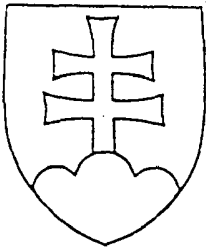


SLOVENSKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU

(21) 951-93

(13) A3

5(51) A 61 K 31/505, 31/70,
C 07 D 411/04

(22) 06.09.93

(32) 06.03.91

(31) 9104740.7

(33) GB

(40) 12.01.94

(71) THE WELLCOME FOUNDATION LIMITED, Londýn, GB;

(72) PAINTER III George Robert, Chapel Hill, North Carolina, US; FURMAN Philip Allen, Durham, North Carolina, US;

(54) Protivírusovo účinná kombinácia nukleozidov

(57) Popisujú sa synergické kombinácie nukleozidových derivátov, farmaceutické prostriedky obsahujúce tieto kombinácie a použitie týchto kombinácií pre ošetrovanie infekcií spôsobených retrovírusmi.

Protivirovo účinná kombinácia nukleozidov

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka synergických, protivirovo účinných kombinácií nukleozidových derivátov, farmaceutických prostriedkov obsahujúcich tieto kombinácie a ich použitia v liečebnej terapii, najmä pri ošetrovaní vírusových infekcií a predovšetkým infekcií spôsobených retrovírmi.

Doterajší stav techniky

Syndróm získanej imunitnej nedostatočnosti (AIDS) je imunosupresívna alebo imunodeštruktívna choroba, ktorá spôsobuje, že pacienti sú náchylní na fatálne príležitostné infekcie. Príznačne je AIDS spojená s progresívnym vyčerpaním T buniek, najmä zo skupiny indukujúcej pomoc, ktorá nesie povrchový znak OKT⁴.

Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV) sa reprodukovateľne izoluje od pacientov, ktorí trpia AIDS alebo príznakmi, ktoré často predchádzajú AIDS. HIV je cytopatický a zdá sa, že prednostne infikuje a ničí T bunky obsahujúce znak OKT⁴. Teraz sa všeobecne zistilo, že HIV je etiologickým prostriedkom AIDS.

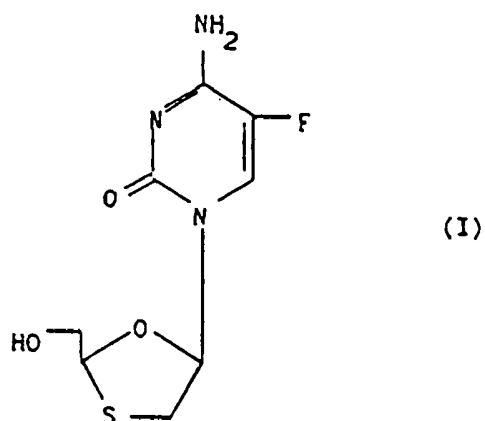
Od zistenia, že HIV je etiologickým prostriedkom AIDS, bol navrhnutý rad chemoterapeutických prostriedkov pôsobiach proti HIV, ktoré môžu byť účinné pri ošetrovaní pacientov trpiacich na AIDS. Tak napríklad Európsky patentový spis č. 0 382 526 uvádza substituované 1,3-oxatiazolány, ktoré sú účinné proti HIV. US patentový spis č. 4 724 232 a Európsky patentový spis č. 0 196 185 popisujú 3'-azido-3'-deoxytymidín (ktorý má schválené označenie zidovudín) a jeho použitie pri ošetrovaní AIDS.

Podstata vynálezu

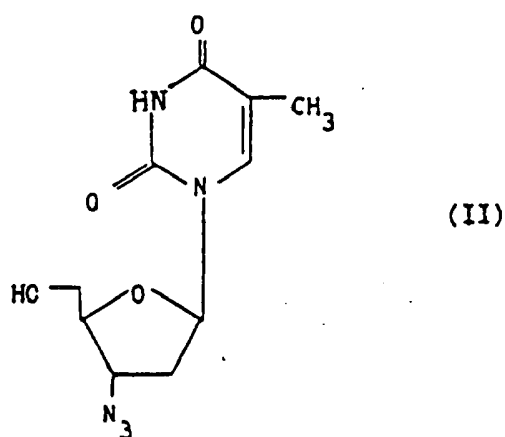
Fôvodcovia tohoto vynálezu teraz zistili, že 1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolan-5-yl]-5-fluórcytozín v kombinácii s 3'-

azido-3'-deoxytymidínom (zidovudínom) má za následok prekvapujúco vysoké zvýšenie účinku zlúčenín proti HIV. Použitie 1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozínu v kombinácii so zidovudínom spôsobuje synergické zvýšenie účinku proti HIV, v porovnaní s účinkami proti HIV u jednotlivých zlúčenín.

Preto prvý znak tohto vynálezu sa týka kombinácie a) 1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozínu vzorca I



alebo jeho fyziologicky funkčného derivátu a b) 3'-azido-3'-deoxytymidínu (zidovudínu) vzorca II



alebo jeho fyziologicky funkčného derivátu, pričom zložky a) a b) kombinácie sa používajú spolu tak, že sa dosiahne synergický protívirový účinok. Výraz "synergický protívirový účinok" sa tu používa pre označenie protívirového účinku, ktorý je väčší ako sú

predpokladané čisto aditívne účinky jednotlivých zložiek a) a b) kompozície.

Je vhodné poznamenať, že zlúčenina vzorca I obsahuje dva chirálne stredy a preto môže byť vo forme dvoch párov optických izomérov (to znamená enantiomérov) alebo ich zmesi, vrátane racemickej zmesi. Tak zlúčenina vzorca I môže byť buď cis-izomérom alebo trans-izomérom alebo môže tvoriť ich zmesi. Každý cis-izomér alebo trans-izomér sa môže vyskytovať ako jeden z dvoch enantiomérov alebo ako ich zmes, vrátane zmesi racemickej.

Všetky takéto izoméry alebo ich zmesi, zahrňujúce tiež racemické zmesi, spadajú do rozsahu vynálezu, ktorý tiež zahrňuje tautomérmne formy zlúčenín vzorca I a II. cis-izoméry zlúčeniny vzorca I sú výhodné.

Výrazom "fyziologicky funkčný derivát" sa rozumie farmaceuticky prijateľná soľ, ester alebo soľ esteru základnej zlúčeniny vzorca I alebo II, farmaceuticky prijateľný amid zlúčeniny vzorca I alebo akákoľvek iná zlúčenina, ktorá po podaní príjemcovi (pacientovi) je schopná poskytnúť (priamo alebo nepriamo) základnú zlúčeninu alebo jej aktívny metabolit alebo zvyšok odvodený od základnej zlúčeniny.

Medzi výhodné estery podľa tohoto vynálezu sa zahrňujú estery kyrboxylových kyselín, v ktorých nekarbonylová časť esterového zoskupenia je zvolená z priamych alebo rozvetvených alkylových reťazcov, napríklad n-propylu, terc.-butylu alebo n-butylu, alkoxyalkylovej skupiny (napríklad metoxymetylu), aralkylovej skupiny (napríklad benzylu), aryloxyalkylovej skupiny (napríklad fenoxymetylu) a arylovej skupiny (napríklad fenylu), sulfonátových esterov, ako alkylsulfonylu alebo aralkylsulfonylu (napríklad metánsulfonylu), esterov aminokyselín (napríklad L-valylu alebo L-izoleucínu), esterov dikarboxylových kyselín (napríklad hemisukcinátu) a mono-, di- alebo trifosfátových esterov. Fosfátové estery môžu byť ďalej esterifikované, napríklad alkoholom s 1 až 20 atómami uhlíka alebo jeho reaktívnym derivátom, alebo 2,3-diacylglycerolom s 6 až 24 atómami uhlíka v acylovej časti.

Lubovoľná alkylová časť prítomná v takýchto esteroch výhodne obsahuje 1 až 18 atómov uhlíka, predovšetkým 1 až 4 atómy uhlíka. Akákoľvek aryllová časť prítomná v takýchto esteroch výhodne obsahuje fenylovú skupinu, ktorá je popripade substituovaná, napríklad atómom halogénu, alkylovou skupinou s 1 až 4 atómami uhlíka, alkoxy skupinou s 1 až 4 atómami uhlíka alebo nitroskupinou.

Vyššie uvedené farmaceuticky prijateľné amidy zlúčeniny vzorca I zahrňujú deriváty, v ktorých aminoskupina cytozínu je prítomná vo forme amidu, napríklad ako skupina vzorca NHCOR, kde R predstavuje alkylovú skupinu s 1 až 6 atómami uhlíka alebo aryllovú skupinu (napríklad fenylovú skupinu, ktorá je popripade substituovaná atómom halogénu, alkylovou skupinou s 1 až 4 atómami uhlíka, alkoxy skupinou s 1 až 4 atómami uhlíka, nitroskupinou alebo hydroxy skupinou).

Príklady farmaceuticky prijateľných solí zahrňujú základné soli, napríklad odvodené od príslušnej bázy, ako soli alkalických kovov (napríklad sodné), kovov alkalických zemín (napríklad horečnaté), soli amónne alebo obsahujúce NX_4^+ (kde X znamená alkylovú skupinu s 1 až 4 atómami uhlíka). Farmaceuticky prijateľné adičné soli s kyselinami zahrňujú soli organických karboxylových kyselín, ako je kyselina octová, kyselina mliečna, kyselina vínna, kyselina jablčná, kyselina izetionová (2-hydroxyetánsulfónová), kyselina laktobionová a kyselina jantárová, organických sulfónových kyselín, ako je kyselina metánsulfónová, kyselina etánsulfónová, kyselina benzénsulfónová a kyselina p-toluénsulfónová a anorganických kyselín ako je kyselina chlorovodíková, kyselina sírová, kyselina fosforečná a kyselina sulfamová.

Príklady vírových infekcií a súvisiacich klinických stavov, ktoré sa môžu ošetrovať alebo ktorým sa dá zabrániť podľa tohoto vynálezu, zahrňujú infekcie človeka spôsobené retrovírmi, ako vírom imunitnej nedostatočnosti (HIV), napríklad HIV-1 alebo HIV-2 a lyfotropným vírom T-buniek človeka (HTLV), napríklad infekcií spôsobených HTLV-I alebo HTLV-II. Kombinácie podľa tohoto vynálezu sú predovšetkým vhodné pre ošetrovanie AIDS a príbuzných klinických stavov, ako je komplex súvisiaci s AIDS (ARC),

progresívne generalizovaná lymfadenopatia (FGL), neurologické stavy príbuzné AIDS, ako je roztrúsená skleróza alebo lokálna paraparéza, anti-HIV stavy pozitívne na protilátku a stavy pozitívne na HIV, ako je trombocytopenická purpura. Kombinácie podľa tohoto vynálezu sa môžu tiež používať pre ošetrovanie lupienky. Bolo zistené, že kombinácie podľa tohoto vynálezu sú predovšetkým použiteľné pre ošetrovanie asymptomatických infekcií alebo chorôb, ktorých príčinou sú retrovíry človeka alebo s týmito retrovírmi súvisia.

Preto druhý znak tohoto vynálezu sa týka tu popísaných kombinácií pre použitie v lekárskej terapii, najmä pre ošetrovanie alebo profylaxiu niektorej z vyššie uvedených vírusových infekcií, predovšetkým infekcií vyvolaných HIV vrátane AIDS.

Tento vynález sa ďalej týka spôsobu výroby tu popísaných kombinácií, ktorý zahŕňa uvedenie zložiek a) a b) kombinácie do styku v liečive, pre dosiahnutie synergického protivírusového účinku.

Ďalší znak tohoto vynálezu sa týka použitia kombinácie podľa tohoto vynálezu k výrobe liečiva pre ošetrovanie niektorej z vyššie uvedených vírusových infekcií alebo stavov.

Tento vynález sa ďalej týka spôsobu ošetrovania alebo profylaxie vírusových infekcií (najmä infekcií spôsobených HIV) u cicavcov (vrátane človeka), ktorý zahŕňa podávanie účinného množstva vyššie popísanej kombinácie cicavcom. Vysoko sa hodnotí, že sa podľa tohoto vynálezu zložky a) a b) kombinácie môžu podávať súčasne alebo postupne. V prípade postupného podávania sa však zlúčeniny podávajú v dostatočne krátkom intervale, aby sa zaistilo, že sa dosiahne synergický protivírusový účinok.

Tento vynález sa rovnako týka spôsobu zosilnenia protivírusového účinku zložiek a) a b) kombinácie pre cicavce (vrátane človeka) trpiacich vírusovou infekciou, ktorý spočíva v tom, že sa cicavcovi podáva synergicky účinné množstvo a) súčasne s podaním zložky b) alebo pred podaním tejto druhej zložky alebo po jej podaní.

Výhoda kombinácie podľa tohoto vynálezu spočíva v tom, že umožňuje dosiahnuť zlepšenú protivirovú účinnosť pri jednotlivej dávke jednej z protivirovo účinných zložiek (v porovnaní s použitím samotnej zložky), pričom sa zlepšuje terapeutický index zložky. Tak napríklad sa kombinácia môže používať pre ošetrovanie stavov, ktoré by inak vyžadovali relatívne vysoké dávky protivirovo účinnej zložky a ktoré by mohli spôsobiť problémy s toxicitou. Menšie dávky kombinácie môžu zabezpečovať zvýšenú výhodnosť pre pacienta a zvýšené harmonické doplnenie.

Kombinácie podľa tohoto vynálezu sa môžu podávať cicavcom obvyklým spôsobom. Ako je uvedené vyššie, zložky a) a b) sa môžu podávať súčasne (napríklad v komplexnom farmaceutickom prostriedku) alebo oddelene (napríklad v oddelených farmaceutických prostriedkoch). Všeobecne sa kombinácie môžu podávať lokálne, orálne, rektálne alebo parenterálne (napríklad intravenóznou, subkutánnou alebo intramuskulárnou) cestou. Je zrejmé, že cesta podania sa môže meniť, napríklad podľa závažnosti stavu a identity príjemcu.

Je potrebné vziať do úvahy, že i keď sa obvykle použije optimálny pomer zložiek pre dosiahnutie maximálneho zvýšeného účinku, jednako malé zmeny jednej zložky môžu postačovať na zvýšenie účinku druhej zložky do rovnakého stupňa a tak akýkoľvek pomer oboch zložiek spôsobujúcich zosilnenie účinku bude stále vykazovať požadovaný synergický účinok. Avšak najväčšia synergia sa obvykle pozoruje, pokiaľ sú obidve zložky prítomné vo zvláštnych pomeroch.

Optimálne molárne pomery zidovudinu k 1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozínu alebo ich príslušných fyziologicky funkčných derivátov, pre použitie podľa tohoto vynálezu, sú od 1 : 1 do 1 : 600, výhodne od 1 : 10 do 1 : 250 a predovšetkým výhodne 1 : 25.

Ďalej tu zložky kombinácie môžu byť tiež označované výrazom "účinné zložky".

Dávka kombinácie bude závisieť od stavu určeného na

ošetrovanie a od iných okolností, ako je hmotnosť a stav pacienta a spôsob podania zložiek kombinácie. Príklady rozmedzia dávok a pomerov zložiek sú tieto:

Všeobecne vhodná dávka kombinácie podľa tohoto vynálezu, vo vzťahu k celkovej hmotnosti zložiek a) a b) bude v rozmedzí od 3 do 120 mg na kilogram telesnej hmotnosti príjemcu za deň, výhodne v rozmedzí od 6 do 90 mg na kilogram telesnej hmotnosti príjemcu za deň, predovšetkým výhodne v rozmedzí od 15 do 60 mg na kilogram telesnej hmotnosti príjemcu za deň. Požadovaná dávka sa výhodne predkladá ako dve, tri, štyri, päť alebo šesť dielčích dávok podávaných vo vhodných intervaloch v priebehu dňa. Tieto dielčie dávky sa môžu podávať vo forme dávkovej jednotky, napríklad obsahujúcej od 10 do 1500 mg, výhodne od 20 do 1000 mg a najvýhodnejšie od 50 do 700 mg účinných zložiek na formu dávkovej jednotky.

I keď je možné účinné zložky podávať samotné, je výhodné predkladať ich vo forme farmaceutických prostriedkov. Farmaceutické prostriedky podľa tohoto vynálezu obsahujú kombináciu podľa vynálezu spolu s jednou alebo s väčším počtom farmaceuticky prijateľných nosných alebo pomocných látok a popri prípade iných terapeuticky účinných prostriedkov. Ak sa jednotlivé zložky kombinácie podávajú oddelene, každá z nich je obyčajne prítomná ako farmaceutický prostriedok. V súvislosti s ďalej uvedenými údajmi sa prostriedky vzťahujú, pokiaľ nie je uvedené inak, na prostriedky obsahujúce buď kombináciu alebo jej zložky. Prostriedky zahrňujú také prostriedky, ktoré sú vhodné pre perorálne, rektálne, nasálne, lokálne (vrátane transdermálneho, bukálného a sublinguálneho), vaginálne alebo parenterálne (vrátane subkutánneho, intramuskulárneho, intravenózneho a intradermálneho) podania. Prostriedky môžu byť obyčajne prítomné vo forme komplexnej dávky a môžu sa vyrábať ľubovoľnými spôsobmi, ktoré sú dobre známe v odbore farmácie. Takéto spôsoby zahrňujú stupeň uvedenia účinných látok s nosnými látkami, ktoré pozostávajú z jedného alebo väčšieho počtu vedľajších zložiek.

Zo všeobecného hľadiska sa prostriedky môžu vyrábať rovnomerným a dôkladným uvedením účinných látok do styku s kva-

painými nosnými látkami alebo jemne rozomletými pevnými nosnými látkami, poprípade s obidvoma týmito typmi nosných látok a potom, ak je to potrebné, tvarovaním produktu.

Prostriedky podľa tohoto vynálezu, vhodné pre perorálne podanie, môžu byť prítomné ako oddelené jednotky, ako napríklad kapsule, tobolky alebo tablety, z ktorých každá obsahuje vopred stanovené množstvo účinných látok, ako prášky alebo granule, ako roztoky alebo suspenzie vo vodnej alebo nevodnej kvapaline alebo ako kvapalné emulzie typu olej vo vode alebo voda v oleji. Účinná zložka môže byť tiež prítomná vo forme bolusu (veľká pilulka), lieku so sirupom alebo pasty.

Tablety sa môžu zhotovovať lisovaním alebo odlievaním, poprípade s jednou alebo s väčším počtom vedľajších zložiek. Lisované tablety sa môžu vyrábať vo vhodnom prístroji lisovaním účinných látok vo voľne tečúcej forme, ako prášku alebo granúl, ktoré sú poprípade zmiešané so spojivom (napríklad povidonom, želatínou, hydroxypropylmetylcelulózou), mazivom, inertným riedidlom, konzervačnou látkou, látkou napomáhajúcou štiepeniu (napríklad natriumglykolátom škrobu, zosieťovaným povidonom alebo zosieťovanou natriumkarboxymetylcelulózou), povrchovo aktívnou látkou alebo činidlom napomáhajúcim dispergovanie. Odlievané tablety sa môžu vyrábať na vhodnom stroji zo zmesi práškových účinných látok zvlhčených inertným kvapalným riedidlom. Tablety sa môžu poprípade potahovať alebo opatriť zárezom a môžu sa pripravovať tak, aby sa dosiahlo pomalé alebo riadené uvoľňovanie účinných látok pri ich použití, napríklad zavedením hydroxypropylmetylcelulózy v membránach sa pomerom pre získanie požadovaného profilu uvoľňovania. Tablety sa môžu poprípade opatriť enterickým potahom, aby sa dosiahlo uvoľňovanie v inej časti črevného traktu ako žalúdok.

Prostriedky vhodné pre lokálne podanie do úst zahrňujú pastilky, obsahujúce účinné zložky vo vhodnej báze, obyčajne v sacharóze a akáciu alebo kozinec, pastilky, ktoré obsahujú účinnú látku a inertnú bázu, ako je želatína alebo glycerín, alebo sacharóza a akácia a ústne vody, ktoré obsahujú účinnú látku vo vhodnej kvapalnej nosnej látke. Prostriedky pre rektálne podávanie môžu byť prítomné ako čípky, ktoré napríklad obsahujú

kakaové maslo alebo salicylát.

Lokálne podávanie sa môže tiež uskutočňovať pomocou transdermálneho iontoforézného zariadenia.

Prostriedky vhodné pre vaginálne podávanie môžu byť prítomné ako pesary, tampóny, krémy, želé, pasty, peny alebo sprejové formulácie, ktoré obsahujú okrem účinných látok látky nosné, o ktorých je v odbore známe, že sú vhodné na tento účel.

Prostriedky vhodné pre parenterálne podávanie zahrňujú vodné a nevodné izotonické sterilné injekčné roztoky, ktoré môžu napríklad obsahovať antioxidantné činidlá, pufrý, bakteriostatické prípravky a rozpustené látky, pomocou ktorých sa dosahuje izotonický stav krvi zamýšľaného príjemcu a vodné a nevodné sterilné suspenzie, ktoré môžu obsahovať napríklad suspenzačné činidlá a zahusťovadlá a lipozómy alebo iné mikroparticulárne systémy, ktoré sú navrhnuté na dosiahnutie toho, že sa zlúčenina stane zložkou krvi alebo sa dostane k jednému alebo väčšiemu počtu orgánov. Prostriedky môžu byť prítomné v zásobníkoch pre jednú dávku alebo pre väčší počet dávok, napríklad v uzatvorených ampulkách alebo fľaštičkách a môžu sa skladovať za lyofilných podmienok vyžadujúcich iba prídavok sterilnej kvapalnej nosnej látky, napríklad vody pre injekcie, bezprostredne pred použitím. Extemporálne injekčné roztoky a suspenzie sa môžu vyrábať zo sterilných práškov, granúl a tabliet vyššie popísaných druhov.

Výhodné prostriedky tvorené dávkovou jednotkou sú prostriedky, ktoré obsahujú dennú dávku alebo dennú dielčiu dávku účinných zložiek, ako je popísané vyššie, alebo jej príslušnú časť.

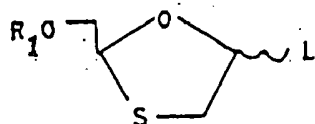
Je treba rozumieť, že okrem zložiek uvedených vyššie, prostriedky podľa tohoto vynálezu môžu zahrňovať tiež iné látky bežné, obvyklé v odbore, s ohľadom na typ príslušného prostriedku, napríklad prostriedky vhodné pre perorálne podávanie môžu zahrňovať ďalšie látky, ako sú sladidlá, zahusťovadlá a aromatické činidlá (esencie).

Zlúčeniny z kombinácie podľa tohoto vynálezu sa môžu vyrábať

obvyklým spôsobom. Zidovudin sa môže vyrábať napríklad spôsobom popísaným v US patente č. 4 724 232, ktorý sa uvádza ako súčasť známeho stavu techniky. Zidovudin sa môže tiež získať od firmy Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin 53233, USA.

1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolan-5-yl]-5-fluórcytozin sa môže vyrobiť napríklad tým, že

- a) poprípade chránený 5-fluórcytozin sa nechá reagovať s 1,3-oxatiazolánom všeobecného vzorca IIIA



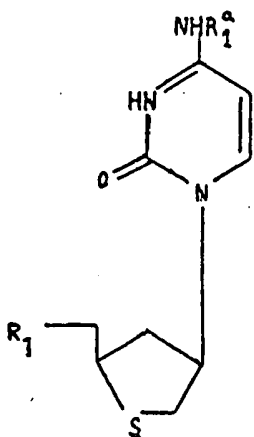
(IIIA)

v ktorom

R₁ znamená atóm vodíka alebo skupinu chrániacu hydroxyskupinu a

L predstavuje odštiepiteľnú skupinu, alebo

- b) zlúčenina všeobecného vzorca IIIB



(IIIB)

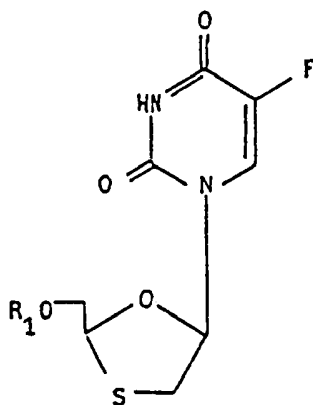
v ktorom

R_1 má význam uvedený vyššie a

R_2 predstavuje skupinu chrániacu aminoskupinu.

sa nechá reagovať s fluoračným činidlom slúžiacim na zavedenie atómu fluóru do polohy 5 cytozínového kruhu, alebo

c) zlúčenina všeobecného vzorca IIIC



(IIIC)

v ktorom

R_1 má význam uvedený vyššie,

sa nechá reagovať s činidlom slúžiacim na prevedenie oxoskupiny v polohe 4 uracilového kruhu na aminoskupinu a

ľubovoľné chrániace skupiny sa odstránia za vzniku požadovanej zlúčeniny.

S ohľadom na spôsob a), skupina chrániaca hydroxyskupinu zahŕňa chrániace skupiny, ako je acyl (napríklad acetyl), arylacyl (napríklad benzoyl alebo substituovaný benzoyl), trityl alebo monometoxytrityl, benzyl alebo substituovaný benzyl, trialkylsilyl (napríklad dimetyl-terc.-butylsilyl) alebo difenylmetylsilyl. 5-Fluórcytozínová zlúčenina môže byť popri prípade chránená silylom, napríklad trimetylsilylovými skupinami. Takéto skupiny sa môžu odstrániť zvyčajným spôsobom. Odštiepiteľná skupina L je odštie-

pujúca sa skupina typu známeho v odbore chémie nukleozidov, napríklad halogén, ako atóm chlóru alebo atóm fluóru, alkoxyskupina, ako metoxyskupina alebo etoxyskupina alebo acyl, ako je acetyl alebo benzoyl.

Reakcia pri spôsobe b) sa môže uskutočňovať v organickom rozpúšťadle (napríklad 1,2-dichlóretáne alebo acetonitrile) v prítomnosti Lewisovej kyseliny, ako je chlorid ciničitý alebo trimetylsilyltriflát.

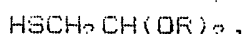
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIA sa môžu získať z vhodne chráneného 2-hydroxyacetaldehydu všeobecného vzorca IV



v ktorom

R_1 má význam uvedený vyššie,

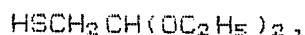
ako je popísané v Can. J. Research, 2, 129 (1933) a v Európskom patentovom spise č. O 382 526. Reakcia zlúčenín všeobecného vzorca IV s merkaptoacetalom všeobecného vzorca



v ktorom

R znamená alkoxyskupinu s 1 až 4 atómami uhlíka,

ako so zlúčeninou vzorca



známa v odbore (Chem. Ber. 85, 924-932 (1952)), poskytne zlúčeniny všeobecného vzorca IIIA, v ktorom L predstavuje skupinu vzorca OR (alkoxyskupinu), napríklad metoxyskupinu alebo etoxyskupinu. Podľa iného uskutočnenia sa zlúčeniny všeobecného vzorca IIIA, v ktorom L znamená alkoxyskupinu, môžu previesť na zlúčeniny všeo-

becného vzorca IIIA, v ktorom L znamená atóm halogénu alebo acylovú skupinu, spôsobmi známymi v odbore chémie cukrov.

Zlúčeniny všeobecného vzorca IV sa môžu vyrobiť z 1,2-O-izopropylidéndlycerolu zavedením substituenta R_1 (napríklad trisubstituovaného silylu, benzylu alebo tritylu) a odstránením izopropylidénovej skupiny pôsobením miernej kyseliny (napríklad kyseliny mravčej alebo kyseliny octovej) alebo bromidu zinočnatého v acetonitrile a následnou oxidáciou alkoholového zvyšku s vodným roztokom jodistanu.

Podľa spôsobu b) sa fluór ako substituent polohy 5 môže zaviesť spôsobmi známymi v odbore (M. J. Robin a kol. v Nucleic Acid Chemistry, časť 2, L. B. Townsend a R. S. Tipson, vyd. J. Wiley and Sons, New York, str. 895 až 900 (1978) a odkazy tam uvedené, R. Duschinsky v Nucleic Acid Chemistry, časť 1, L. B. Townsend a R. S. Tipson, vyd. J. Wiley a Sons, New York, str. 43 až 46 (1978) a odkazy tam uvedené). Fluoračným činidlom môže byť napríklad trimetylhypofluorit v fluórtrichlórmetáne.

S ohľadom na spôsob c) sa uvádza, že sa zlúčenina všeobecného vzorca IIIC výhodne spracuje s 1,2,4-triazolom, výhodne spolu s 4-chlórphenyldichlórfosfátom, za vzniku zodpovedajúcej 4-(1,2,4-triazolylovej) zlúčeniny, ktorá sa potom prevedie na požadovanú 4-amino(cytidínovú) zlúčeninu reakciou napríklad s metanolom.

Východiskové zlúčeniny všeobecného vzorca IIIB a IIIC sa môžu vyrobiť napríklad reakciou vhodnej (popri prípade chránenej) bázy so zlúčeninou všeobecného vzorca IIIA analogickým spôsobom, ako je popísaný pod spôsobom a). 5-Fluoruracyl a 5-fluorcytozín sú obchodne dostupné zlúčeniny firmy Aldrich Chemical Co., Milwaukee, Wisconsin 53233, USA.

Oddelenie (+/-)-cis-izoméru a (+/-)-trans-izoméru zlúčeniny vzorca I, napríklad v chránenej forme, sa môže uskutočňovať chromatograficky na silikagéle za použitia zmesi organických rozpúšťadiel, ako zmesi etylacetátu a metanolu, etylacetátu a hexánu alebo dichlórmetánu a metanolu. Akákoľvek chrániaca skupina sa

môže potom odstrániť za použitia príslušného reakčného činidla pre každú skupinu.

Estery zlúčenín vzorca I a II, ktoré tvoria zložku, sa môžu vyrobiť obvyklým spôsobom, reakciou s príslušným esterifikačným činidlom, ako je halogenid alebo anhydrid kyseliny. Zlúčeniny vzorca I alebo II alebo ich estery sa môžu previesť na svoje farmaceuticky prijateľné soli spracovaním s vhodnou bázou. Ester alebo soľ zlúčeniny, tvoriace zložku, sa môžu previesť na pôvodnú zlúčeninu hydrolýzou.

Farmaceuticky prijateľné amidy zlúčenín vzorca I sa môžu vyrobiť napríklad reakciou s príslušným acylačným činidlom, napríklad halogenidom alebo anhydridom kyseliny, slúžiacim na acyláciu hydroxyskupiny v polohe 5' a aminokyseliny v polohe 4. Acylová skupina sa môže potom selektívne odstrániť z hydroxyskupiny v polohe 5' alebo z aminoskupiny v polohe 4 alebo z oboch týchto skupín. Napríklad spracovaním diacylovanej zlúčeniny za kyslých podmienok, napríklad pôsobením Lewisovej kyseliny, ako bromidu zinočnatého v metanole, sa odstráni 4N-acylová skupina za vzniku zodpovedajúceho 5'-OH esteru, zatiaľ čo spracovaním diacylovanej zlúčeniny za alkalických podmienok, napríklad pôsobením metoxidu sodného, sa odstráni 5'-OH acylová skupina za vzniku zodpovedajúceho 4N amidu. Acylové skupiny sa tiež môžu odstrániť selektívne spracovaním s komerčne dostupnými esterázovými alebo lipázovými enzýmami, napríklad esterázou z pečene ošípaných alebo lipázou z podžalúdočnej žľazy, alebo spracovaním podľa spôsobov, ktoré sú popísané v US patentovom spise č. 5 071 983. Zlúčenina vzorca I sa môže previesť na svoju farmaceuticky prijateľnú soľ obvyklým spôsobom, napríklad spracovaním s vhodnou bázou.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Ďalej uvedené príklady sú určené len na ilustráciu a žiadnym spôsobom nie sú mienené ako obmedzenie rozsahu vynálezu. "Účinná zložka" označuje zmes zlúčenín zidovudínu a cis-1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozínu v molárnom pomere 1 : 25.

Príklad 1

Prostriedky vo forme tabliet

Ďalej uvedené prostriedky A, B a C sa vyrábajú granuláciou zložiek za vlhka s roztokom povidonu, potom pridaním stearátu horečnatého a zlisovaním.

Prostriedok A

	<u>mg/tableta</u>
účinná zložka	250
laktóza B. P.	210
povidon B. P.	15
natriumglykolát škrobu	20
stearat horečnatý	5

celkom	500

Prostriedok B

	<u>mg/tableta</u>
účinná zložka	250
laktóza B. P.	150
Avicel PH 101	60
povidon B. P.	15
natriumglykolát škrobu	20
stearat horečnatý	5

celkom	500

Prostriedok C

	<u>mg/tableta</u>
účinná zložka	250
laktóza B. P.	200
škrob	50
povidon	5
stearat horečnatý	4

celkom	359

Ďalej uvedené prostriedky D a E sa vyrábajú priamym zlisovaním premiešaných zložiek. Laktóza v prostriedku E je typu určeného pre priame zlisovanie ("Zeparox" - Dairy Crest).

Frostriedok D

	<u>mg/tableta</u>
účinná zložka	250
predželatinizovaný škrob NF15	150

celkom	400

Frostriedok E

	<u>mg/tableta</u>
účinná zložka	250
laktóza B.F.	150
Avicel	100

celkom	500

Frostriedok F (Frostriedok so zníženým uvoľňovaním)

Frostriedok sa vyrobí granuláciou zložiek za vlhka s roztokom povidonu, potom pridaním stearátu horečnatého a zlisovaním.

	<u>mg/tableta</u>
účinná zložka	500
hydroxypropalmetylcelulóza (Methocel K4M Premium)	112
laktóza B. F.	53
povidom B. F.	28
stearát horečnatý	7

celkom	700

Uvoľňovanie účinnej látky nastáva v priebehu 6 až 8 hodín a je ukončené po 12 hodinách.

Priklad 2

Prostriedok vo forme kapsúl

Prostriedok A

Prostriedok vo forme kapsúl sa vyrobi zmiešaním zložiek z prostriedku D uvedeného vyššie v príklade 1 a naplnením zmesi do dvojdielnych tvrdých želatínových kapsúl. Prostriedok B (popísaný ďalej) sa vyrobi podobným spôsobom.

Prostriedok B

	<u>mg/kapsula</u>
účinná zložka	250
laktóza B. P.	143
natriumglykolát škrobu	25
stearát horečnatý	2

celkom	420

Prostriedok C

	<u>mg/kapsula</u>
účinná zložka	250
Macrogel 4000 B. P.	350

celkom	600

Kapsule z prostriedku C sa vyrobia roztavením Macrogelu 4000 B. P., dispergovaním účinnej zložky v tavenine a plnením taveniny do dvojdielnych tvrdých želatínových kapsúl.

Prostriedok D

	<u>mg/kapsula</u>
účinná zložka	250
lecitín	100
arašidový olej	100

celkom	450

Kapsule z prostriedku D sa vyrobia dispergovanim účinnej zložky v lecitíne a arašidovom oleji a plnením disperzie do mäkkých elastických želatínových kapsúl.

Prostriedok E (Kapsule s regulovaným uvoľňovaním)

Ďalej uvedený prostriedok tvorený kapsulami s regulovaným uvoľňovaním sa vyrobí vytlačovaním zložiek a), b) a c) za použitia extrudéra, potom feroizáciou extrudátu a vysušením. Vysušené granule sa potom potiahnu membránou d) regulujúcou uvoľňovanie a plnia sa do dvojdielných tvrdých želatínových kapsúl.

	<u>mg/kapsula</u>
a) účinná zložka	250
b) mikrokryštalická celulóza	125
c) laktóza B. F.	125
d) etylcelulóza	13

celkom	513

Priklad 3

Prostriedok pre zavedenie injekcie

Prostriedok A

	<u>mg</u>
účinná zložka	250
0,1 M roztok kyseliny chlorovodíkovej alebo	
0,1 M roztok hydroxidu sodného	
podľa potreby na úpravu hodnoty pH na 4,0 až 7,0	
sterilná voda	podľa potreby do 10 ml

Účinná látka sa rozpustí ako je najviac možné vo vode (o teplote 35 až 40 °C) a hodnota pH sa upraví na 4,0 až 7,0 podľa potreby pridaním kyseliny chlorovodíkovej alebo hydroxidu sodného. Násada sa potom doplní na potrebný objem vodou, filtruje cez sterilný mikroporézny filter do sterilných sklenených fľaštičiek jantároveho sfarbenia o objeme 10 ml (typu 1), uzatvorí sterilným uzáverom a opatrí záklopkou na fľaštičky.

Prostriedok E

účinná látka	125 mg
sterilný fosfátový tlmivý roztok, neobsahujúci pyrogénne látky.	
o hodnote pH 7	podľa potreby do 25 ml

Príklad 4

Intramuskulárna injekcia

účinná látka	200 mg
benzylalkohol	0,10 g
Glycofurool 75	1,45 g
voda pre injekcie	podľa potreby do 3,00 ml

Účinná zložka sa rozpustí v glukofurole. Potom sa pridá benzylalkohol a rozpustí sa a ďalej sa pridá voda do 3 ml. Zmes sa potom filtruje cez sterilný porézny filter a uzatvorí sa do sterilných sklenených fľaštičiek jantároveho sfarbenia o objeme 3 ml (typu 1).

Príklad 5

Sirup

účinná látka	250 mg
roztok sorbitolu	1,50 g
glycerol	2,00 g
benzoát sodný	0,005 g
príchut', Peach 17.42.3169	0.0125 ml
čistená voda	podľa potreby do 5,00 ml

Účinná zložka sa rozpustí v zmesi glycerolu a väčšej časti čistenej vody. Potom sa k roztoku pridá vodný roztok benzoátu sodného, ďalej roztok sorbitolu a napokon príchut'. Objem sa upraví čistenou vodou a všetko sa dobre premieša.

Příklad 6

Čípok

	<u>mg/cípková kapsula</u>
Účinná látka	250
tvrdý tuk, B. F. (Witepsol H15 - -Dynamit Nobel)	1770

celkom	2020

Jedna pátina Witepsolu H15 sa roztaví v panvici opatrenej parným plášťom pri maximálnej teplote 45 °C. Účinná zložka sa preoseje cez sito s veľkosťou otvorov 200 µm a pridá sa k rozta-
vanej báze za miešania, pri použití Silversonovho miešadla s rez-
nou hlavou, pričom miešanie pokračuje pokiaľ sa nezíska hladká
disperzia. Zmes sa udržiava pri teplote 45 °C, k suspenzii sa
pridá zvyšný Witepsol H15 a všetko sa mieša, aby sa získala homo-
génna zmes. Celá suspenzia sa nechá prejsť cez sito z nehrdzave-
júcej ocele s veľkosťou otvorov 250 µm a za nepretržitého mieša-
nia sa nechá ochladiť na teplotu 40 °C. Pri teplote 38 °C až
40 °C sa 2.02 g zmesi plní do vhodných foriem o objeme 2 ml
z plastickej hmoty. Čípky sa nechajú vychladnúť na teplotu miest-
nosti.

Příklad 7

Pesar

	<u>mg/pesar</u>
Účinná látka	250
bezvodá dextróza	380
zemiakový škrob	363
stearát horečnatý	7

celkom	1000

Vyššie popísané zložky sa priamo zmiešajú a pesary sa pri-
pravajú priamym zlisovaním výslednej zmesi.

Príklad 6

Spôsob výroby 1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluór-cytozínu

Spôsob A

Vyrobí sa zmes (+/-)-cis- a (+/-)-trans-2-benzoyloxymetyl-5-(Na-acetylcytosin-1-yl)-1,3-oxatiazolánu a rozdelí sa na (+/-)-cis- a (+/-)-trans-izomér, ako je popísané v Európskom patentovom spise č. 0 382 526. (+/-)-cis-izomér sa fluóruje pôsobením trifluór-metylhypofluoritu v fluórtrichlórmetáne a chloroforme pri teplote -76 °C podľa spôsobu, ktorý popísal Robins a kol. v Nucleic Acid Chemistry, časť 2, str. 695 až 900 (1976). Na-Acetylová a 2-benzoylová skupina sa odstráni pôsobením dimetylaminu v etanole a izoluje sa výsledná zlúčenina, (+/-)-cis-1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytosín.

Spôsob B

Zmes (+/-) cis- a (+/-)-trans-2-benzoyloxymetyl-5-(uracil-1-yl)-1,3-oxatiazolánu sa vyrobí ako je popísané v Európskom patentovom spise č. 0 382 526. Po odstránení 2-hydroxyskupiny nasýteným metanolickým roztokom amoniaku sa izoméry oddelia na silikagéle za použitia zmesi etylacetátu a metanolu ako elučného činidla (Európsky patentový spis č. 0 382 526). (+/-)-cis-izomér sa nechá reagovať s anhydridom kyseliny octovej v pyridíne za laboratórnej teploty na 2-acetát. Rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku pri teplote nižšej ako 30 °C. 2-Acetát sa potom rozpustí v chloroforme a premyje vodným roztokom hydrogénuhličitanu. Oddelená organická vrstva sa vysuší a chloroform sa odparí za zníženého tlaku. (+/-)-cis-2-Acetyloxymetyl-5-(uracil-1-yl)-1,3-oxatiazolán sa fluóruje ako je popísané vyššie (spôsob A) spôsobom, ktorý popísal Robins a kol. Konverzia 5-fluórcytosínovej bázy na 5-fluórcytosínovú bázu sa uskutoční tým, že sa pripraví 4-(1,2,4-triazol-1-yl) derivát podľa spôsobu, ktorý uviedol C. E. Reese v J. Chem. Soc., Perkins I, 1171 (1984) a W. L. Sung v Nucleic Acids Res., 2, 6139 (1981) za použitia 1,2,4-triazolu a 2 ekvivalentov 4-chlór-fenyldichlór-fosfátu v suchom pyridíne pri

laboratórnej teplote. Po tejto konverzii sa uskutoční reakcia s metanolom voľne nasýteným amoniakom pri teplote 0 °C a 2-acetát sa hydrolyzuje, čím sa získa (+/-)-cis-1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozín.

Protivirový účinok

Kombinácie podľa tohoto vynálezu sa testujú na účinok proti HIV pri teste na MT4 bunkách infikovaných HIV, ako popísal D. R. Averett v J. Virol. Methods 23, 263-276 (1989). Bunky sa vystavia pôsobeniu HIV počas jednej hodiny pred pridaním protivirovo účinnej zložky alebo zložiek. Zložky sa testujú pri 2,5-násobnom sériovom riedení. Po piatich dňoch inkubácie pri teplote 37 °C sa stanoví počet buniek. Vypočíta sa inhibícia HIV indukovaná cytopatickým účinkom a synergizmus sa stanoví tým, že sa do grafu vynesú frakčné koncentrácie inhibítora (FIC), ako popísal Elion, Singer a Hitchings v J. Biol. Chem. 208, 477 (1954).

Frakčné koncentrácie inhibítora (FIC) zidovudínu a cis-1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozínu sa vypočítajú podľa metódy Eliona a kol., citované vyššie (pozri tabuľka 1).

Tieto hodnoty sa môžu vyniesť do grafu, z ktorého sa dá zistiť, že kombinácie cis-1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytosínu a zidovudínu pôsobia silne synergicky.

Tabuľka 1

Výpočet frakčnej koncentrácie inhibítora (FIC)

70 % inhibície

Zidovudín (μM)	Zlúčenina 1* (μM)	FIC zidovudínu	FIC zlúčeniny 1
0,004	2,5	0,018	0,48
0,01	2,0	0,045	0,38
0,0256	1,6	0,12	0,31
0,06	1,4	0,27	0,26
0,22	-	-	-
-	5,2	-	-

* Zlúčeninou 1 je cis-1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozín

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Farmaceutická kombinácia vyznačujúca sa tým, že obsahuje zložky
 - a) 1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozin alebo jeho fyziologicky funkčný derivát a
 - b) 3'-azido-3'-deoxytymidín alebo jeho fyziologicky funkčný derivát,pričom zložky a) a b) kombinácie sa používajú v pomere, pri ktorom sa dosiahne synergický protivírusový účinok.
2. Farmaceutická kombinácia podľa nároku 1, vyznačujúca sa tým, že zložkou a) je 1-[2-(hydroxymetyl)-1,3-oxatiazolán-5-yl]-5-fluórcytozin a zložkou b) je 3'-azido-3'-deoxytymidín.
3. Farmaceutická kombinácia podľa nároku 1 alebo 2, vyznačujúca sa tým, že zložky sa používajú v molárnom pomere v rozmedzí od 600 : 1 do 1 : 1 zložky a) ku zložke b).
4. Farmaceutická kombinácia podľa nároku 3, vyznačujúca sa tým, že sa zložky používajú v molárnom pomere v rozmedzí od 250 : 1 do 10 : 1 zložky a) ku zložke b).
5. Farmaceutická kombinácia podľa niektorého z predchádzajúcich nárokov pre použitie v humánnej terapii.
6. Farmaceutická kombinácia podľa nároku 5 pre použitie pri ošetrovaní alebo profylaxii infekcií spôsobených vírusom ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV).
7. Použitie farmaceutickej kombinácie podľa niektorého z nárokov 1 až 4 pre výrobu liečiva pre použitie pri ošetrovaní alebo profylaxii infekcií spôsobených vírusom ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV).

8. Spôsob výroby farmaceutickej kombinácie podľa niektorého z nárokov 1 až 4, vyznačujúci sa tým, že sa uvedú do styku zložky a) a b) kombinácie, pre dosiahnutie synergického protivírusového účinku.
9. Farmaceutický prostriedok, vyznačujúci sa tým, že obsahuje farmaceutickú kombináciu podľa niektorého z nárokov 1 až 4, spolu s aspoň jednou farmaceuticky prijateľnou nosnou alebo pomocnou látkou.
10. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 9, vyznačujúci sa tým, že je vo forme tablety alebo kapsule.
11. Spôsob ošetrovania alebo profylaxie infekcií spôsobených HIV u človeka, vyznačujúci sa tým, že sa tomuto človeku podáva účinné množstvo kombinácie podľa niektorého z nárokov 1 až 6.