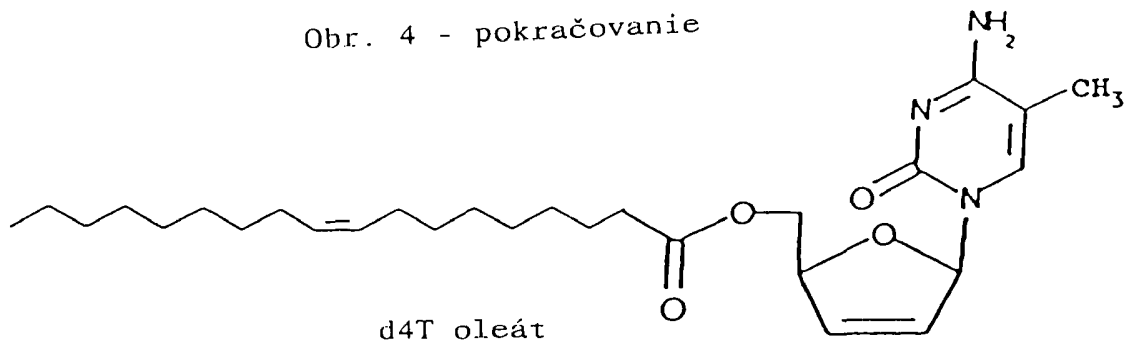
trans eikosenát pyrazomycínu

Obr. 4 - pokračovanie



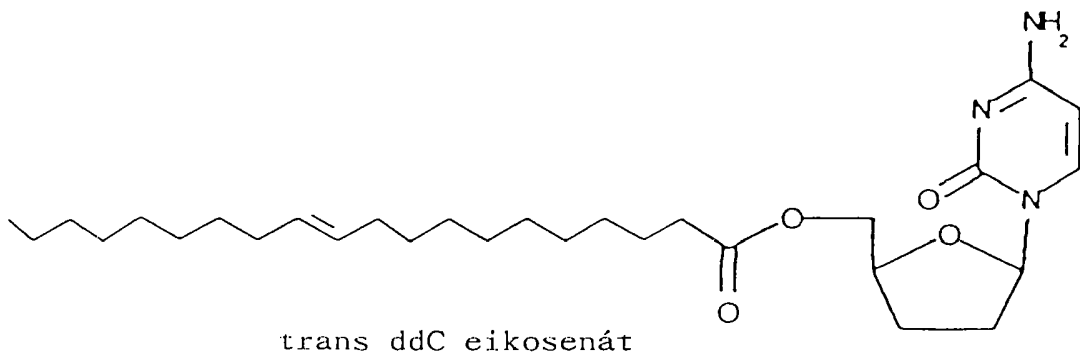
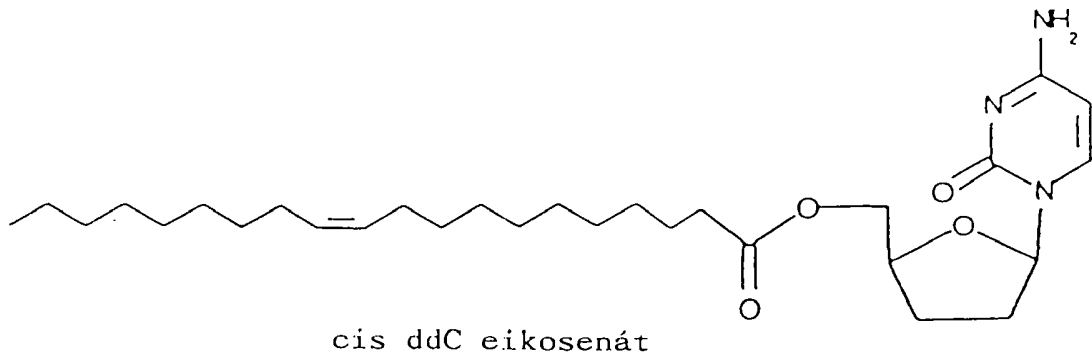
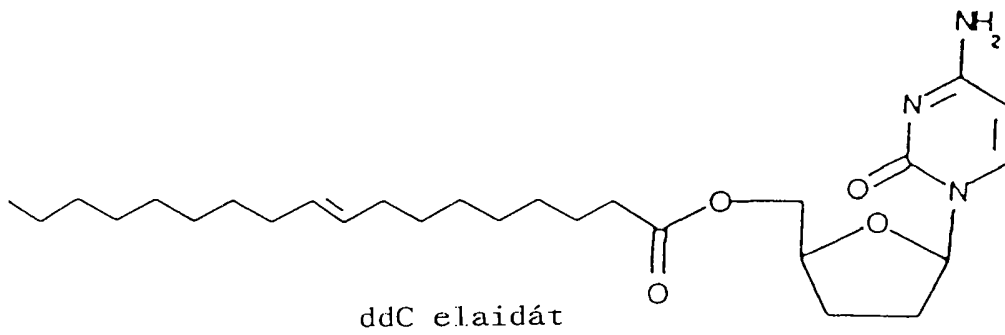
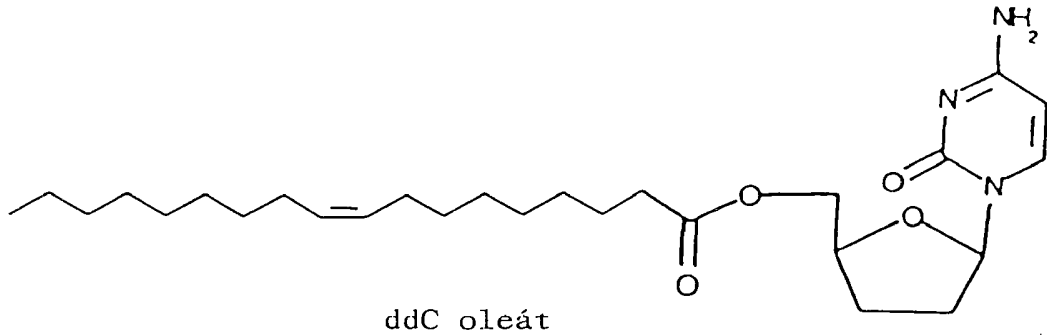
8/17

Obr. 4 - pokračovanie



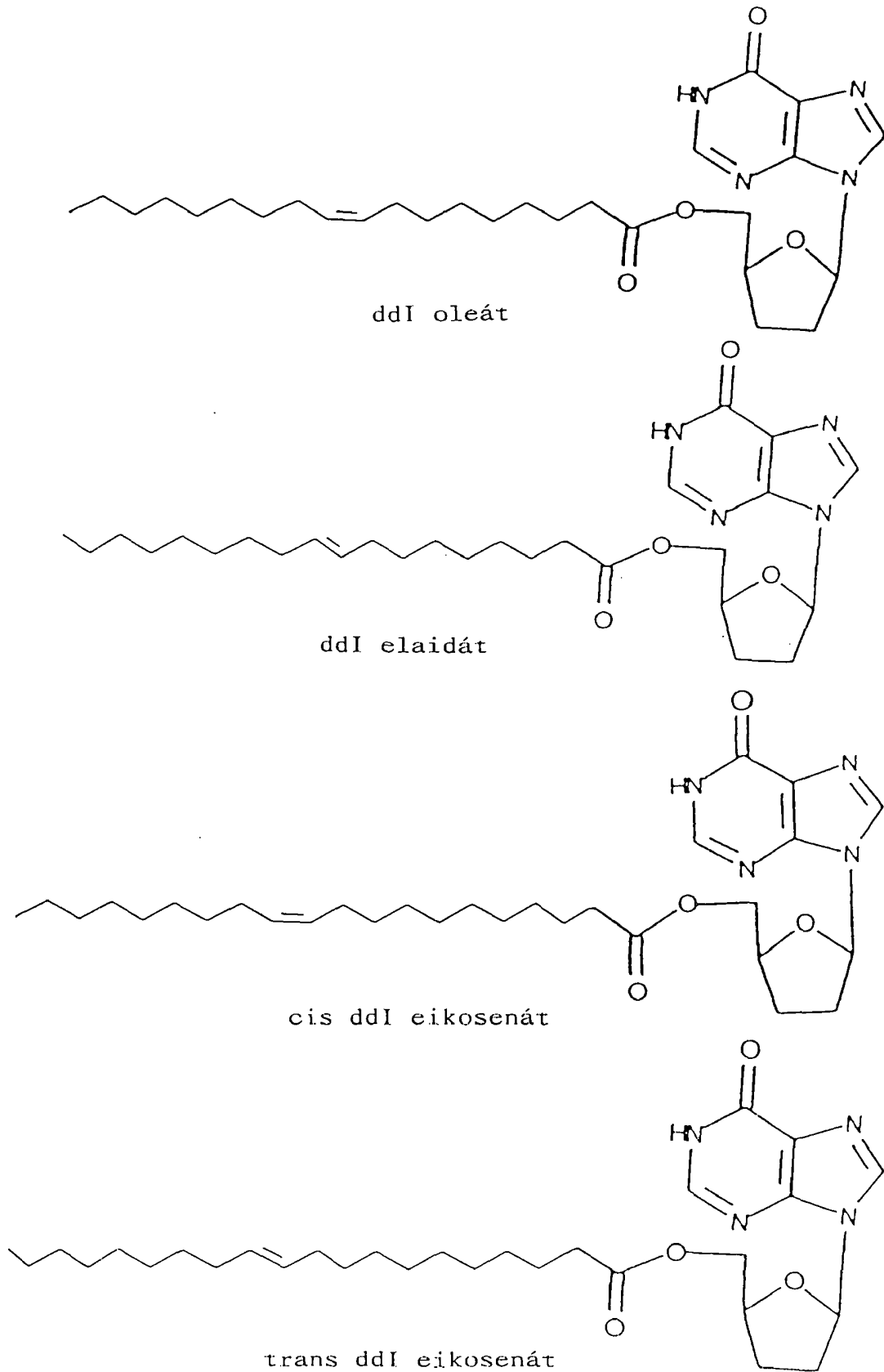
9/17

Obr. 4 - pokračovanie



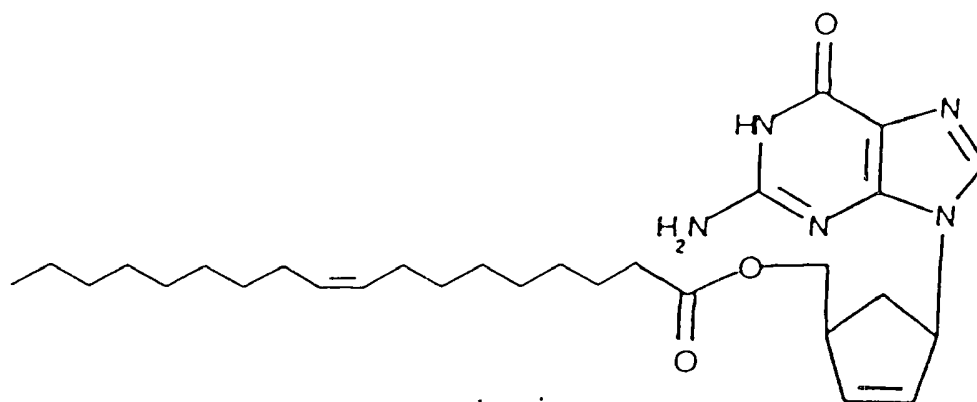
10/17

Obr. 4 - pokračovanie

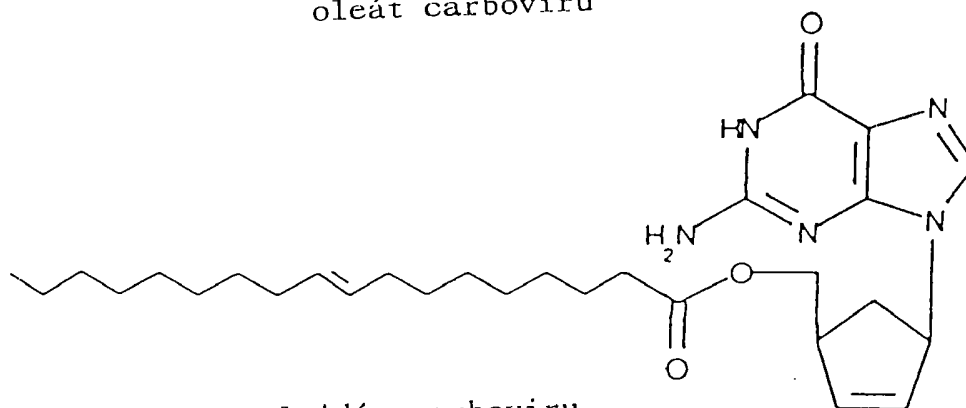


11/17

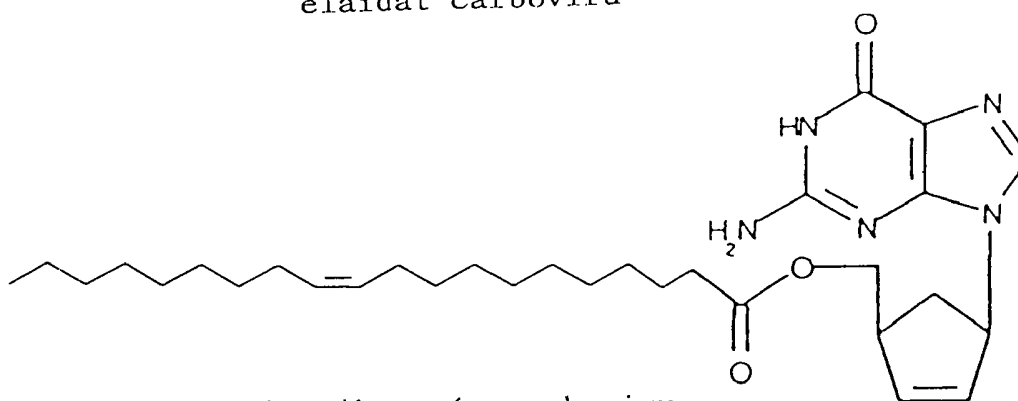
Obr. 4 - pokračovanie



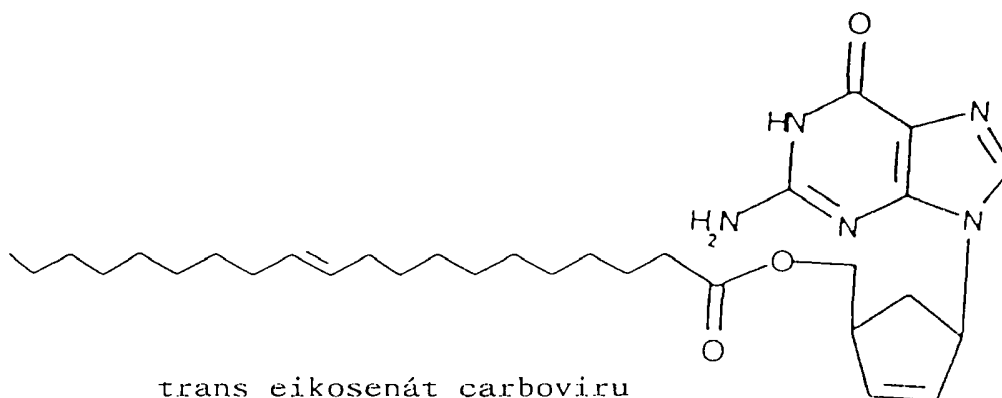
oleát carboviru



elaidát carboviru



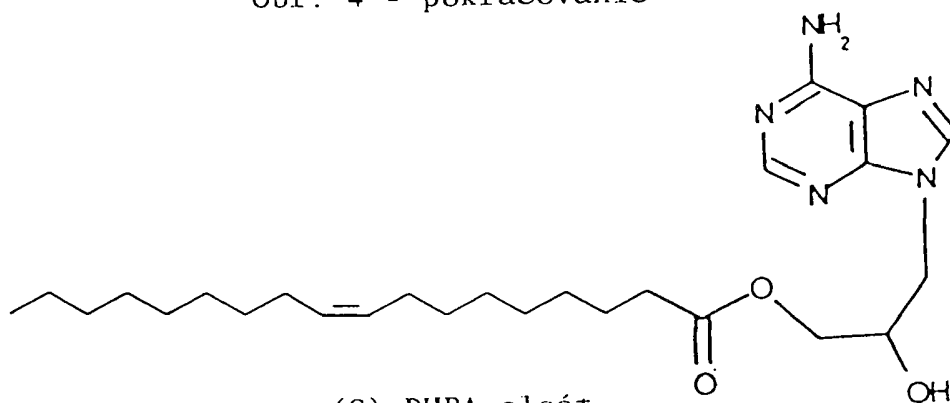
cis eikosenát carboviru



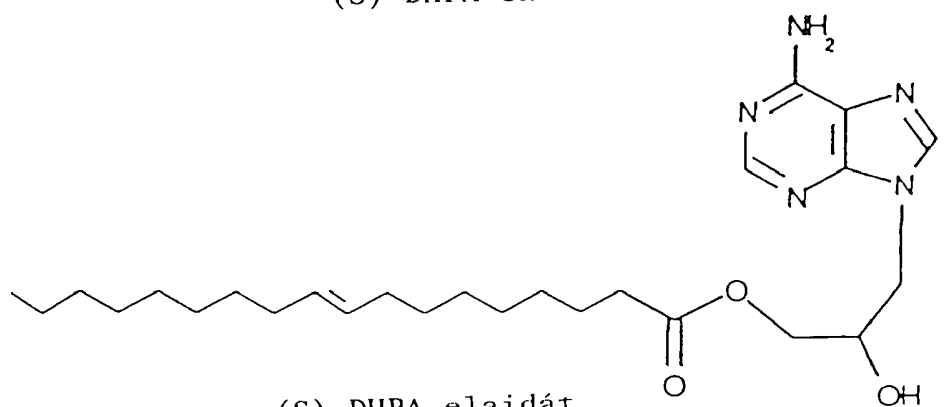
trans eikosenát carboviru

12/17

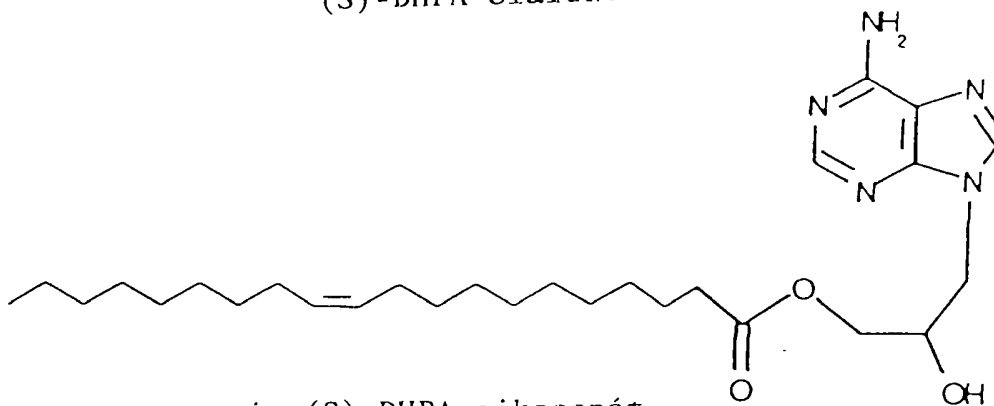
Obr. 4 - pokračovanie



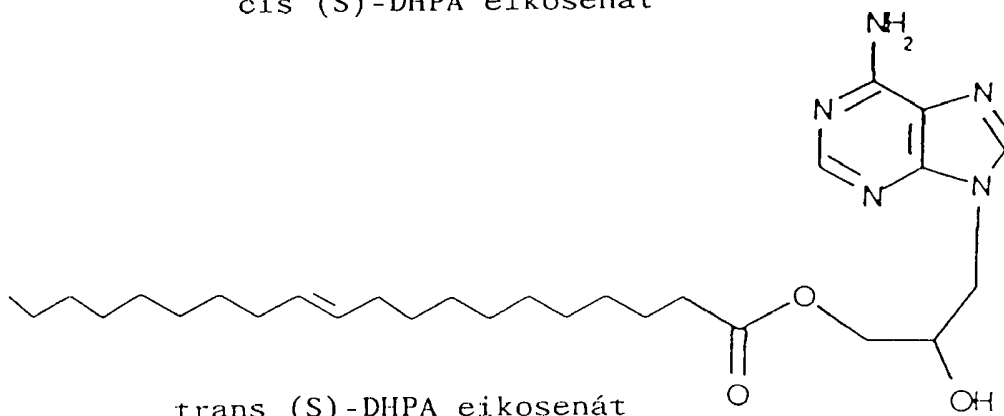
(S)-DHPA oleát



(S)-DHPA elaidát

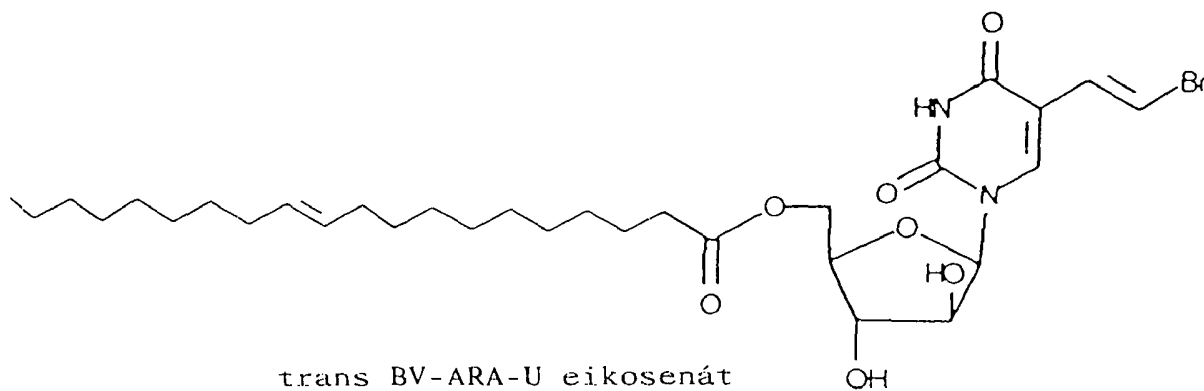
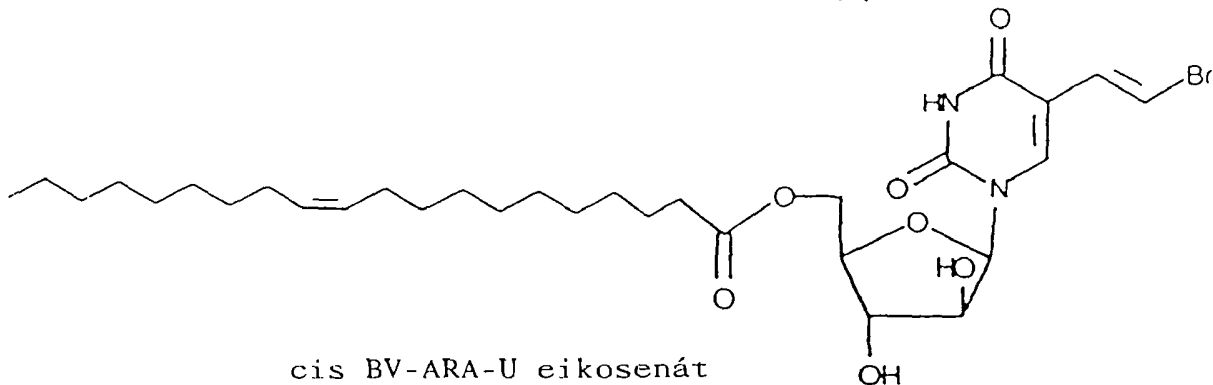
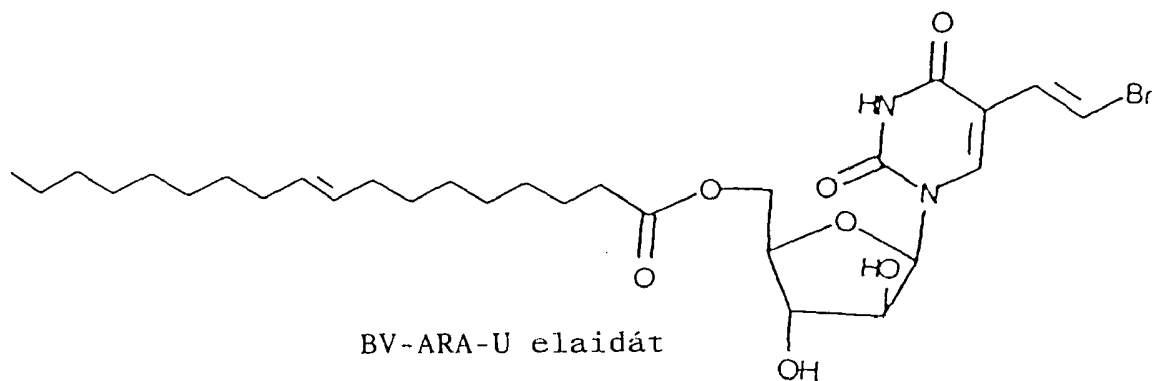
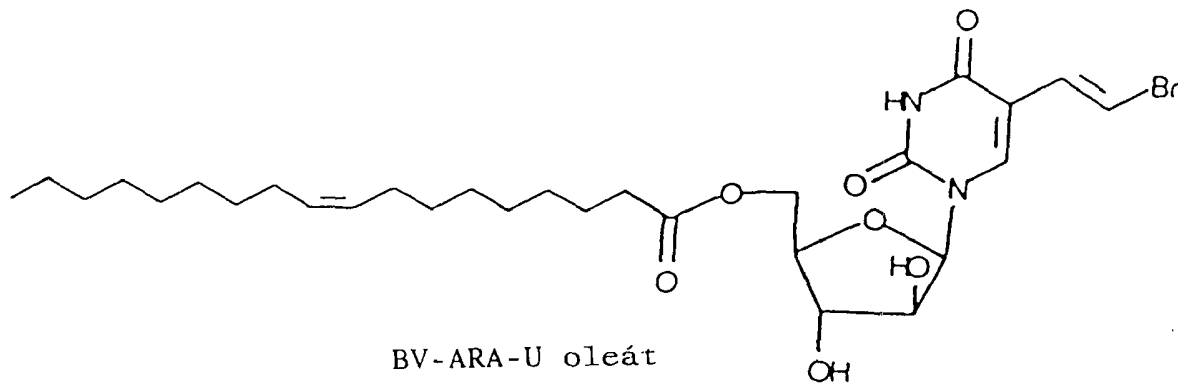


cis (S)-DHPA eikosenát



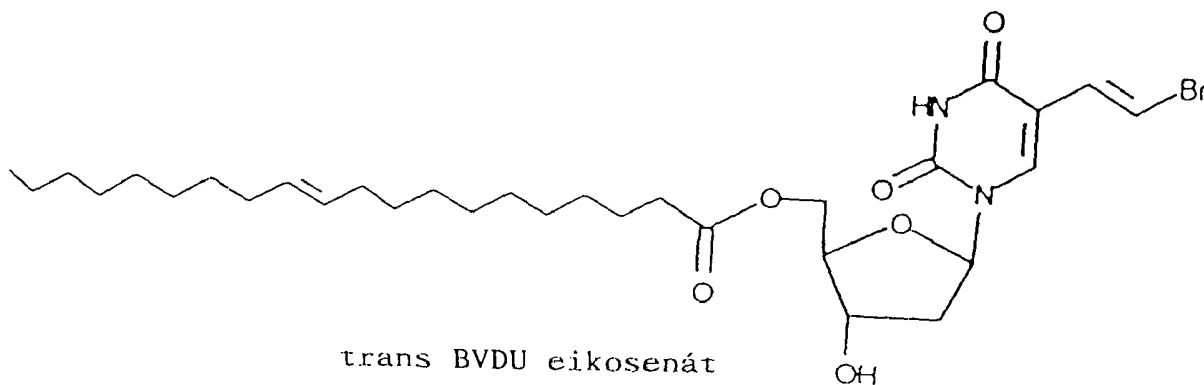
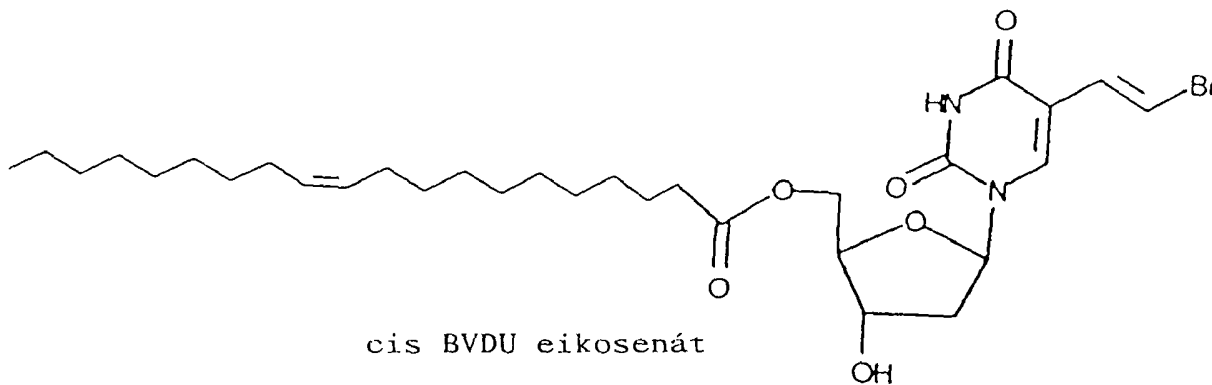
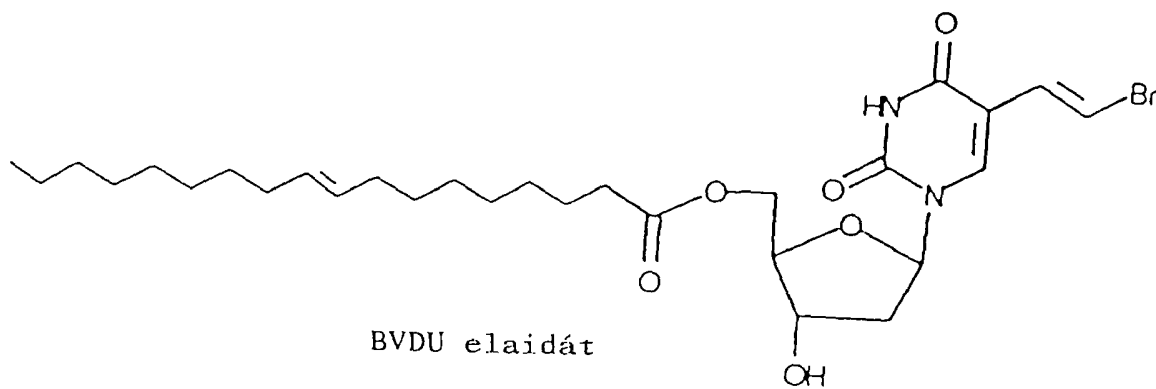
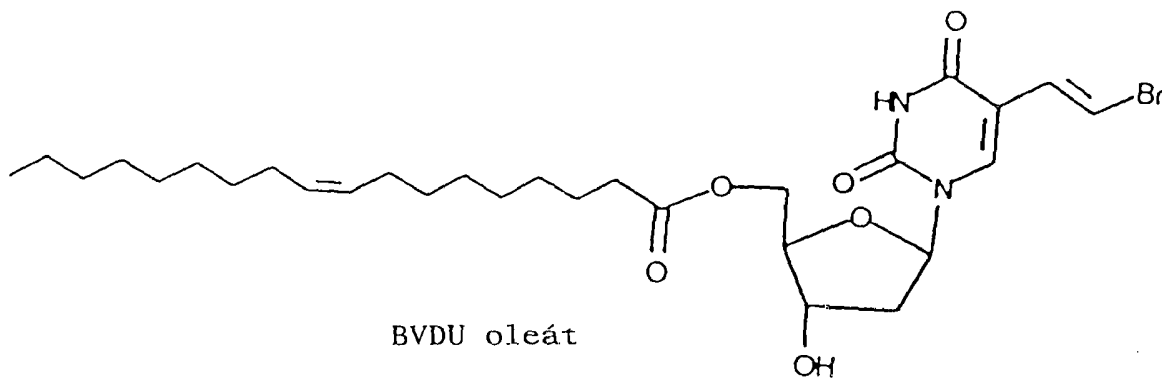
trans (S)-DHPA eikosenát

Obr. 4 - pokračovanie

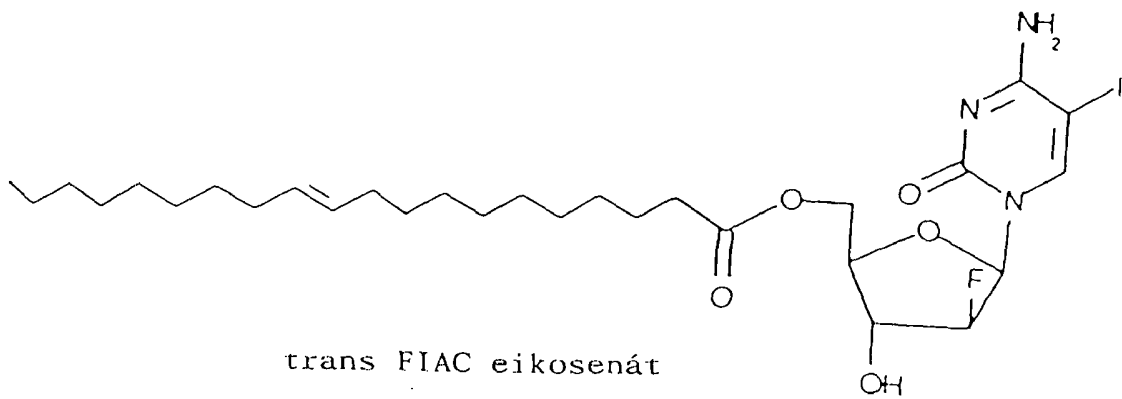
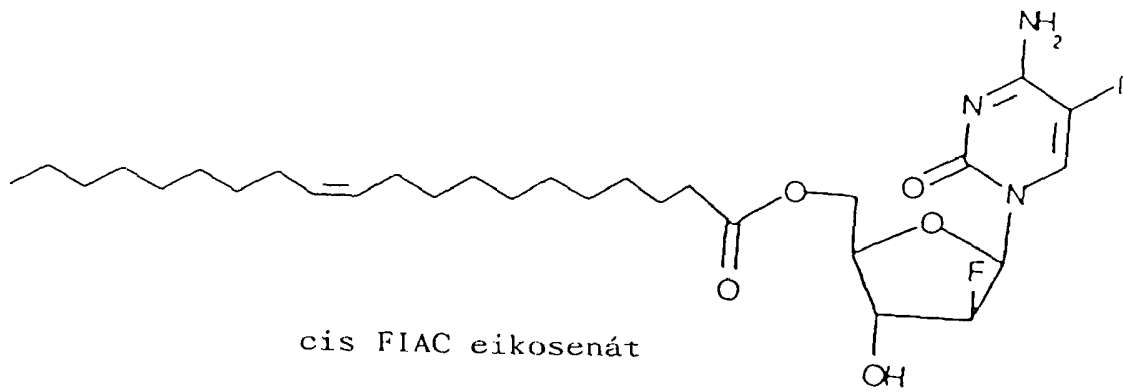
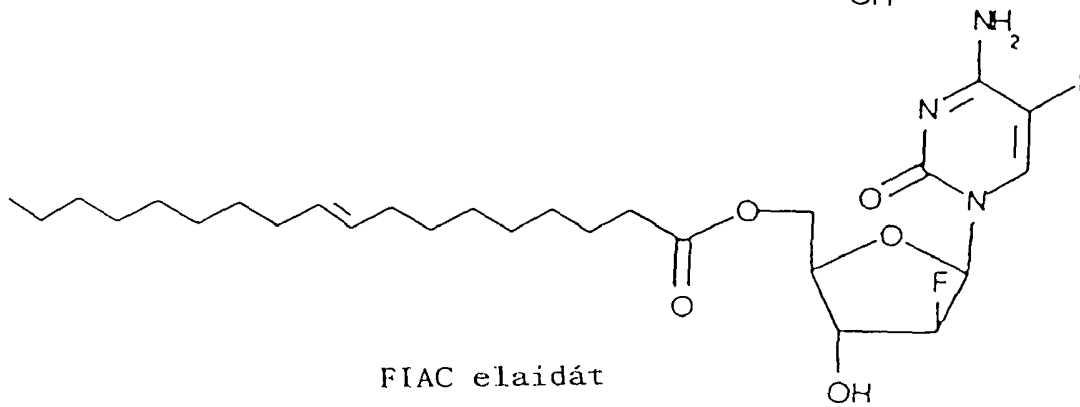
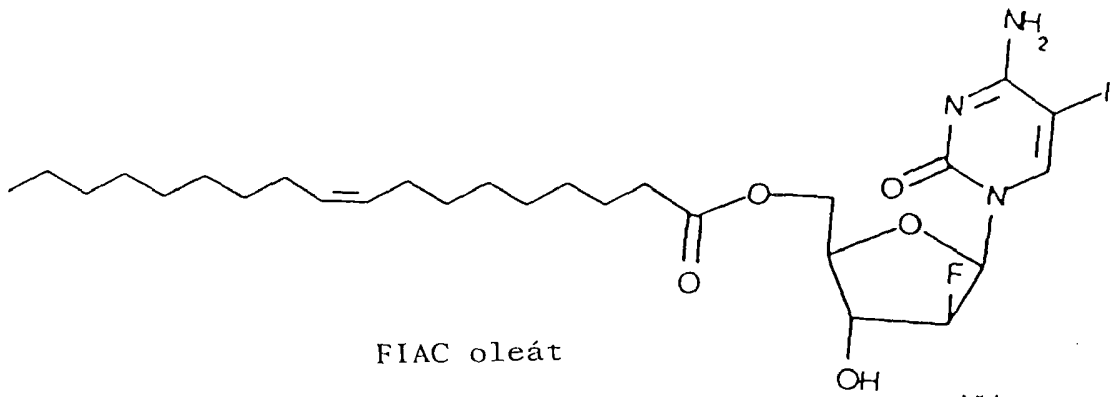


14/17

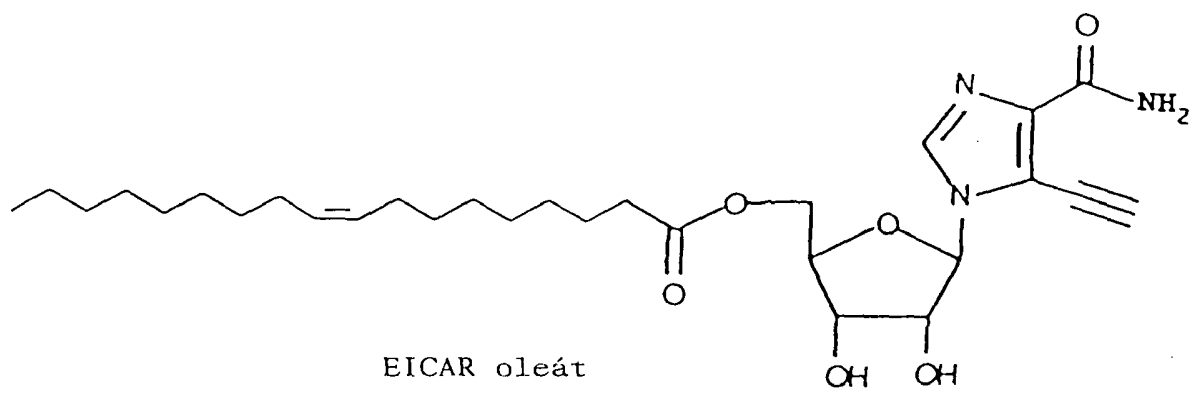
Obr. 4 - pokračovanie



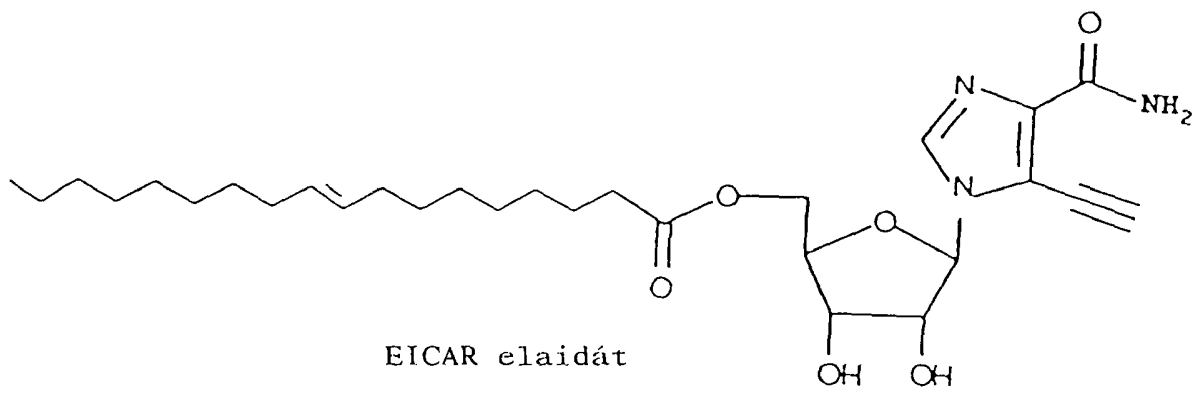
Obr. 4 - pokračovanie



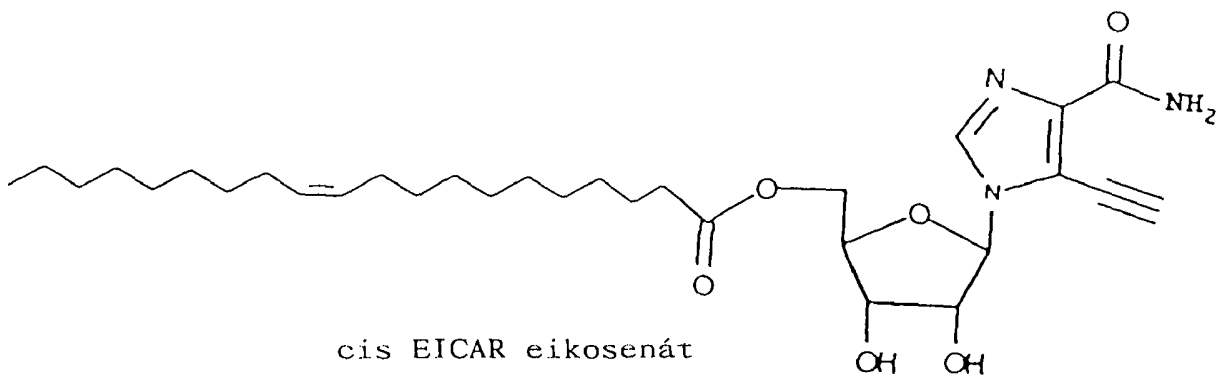
Obr. 4 - pokračovanie



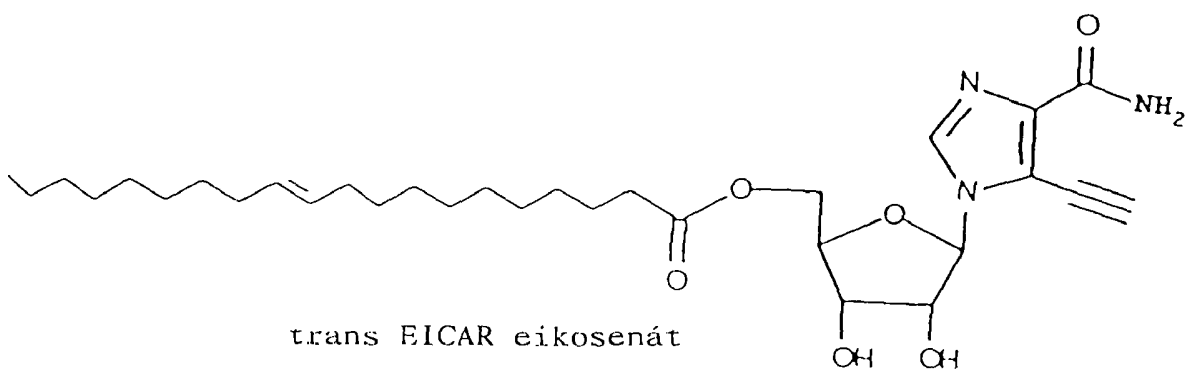
EICAR oleát



EICAR elaidát



cis EICAR eikosenát



trans EICAR eikosenát

Obr. 4 - pokračovanie

