



(19) Országkód

HU



**MAGYAR
KÖZTÁRSASÁG**

**MAGYAR
SZABADALMI
HIVATAL**

SZABADALMI LEÍRÁS

(11) Lajstromszám:

218 656 B

(21) A bejelentés ügyszáma: P 94 02392
(22) A bejelentés napja: 1993. 02. 18.
(30) Elsőbbségi adatok:
07/838,546 1992. 02. 19. US
(86) Nemzetközi bejelentési szám: PCT/US 93/01467
(87) Nemzetközi közzétételi szám: WO 93/16706

(51) Int. Cl.⁷

A 61 K 31/7076

A 61 P 25/00

(40) A közzététel napja: 1995. 05. 29.
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlönyben: 2000. 10. 30.

(72) Feltaláló:
Beutler, Ernest, La Jolla, Kalifornia (US)

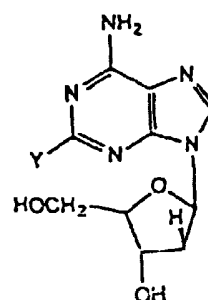
(73) Szabadalmas:
The Scripps Research Institute, La Jolla,
Kalifornia (US)

(74) Képvisező:
Olchváry Gézáné, DANUBIA Szabadalmi
és Védjegy Iroda Kft., Budapest

(54) **Eljárás szubsztituált adeninszármazékokat tartalmazó,
sclerosis multiplex kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények
előállítására**

KIVONAT

A találmány multiplex szklerózis kezelésére alkalmas
gyógyszerkészítmény előállítási eljárására vonatkozik.
A találmány szerinti gyógyszerkészítmény (I) általános
képletű adeninszármazékokat tartalmaz,
amely képletben
Y jelentése halogénatom.



(I)

HU 218 656 B

A találmány szubsztituált adeninszármazékok alkalmazására vonatkozik szklerózis multiplex kezelésénél.

A szklerózis multiplex (MS) az agyban és a gerincagyan (központi idegrendszer) végbemenő dezmielináció eredménye. Ezen dezmielinációból eredő szimptomák közé tartozik a gyengeség, látáscsökkenés, koordinálatlanság és a paresztézia (abnormális zsibbadás). A betegség lefutása előre nem megjósolható, de gyakran a szimptomák súlyosbodásával, majd enyhülésével kapcsolatos ciklusok alakulnak ki.

Az általánosan alkalmazott kezelési eljárásnál ACTH-t (adenokortikotropin) vagy kortikoszteroidokat, így például prednizolont alkalmaznak. Ellenőrzött vizsgálatokkal kimutatták, hogy az ilyen kezelések az akut szimptomák és tünetek gyors javulását váltják ki, azonban a betegségre hosszú távon nem hatnak. Az ACTH-val vagy a kortikoszteroidokkal hosszú időn át végzett kezeléseik kontraindikáltak. Bizonyítékokkal támasztották alá, hogy az immunosuppresszáns szerek hosszú távon nem előnyösek [Cecil, Textbook of Medicine, Beeson és munkatársai (szerk.), 15. kiadás, W. B. Saunders Company, Philadelphia, (1979), 847. oldal].

A multiplex szklerózis etiológiája nem ismert, de különböző genetikai és környezeti faktorokkal kapcsolatos. Mind a sejtközvetített, mind a humorális immunválaszok, amelyeket szerven kívüli vagy autoantigének váltanak ki, hozzájárulhatnak a multiplex szklerózis patogeneziséhez. Bizonyos immunválasz gének fokozhatják a betegségre való érzékenységet. A betegséget T-sejtek is közvetíthetik, amelyek felismernek egy még nem azonosított autoantigént. Így például kísérleti úton a allergiás encefalomielitisz (EAE), amely a dezmielinációs betegségek, így például a multiplex szklerózis állati modellje, kiváltható egerek teljes myelinnel vagy specifikus myelinkomponensekkel, így például myelin bázisproteinnel való immunizálásával.

Multiplex szklerózisban szenvedő humán betegeknél a betegség súlyosbodása összefüggésben van a vérben és az agy-gerincvelő folyadékban lévő neopterin magas szintjével. A neopterin a monocitákból és makrofágokból aktivált T-sejtek jelenlétében felszabaduló faktor, amely így ezeket a sejteket bevonja a multiplex szklerózis súlyosbodásába [Fredrickson és munkatársai (1987), Acta Neurol. Scand., 75: 352–355; Huber és munkatársai (1984), J. Exp. Med., 160: 310–316]. Mikroszkopikus szintnél a monociták, a mikroglia-sejtek (a központi idegrendszer makrofágjai) és az aktivált T-sejtek az idegsejtek dezmielinációs szakaszán belül találhatóak a multiplex szklerózis súlyosbodási folyamatában. [Cecil, Textbook of Medicine (1979), Beeson és munkatársai (szerk.), W. B. Saunders Co., Philadelphia, Pa.]

Különböző kezelési eljárásokat alkalmaztak a multiplex szklerózis tüneteinek kezelésére. Ezek közül többnél csillapító hatású gyulladásgátló szereket alkalmaztak. A mai napig azonban egyik kezelés sem mutatott kifejezett pozitív hatást a betegség folyamatában.

Az utóbbi időben a szakterületen ismertették specifikus dezoxiribozidok mint gyulladásgátló szerek alkal-

mázását. Így például az US-P 4 481 197 számú szabadalmi leírásban szubsztituálatlan 3-dezaza-2'-deoxiadenozin-származékok alkalmazását ismertetik gyulladáscsökkentő kezelésére. Az US-P 4 381 344 számú szabadalmi leírás dezoxiribozidok előállítását ismerteti, amelynél bakterialis foszforiláz alkalmaznak.

Egy dezoxiribozidszármazékot, a 2-klór-2'-deoxiadenozint (CdA) hatásos szernek találták a krónikus limfocita leukémia és néhány T-sejt rosszindulatú elváltozás kezelésére [Carson és munkatársai (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 81: 2232–2236; Piro és munkatársai, (1988), Blood 72: 1069–1073]. Ismertették és összehasonlították az orálsan és szubkután adagolt 2-klór-2'-deoxiadenozin farmakokinetikáját a krónikus limfocita leukémia kezelésénél [Liliemark és munkatársai, (1992) Journal of Clinical Oncology, 10, (10): 1514–1518; Juliusson és munkatársai, (1992) Blood, 80 (1. kiegészítő kötet): 1427]. A krónikus limfocita leukémia a B limfociták rosszindulatú elváltozása és a Leu-1 felületi antigént tartalmazza.

A Leu-1 B sejtek egy kis részét képezik a normál B limfocitáknak, általában azok 20%-át teszik ki. A Leu-1 B sejtek felületi markereket expresszálnak, amelyek tipikusan megtalálhatók a monocitákon (Mac-1 antigén) és a T-limfocitákon (Leu-1 antigén). A krónikus limfocita leukémiában szenvedő betegek körülbelül 10%-ánál mutatható ki autoimmunitás és az utóbbi időben felismerték, hogy a Leu-1 B sejtek részei az autoimmun betegségek patogenezisének.

A krónikus limfocita leukémiában szenvedő humán betegek klinikai vizsgálatának I fázisa kimutatta, hogy a 2-klór-2'-deoxiadenozin növekvő dózisával végzett infúzióval (0,1–0,5 mg/kg naponta, mg/kg/nap) a hatóanyag növekvő plazmakoncentrációját nyerik [10–50 nmol (nM)]. Ezek az infúziók azt mutatták, hogy ez a hatóanyag jól tolerálható és nem indukál hányingert, hányást vagy lázt. A dózislimitáló toxicitást a csontvelő-szuppresszió jelentette, amely általában >0,2 mg/kg/nap dózisonál vagy >20 nmol plazmaszintnél következett be.

C. J. Carrera és munkatársai leírják (J. Clin. Invest.; 86, 5. szám, 1990. november, 1480–1488), hogy a CdA szövetspecifikus citotoxicitású humán limfocitákkal és monocitákkal szemben és sugallják, hogy ezek alkalmazásuk lehetnek krónikus gyulladáscsökkentő és autoimmun betegségek kezelésénél, amelyekre a nem megfelelő monocitaösszpontosulás jellemző. A publikáció semmiféle utalást nem tartalmaz azonban a szklerózis multiplexre, illetve arra, hogy e betegség bármiféle kapcsolatban lehet a monocitákkal.

Más vizsgálatok kimutatták, hogy a 2-fluoradenozin relatíve nagymértékben citotoxikus [Montgomery és munkatársai (1959), J. Am. Chem. Soc., 82: 463–468]. A szerzők beszámoltak arról, hogy a C57 fekete egerek, amelyekbe Adenocarcinoma 755 (AD755) implantálását végezték el, csak körülbelül 1 mg/kg mennyiséget képesek tolerálni. A 2-fluoradenozint ennélfelül a mennyiségénél inaktívnak találták Ad755-tel, valamint a leukémia L1210-zel és az Erlich ascites tumorról szemben.

Az US-P 4 751 221 és 4 918 179 számú szabadalmi leírásokban több 2-szubsztituált-2'-deoxi-2'-fluor-arabinofuranozil nukleozidok, beleértve az adeninszár-
mázékokat is, szintézisét és alkalmazását ismertetik. Ezek a vegyületek tumorelles és antitypanoszomás
hatásúak. A citotoxikus adatok szerint a 2-amino-6-
tiopurin, a guanin és tiopurinszár-
mázékok patkány- és
humán sejtvonalakkal szemben tumorelles hatásúak.

Az US 5 034 518 számú szabadalmi leírásban a 2-szubsztituált-2'-deoxi-2'-fluor-araadenozinok előál-
lítását ismertetik. Ezek a vegyületek rákellenes hatású-
ak, és a leírásban adatokat ismertetnek arra vonatkozó-
an, hogy a P388 leukémiasejtekkel transzplantált ege-
rek élettartama meghosszabbítható.

Az EP 364 559 számú szabadalmi leírás szerint a CdA citotoxikus a cirkuláló monocitákkal szemben, és alkalmazható a monociták által közvetített betegségek kezelésére. A felsorolt betegségek között azonban nem említik a szklerózis multiplexet.

A CdA biokémiai sejtekben mutatott biokémiai akti-
vására vonatkozó adatokat foglalja össze Ernest Beutler [The Lancet (1992), 340: 952-956].

A 2',3'-dideoxinukleozidok az 5'-helyzetben foszforileződnek a T-sejteken belül, így képződnek az 5'-nukleotid-trifoszfát-szár-
mázékok. Ezekről a szár-
mázékokról ismert, hogy szubsztrátumként szolgálnak reverz transzkriptáz enzimek számára [Ono és munkatársai (1986), Biochem. Biophys. Res. Comm., 2: 498-507].

Az ilyen 2',3'-dideoxinukleozid-5'-trifoszfátokat hasznosítják az emlős β és γ DNS-polimerázok is [Waquar és munkatársai (1984), J. Cell. Physiol., 121: 402-408]. Ezek azonban nem kielégítő szubsztrátumok a DNS-polimeráz-alfa számára, amely egy fontos enzim, és felelős mind a helyreállítás, mind a replikatív DNS-szintézisért a humán limfocitáknál. Bizonyos mértékben ezek a tulajdonságok magyarázhatják a 2',3'-dideoxi-nukleozidok szelektív anti-HIV-aktivitását.

Chan és munkatársai [J. Cell. Physiol., 111: 28-32 (1982)] tanulmányozták a pirimidin nukleotid metabolizmus végbemenetelét patkány peritoneális makrofágok és monociták esetében, és leírták, hogy a dezoxicitidin kináz vagy timidin kináz mennyisége ezekben a sejtekben nem mutatható ki. Ugyanakkor nagy mennyiségben találtak adenzin kinázt.

Hasonló nagy mennyiségű adenzin kinázt találtak humán monocitákban és humán monocita eredetű makrofágokban (MDM). Azt találták, hogy az MDM aktivitása körülbelül egytized-egynegyede a GEM T limfoblasztok (például ATCC CCI 119) nukleozid kináz aktivitásának uridinnal, dezoxicitidinnel és timidinnel szemben, és körülbelül kétharmada a GEM-sejtek adenzin kináz aktivitásának. Továbbá, az MDM-sejtek ezen adenzin kináz aktivitása legalább 10-szer magasabb, mint bármely más kinázaktivitás. Ezek a tanulmányok továbbá relatíve alacsony nukleozidfoszforilezési szintet mutattak ki AZT, didezoxicitidin (DDC) és 2',3'-didezoadenzin (DDA) alkalmazásával, intakt GEM T limfoblasztoknál és még alacsonyabb szinteket MDM esetén.

Különböző 2-szubsztituált adenzinszár-
mázékokról ismertették, hogy nem dezaminálhatók adenzin dezaminázzal. Így például leírták, hogy a dezoadenzin-1-N-oxid, valamint a 2-hidroxi-, 2-metil-, 2-klór-, 2-acetamido- és 2-metil-tio-adenozinok sem nem szubsztrátumok, sem nem inhibitorok adenzin dezamináz számára [Coddington (1965) Biochim. Biophys. Acta, 99: 442-451]. Montgomery bemutat egy táblázatot [Nucleosides, Nucleotides, and Their Biological Applications, Rideout és munkatársai, kiadó: Academic Press, New York, 19 (1983)] összehasonlító K_m és V_{max} adatokkal az adenzin, 2-halogén-adenozinok, 2-halogén-dezoadenzinok és 2-fluor-arabinoadenozinok esetén, amelyek szintén azt mutatják, hogy az ilyen 2-halogén-adenin-szár-
mázékok gyenge szubsztrátumok az enzim számára magát az adenint illetően. Stoeckler és munkatársai [Biochem. Opharm., 31: 1723-1728 (1982)] leírják, hogy a 2'-deoxi-2'-azido-ribozil és 2'-deoxi-2'-azidoarabinozil-adenin-szár-
mázékok szubsztrátumok a humán eritrocita-adenzin-dezamináz számára, míg mások munkái szerint a 2-fluor-adenzin elhanyagolható aktivitású adenzin dezaminázzal szemben.

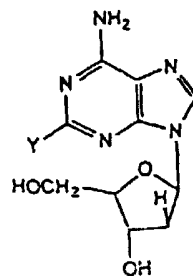
A 2-klór-2'-dezoadenzin nem osztdó (normál) humán perifériális vér limfocitákkal foszforileződik és 5'-trifoszfáttá alakul. Ezt az adeninszár-
mázékot az in-
takt humán sejtek vagy sejtextraktumok szignifikáns mértékben nem katabolizálják, és hatásosan T-limfocitákkal foszforileződik [Carson és munkatársai, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 6865-6869 (1980)].

Mint már a fentiekben említettük, nagy mennyiségű adenzin kinázt találtak patkány peritoneális makrofágokban és humán monocitákban. Az adenzin kináz foszforilezheti a 2'-dezoadenzin-szár-
mázékokat, de mégis kevésbé hatásos, mint a dezoxicitidin kináz [Hershfield és munkatársai, J. Biol. Chem., 257: 6380-6386 (1982)].

A következőkben kemoterápiás szereket ismertetünk, amelyek terápiás szerként alkalmazhatók multiplex szklerózis kezelésénél.

Közelebbről a találmány tárgya eljárás szklerózis multiplex kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmények előállítására, amelyek gyógyszerészetileg elfogadható hordozóanyagok mellett valamely szubsztituált adeninszár-
mázékot tartalmaznak. A szubsztituált adeninszár-
mázékok mennyisége a farmakológiailag elfogadható hordozóanyagban olyan, hogy a kezelés folyamán a terápiásan hatásos dózist biztosítja.

A találmány szerinti gyógyszerkészítményekben felhasználásra kerülő adeninszár-
mázékokat az (I) általános képlettel írjuk le



amely képletben

Y jelentése halogénatom.

Különösen előnyös (I) általános képletű vegyület a 2-klór-2'-deoxiadenozin.

Ezen vegyületek előállítását például az USP 5 106 837 számú szabadalmi bejelentésben ismertetik, de a vegyületek előállíthatók, bármely más ismert, az (I) általános képletű vegyületek előállítására alkalmas eljárással is.

A találmányunk értelmében a multiplex szklerózisban szenvedő betegek állapota javítható, ha a fentiekben ismertetett készítményben a (I) általános képletnek megfelelő vegyületeket terápiásan hatásos dózisban alkalmazzuk. Ez a dózis például 0,04–1 mg/kg/nap, előnyösen 0,04–0,2 mg/kg/nap. Tipikusan e mennyiség elegendő, hogy a beteg plazmájában 0,5 nmol–50 nmol, előnyösen 1 nmol–10 nmol koncentrációt biztosítson.

A találmány szerinti készítményt előnyösen szubkután injekció formájában alkalmazzuk, így adagoljuk a multiplex szklerózis kezeléséhez szükséges hatásos mennyiségű hatóanyagot.

A hatóanyag hatásos mennyiségét orálisan is adagolhatjuk.

Mindegyik fentiekben említett adagolási módszerrel a 2'-deoxiadenozin-származékokat terápiásan hatásos mennyiségben adagoljuk. A (I) általános képletnek megfelelő vegyület hatása függ az adagolás módjától, az időtől és a dózistól. Ennek megfelelően a dózis, valamint az adott vegyület adagolási intervalluma beállítható a betegségnek, valamint a kezelendő beteg állapotának megfelelően. Ahol a multiplex szklerózis előrehaladott stádiumban van vagy életveszélyes, a kezelés agresszívabb lehet, és a terápiásan hatásos mennyiség az a mennyiség, amely elegendő ahhoz, hogy legalább a jelen lévő monociták 50%-át elpusztítsa, de kevesebb annál, amely lényegesen gátolná a csontvelő működését, amelyet szokásos módszerrel határozzunk meg in vivo adagolás esetén. A (I) általános képletű vegyület monocitapustító mennyisége egy másik mértéke a terápiásan hatásos dózisnak, és a monociták pusztulását az adagolás kezdetétől számított 7 nap után határozzuk meg.

Mint már említettük, az előnyös (I) általános képletű vegyület a 2-klór-9,1'-béta-D-2'-deoxiribozil-adenin, amelyet más néven 2-klór-deoxiadenozinként vagy CdA-ként ismerünk.

Példaképpen felsoroljuk még a következő (I) általános képletnek megfelelő vegyületeket:

2-bróm-9,1'-béta-D-2'-deoxiribozil-adenin;

2-fluor-9,1'-béta-D-2'-deoxiribozil-adenin.

A fenti képletben, a purinvázon és a furanozidilgyűrűn lévő hidrogénatomok, amelyek nem szükségesek az adott kötés körüli szerkezet kialakításához, nincsenek jelölve. Így például nincs jelölve az adenin 8-helyzetén lévő hidrogénatom.

Nyilvánvaló az is, hogy a képlettel leírt vegyületek szóban forgó izomerjei D izomerek. Megjegyezzük továbbá, hogy a „halogénatom” kifejezés magában foglalja a fluor-, klór- és brómszármazékokat, és nem vonatkozik a jódszármazékokra, amelyek nem stabilak és

bomlanak, valamint az asztatinszármazékokra, amelyek radioaktívak. Ahol egy adott halogénszármazékot kívánunk említeni, ott a vegyületet pontosan megnevezzük.

A találmány szerinti megoldásnál az (I) általános képletű vegyületek gyógyászatilag elfogadható sói is alkalmazhatók, így a találmány ezen sók alkalmazására is vonatkozik.

A „gyógyászatilag elfogadható só” kifejezés a nem-toxikus savaddíciós sókra vonatkozik, amelyeket ismert módon állíthatunk elő az adott vegyület és egy alkalmas szerves vagy szervetlen sav reagáltatásával. Példaképpen említjük a hidroklorid-, hidrobromid-, szulfát-, foszfát-, citrát-, acetát- vagy maleátsókat.

Készítmények

Az (I) általános képletnek megfelelő vegyületet feloldjuk vagy diszpergáljuk egy gyógyászatilag elfogadható hordozóanyaggal együtt vagy abban, így nyerjük a találmány szerinti készítményt.

Az (I) általános képletnek megfelelő vegyületek, valamint gyógyászatilag elfogadható sóik alkalmasak rövid idejű vagy hosszan tartó kezelésre egyaránt, ezeket például a szubkután injekcióval, parenterálisan, orálisan vagy rektálisan kúpok formájában, hatásos mennyiségben adagoljuk.

Bár az (I) általános képletnek megfelelő vegyületeket, valamint gyógyászatilag elfogadható sóikat önmagukban is adagolhatjuk, előnyösen gyógyászati készítmények formájában végezzük az adagolást. Mindenképpen azonban olyan mennyiségben adagoljuk, amely a szükséges terápiásan hatásos dózist biztosítja.

Ennek megfelelően a találmány értelmében olyan gyógyszerkészítményeket alkalmazunk, amelyek az (I) általános képletű vegyület vagy gyógyászatilag elfogadható sója hatásos mennyiségét tartalmazzák – ezeket a következőkben hatóanyagként vagy szerként is említjük – a gyógyászatilag elfogadható hordozóanyagban vagy hígítóanyagban oldva vagy diszpergálva.

A találmány szerinti gyógyszerkészítményeket bármely ismert módszerrel előállíthatjuk, amelyek mindegyikénél a hatóanyagot és a szükséges hordozóanyagot egymással érintkezésbe hozzuk. A találmány szerint felhasználásra kerülő vegyületeket az ismert gyógyszerkészítmények formájában adagolhatjuk. Ezek a készítmények lehetnek orális, szubkután vagy parenterális adagolásra alkalmas készítmények vagy kúp-készítmények. Ezekben a készítményekben a hatóanyagot általában a fiziológiailag elfogadható hordozóanyagban oldjuk vagy diszpergáljuk.

A találmány szerinti készítményeknél a hordozóanyag vagy hígítóanyag „farmakológiailag elfogadható” kell hogy legyen, ami azt jelenti, hogy a többi alkotóval kompatibilis, és nem káros. A továbbiakban a „fiziológiailag elfogadható” és „farmakológiailag elfogadható” kifejezéseket egyaránt alkalmazzuk, és ezek olyan molekulákra és kompozíciókra utalnak, amelyek nem váltanak ki allergiás vagy más hasonló nemkívánatos reakciót, így például gyomorbántalmat, hányingert stb., ha azokat említsük adagoljuk. A fiziológiailag elfogadható hordozóanyag a legkülönbözőbb féle lehet,

függően a kívánt adagolási formától, valamint adagolási módtól.

Előnyösek például az (I) általános képletű vegyületet tartalmazó folyékony készítmények, így például steril szuszpenziók vagy oldatok, vagy izotóniás készítmények, amelyek alkalmas konzerválóanyagokat is tartalmaznak. Különösen alkalmasak a találmány szerinti célra az injekciós közegek, amelyek vizes injekciózható izotóniás és steril sóoldatból állnak, vagy glükózoldatok. További előnyös folyékony készítmények még az ízesített emulziókat vagy ehető olajokat, így például gyapotmagolajat, szezámolajat, kókuszdióolajat vagy földimogyoró-olajat, továbbá elixíreket és más hasonló gyógyszerészeti hordozóanyagot tartalmazó készítmények.

A hatóanyagot liposzómák formájában is adagolhatjuk. Mint az a szakterületen ismert, a liposzómákat foszfolipidekből vagy más lipidanyagokból származtatjuk. A liposzómák mono- vagy többrétegű hidratált folyadék-kristályok, amelyeket vizes közegben diszpergálunk. Bármely nemtoxikus, fiziológiailag elfogadható és metabolizálható lipid, amely liposzómaképzésre alkalmas, felhasználható. A találmány szerinti liposzóma formájú készítmények tartalmazhatnak stabilizátorokat, konzerválóanyagokat, vívőanyagokat stb. a hatóanyag mellett. Az előnyös lipidek közé tartoznak például a foszfolipidek és a foszfatidil-kolinok (lecitinek) mind természetes, mind szintetikus formában.

A liposzómák előállítása a szakterületen ismert, így például a következő irodalmi helyen ismertetik: [Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, XIV. kötet, Academic Press, New York, N. Y., 33. oldaltól (1976)].

Az (I) általános képletnek megfelelő hatóanyagokat tabletták vagy pirulák formájában is előállíthatjuk, amelyek előnyösen a hatóanyag egységdózisát tartalmazzák. Erre a célra a hatóanyagot ismert tablettázókomponensekkel keverjük el, erre a célra például a következők alkalmazhatók: kukoricakeményítő, laktóz, szacharóz, szorbit, talkum, sztearinsav, magnézium-sztearát, dikalcium-foszfát, gumi vagy más hasonló, nemtoxikus, fiziológiailag elfogadható hordozóanyagok. A tablettákat vagy pirulákat bevonattal is elláthatjuk, vagy más formában is kialakíthatjuk a nyújtott hatású vagy késleltetett hatású dózisegységek előállítása érdekében.

A találmány szerinti gyógyászati készítmények a fentiekben említett komponenseken kívül, ha szükséges, tartalmazhatnak még egy vagy több további hordozóanyagot, így például valamely következő anyagot: hígítóanyagok, pufferek, ízesítőszerke, kötőanyagok, felületaktív anyagok, sűrítőanyagok, csúsztatóanyagok, konzerválóanyagok (antioxidánsok is) stb., valamint tartalmazhatnak olyan anyagokat, amelyek a készítményeket a vérrel izotóniássá teszik.

A tablettákat vagy pirulákat enterális bevonattal is elláthatjuk, amely egy olyan burkolatot biztosít, amely ellenálló a gyomorban való dezintegrálódásnak, és lehetővé teszi, hogy a hatóanyag intakt módon jusson a duodenumba, vagy pedig késleltetett hatású legyen. Enterális bevonat céljára a legkülönbözőbb anyagok alkalmazhatók, így például a következők: polimer savak vagy ilyen savak különböző anyagokkal, így például

sellakkal alkotott keveréke, sellak és cetil-alkohol, cellulóz-acetát-ftalát stb. A különösen előnyös enterális bevonat sztirol-maleinsav-kopolimert tartalmaz ismert anyagokkal együtt, amely biztosítja a bevonat enterális tulajdonságait. Az enterális bevonatú tabletták előállítására alkalmas módszert ismertetnek például az US-P 4 079 125 számú szabadalmi leírásban.

Az „egységdózis” kifejezés olyan fizikailag meghatározott egységekre vonatkozik, amelyek alkalmasak a betegnek való adagolásra, és amelyek mindegyike előre meghatározott mennyiségű hatóanyagot tartalmaz, amelyek a kívánt terápiás hatást biztosítják a gyógyászati lag elfogadható hígítóanyagokkal együtt. Ilyen egységdózis formák lehetnek például a következők: tabletták, kapszulák, pirulák, porcsomagok, granulátumok, ostyák, kasettek, kanalas és csöpögtető készítmények, ampullák, fiolák, ezek elkülönített többszöröseit.

A vegyületek szubkután injekció formájában való alkalmazása különösen kedvező adagolási mód, ezen adagolás igen előnyös farmakokinetikai tulajdonságainak köszönhetően.

Az orális adagolás szintén egy kedvező módszer. A bioaktív nukleozidvegyületek orális adagolásával kapcsolatos egyik hátrány azonban ezen vegyületek potenciális bomlása a gyomor savas körülményei között, azaz a glükozidkötés hajlamos savas körülmények között hidrolizálni.

Azonban, ha orális adagolásra van szükség, az adeningyűrű 2-helyzetében megfelelően megválasztott szubsztitúciójú (I) általános képletű vegyületet alkalmazunk, 2'-fluor-szubsztituált arabinofuranozidil-gyűrűvel együtt.

Marquez és munkatársai [*Biochem. Pharm.*, 36: 3 2719-2722 (1987)] ismertetik a 2'-fluor-2',3'-didezoxiribóz és 2'-fluor-2',3'-didezoxiarabinóz-adenin-származékok előállítását. Azt állítják, hogy mindegyik származék stabil pH 1 értéknél 37 °C hőmérsékleten, míg a didezoxiadenozin felezési ideje ezen körülmények között 35 másodperc.

Egy adeninszármazék azon képessége, hogy alkalmas-e szubsztrátumként az adenzin dezamináz számára, sokkal inkább függvénye az adeninrész 2-helyzetében lévő szubsztituensnek vagy annak hiányának, mint a kapcsolódó cukorrész szubsztituenseinek, legalábbis ami a mindkét gyűrű szubsztituenseit illeti.

Eljárások

Mint azt már korábban is említettük, a találmány szerinti gyógyszerkészítmények alkalmasak multiplex szklerózis kezelésére. Ennél a kezelésnél a multiplex szklerózisban szenvedő beteget egy találmány szerinti készítménnyel kezeljük, amely készítmény hatóanyagként egy (I) általános képletnek megfelelő szubsztituált adeninszármazékot (szubsztituált 2'-dezozi-adenozint) tartalmaz gyógyászati lag elfogadható hordozóanyagban oldva vagy diszpergálva. A készítményben a szubsztituált adeninszármazék mennyisége olyan, hogy a kívánt terápiás hatást biztosítsa a kezelés időtartama alatt. A kezelést általában periodikusan, így például hetenként vagy havonként ismétlik több hónaptól körülbelül egy évig terjedő időtartam alatt.

A készítményben az (I) általános képletnek megfelelő vegyület mennyisége különböző változóktól függ. Egyik ilyen változó az adagolás módja. A különböző adagolási módokhoz tartozó koncentrációértékeket például képpen a következőkben fogjuk majd megadni.

Ha in vivo történik az adagolás, az adagolt mennyiség kisebb, mint amelynél lényeges csontvelő-károsodás mutatható ki a szokásos eljárásokkal. A szükséges terápiás dózis definiálására az egyik módszer például az, hogy a szükséges dózis az a mennyiség, amely elegendő az eredetileg meglévő monociták legalább 50%-ának elpusztításához, miközben lényeges csontvelő-károsodás nincs.

A fentiek szerint az (I) általános képletnek megfelelő 2'-dezoxi-adenin-származék vagy gyógyszerileg elfogadható sójának mennyisége olyan, hogy a készítmény adagolásával 0,04–1 mg/kg dózist lehessen a kezelt emlősnek adagolni naponta, ez a mennyiség előnyösen 0,04–0,20 mg/kg/nap, még előnyösebben 0,05–0,15 mg/kg/nap, és különösen előnyösen 0,1 mg/kg/nap, in vivo adagolásnál. Ez a mennyiség különösen előnyösen megfelel a terápiásan hatásos dózishoz, ha az (I) általános képletnek megfelelő vegyületet infúzió útján adagoljuk.

Az (I) általános képletnek megfelelő vegyület vagy gyógyszerileg elfogadható sójának moláris koncentrációja a plazmában a kezelés alatt előnyösen 1 nM 100 nM közötti érték, különösen 5 nM és 50 nM még előnyösebben 10 nM és 20 nM közötti érték. A 2'-dezoxi-adenin-származék moláris koncentrációjának meghatározása a kezelt egyén plazmájában egy további módszer a terápiásan hatásos dózismennyiség meghatározására, amelyből viszont a készítményben lévő mennyiség számolható.

Nyilvánvaló, hogy a fentiekben említett terápiásan hatásos dózisértéknél nem szükségszerűen egyetlen adagolás eredményei, hanem általában több egységdózis adagolásából adódnak. Ezek az egységdózisok viszont tartalmazhatják a napi vagy heti dózis részeit is, és így a terápiásan hatásos dózist a kezelési időtartam (érintkezési idő) alatt határozzuk meg.

Előnyös adagolási mód az orálisan és szubkután injekció formájában történő adagolás, mint azt már említettük. A kívánt plazmakoncentráció elérése érdekében a dózisok határát az adott adagolási módtól, az adott kezelés céljától, valamint az adott vegyülettől függően határozzuk meg.

Így például orálisan adagolás esetén a napi dózis lehet például 0,04–1 mg/kg, előnyösen 0,04 és 0,2 mg/kg/nap, még előnyösebben 0,05–0,15 mg/kg/nap közötti érték, egész különösen előnyösen 0,1 mg/kg. Általában az adagolt szubsztituált adeninszármazék mennyisége relatíve széles határok között változhat a kívánt plazmakoncentráció elérése, és még előnyösebben megtartása érdekében.

Az adeninszármazékokat tartalmazó egységdózisok előnyösen 0,1–15 mg hatóanyagot tartalmaznak. Az előnyös egységdózis általában 0,1–1 mg hatóanyagot tartalmaz, és ezt 2–5 alkalommal adagoljuk naponta. Megjegyezzük azonban, hogy eljárhatunk úgy is, hogy

a fentiekben említett plazmakoncentrációt folyamatos infúzió formájában biztosítjuk, amelynek a sebességét a kívánt koncentrációnak megfelelően állítjuk be.

Egy adott kezelés időtartama függ a betegség komolyságától, továbbá attól, hogy a kezelést akut kezelés céljából vagy pedig profilaktikus céllal végezzük. Az adagolás általában 5–14 napon át tart, a 7 napos kezelés a szokásos. Az adagolási ciklust havi intervallumokban ismételtetjük, vagy a parenterális egységdózisokat heti intervallumokban adagoljuk. Az orális egységdózisokat 1–7 napos intervallumban adagoljuk a kívánt terápiásan hatásos dózis biztosítására. Ily módon a fentiekben említett dózisok 5–14 napon át vagy heti vagy napi intervallumokban történő in vivo adagolása biztosítja a megfelelő mennyiséget az eredetileg jelen lévő monociták legalább 50%-ának elpusztításához.

Ez a kezelési eljárás csökkenti a monociták szintjét a vérben, azáltal, hogy az alkalmazott (I) általános képletnek megfelelő vegyületek toxikusak rájuk. Ezzel a módszerrel a kezelt emlősök véráramában a cirkuláló monociták száma 90%-kal csökkenthető a kezelést megelőző számhoz viszonyítva 7 napos kezelési idő alatt, és a cirkuláló monociták száma a kezelést megelőző szintre körülbelül 2 héttel azután áll vissza, ahogy a kezelést leállítottuk. Ezt a kísérleti vizsgálatot a következőkben illusztráljuk.

A kezelést végezhetjük egy kevésbé agresszív módon is. Ennél a módszernél az előzőekben említett dózist, például plazmakoncentrációt alkalmazzuk szintén, de rövidebb kontakt idővel úgy, hogy a monociták működése károsodik ugyan, de a monociták nem pusztulnak el teljesen, mint az az előzőekben említett kezelésnél bekövetkezik. A monociták működésének károsodása azt jelenti, hogy az (I) általános képletű vegyület jelenlétében 72 órás tenyésztéssel nyert monociták legalább 25%-os csökkenést váltanak ki az interleukin-6 (IL-6) spontán szekréciójában. Egy, a monociták károsodásának meghatározására alkalmas módszert a következőkben ismertetünk.

Egy példaképpeni kezelési eljárásnál az (I) általános képletű vegyületet 0,04–1, még előnyösebben 0,04–0,2, egészen különösen előnyösen 0,05–0,15 közötti, és különösen 0,1 mg/kg/nap mennyiségben adagoljuk. Az ilyen kezeléssel általában 0,5 nM és 50 μ M közötti plazmakoncentrációt, még előnyösebben 10 nM és 10 μ M közötti plazmakoncentrációt biztosítunk. Az egyetlen adagolást periodikusan, így például hetenként ismételtjük több hónapos időtartamon át, így például 3–9 hónapon át. Általában a kezelést 5–7 napon át végezzük, és 3–4 hetes intervallumokban ismételtjük több hónapon át, például 3–9 hónapon át.

Az ilyen adagolást járóbeteg-rendelésen is elvégezhetjük intravénás infúzió formájában, amely 2–4 órán át tart. Ez a kezelés messze nem jelent olyan igénybevételt, mint a több napon át végzett folyamatos infúzió, amely kórházi jelenléte igényel a legtöbb emlős, így például a humán betegek számára. A kevésbé igénybevevő folyamatos infúziós módszer, amely egy szivattyúval összekapcsolt katéter révén automatikusan, előre

meghatározott dózis adagolását teszi lehetővé, biztosítja a beteg ambuláns ellátását.

Bármelyik fentiekben említett módszer elvégezhető úgy is, hogy a beteg folyamatosan kapja a korábbi gyógyszert vagy gyógyszereket, vagy elvégezhető az ilyen előzetes kezelés után is. Ha a betegnél abbahagy-
5
nak egy korábban akár részlegesen hatásos kezelést, a szimptómák súlyosbodása fordulhat esetenként elő, ami tipikusan néhány hónap után mérséklődik. Továbbá esetenként, ha az előzetes kezelési módot abbahagy-
10
ják, és valamely fenti módszert alkalmazzák, az előzetes kezelést a fenti módszer megszüntetése után lehet folytatni, és ez gyakran igen pozitív eredményt ad.

A 2-klór-dezoxi-adenozin adagolására és dózisaiba vonatkozó kezelési előírások a multiplex szklerózistól el-
15
térő betegségek esetében az irodalomban le vannak írva [Ernest Beutler, *The Lancet*, 340: 952–956 (1992)]. Első közelítésben a 2-klór-dezoxi-adenozin farmakokinetikája és a monociták szintjére való hatása független a kezelt betegség körülményeitől.

Vegyületek előállításá

Az (I) általános vegyületek előállítását úgy végezzük, hogy a megfelelően szubsztituált adenint közvetlenül a megfelelően szubsztituált cukorgyűrűvel kondenzáljuk Montgomery és munkatársai módszere szerint
25
[Montgomery és munkatársai, *J. Med. Chem.*, 29: 2389–2392 (1986)], vagy az US–P 4 082 911 számú szabadalmi leírásban leírtak szerint, vagy Herdewijn és munkatársai módszere szerint [*J. Med. Chem.*, 30: 2131–2137 (1987)]. A megfelelően szubsztituált adenint például a következő irodalmi helyeken ismertetett eljárásokkal, vagy azokkal analóg eljárásokkal állíthatjuk elő. Még tovább, Wright és munkatársai [*J. Org. Chem.*, 35: 4617–4618 (1987)] az utóbbi időben előállítottak 2-klór- és 2-bróm-2'-dezoxi-adenozinokat a
30
megfelelő 2,6-dihalogén-purin és 3',5'-védett-alfa-1-klór-ribóz közvetlen reakciójával nátrium-hidrid és acetonitril jelenlétében, ezután metanolos ammóniával 60 °C hőmérsékleten kezelik a kapott 3',5'-hidroxilokat, és kialakítják a végső adenzintermék 6-amino-
35
csoportját. Fukukawa és munkatársai [*Chem. Pharm. Bull.*, 31(5): 1582–1592 (1983)] szintén eljárást ismertettek a 2'-dezoxi-2'-arahalogén-szubsztituált adenzinszármazékok előállítására.

A találmány szerinti felhasználásra kerülő 2'-
45
dezoxi-2'-fluor-arabinofuranozil-adenin-vegyületek előállítását a következő példákban ismertetjük. Az eljárás hasonló Marquez és munkatársai által leírt eljáráshoz [*Biochem. Pharmacol.*, 36: 2719–2722 (1987)], amelyben 6-klór-purint kondenzálnak 3-O-acetil-5-O-benzoil-
50
2-dezoxi-2'-fluor-D-arabinofuranozil-bromiddal. A funkcionális halogén-cukrot Reichman és munkatársai szerint állítjuk elő [*J. Carbohydr. Res.*, 42: 233 (1975)], és a 2'-dezoxi-2'-fluor-arabinofuranozil-adenin-vegyületet koncentrált metanolos ammóniával végzett ammóniolízissel nyerjük, amely során a védőcsoportot távolítjuk el.

A találmányt közelebbről a következő példákkal illusztráljuk, amellyel semmiképpen sem kívánjuk azonban oltalmi körünket korlátozni.

1. példa

Multiplex szklerózis kezelése CdA-val

A vizsgálathoz négy, krónikus multiplex szklerózisban szenvedő beteget alkalmaztunk. Mindegyik beteg-
5
nél elvégeztük a normál máj-, vese- és csontvelővizsgálatokat a kiindulási bázisértékek megállapítása érdekében. Mindegyik beteget ezután steril, konzerválóanyag-
10
tól mentes izotóniás sóoldatban oldott CdA-val kezeltünk. A CdA-t intravénásan adagoltuk 0,1 mg/kg dózisban naponként, összesen 7 napon át. Mindegyik beteg hat ilyen intravénás kezelést kapott havonta egyszer, összesen hat hónapon át. Mindegyik beteget naponként kórházi körülmények között vizsgáltunk. Ez alatt az idő alatt naponta vérvizsgálatot, és hetente kétszer vérösszetételt vizsgáltunk minden betegnél. A CdA szintet vizsgáltuk a vérben és a gerincvelő-folyadékban is.

Mindegyik betegnél az idegműködést is vizsgáltuk a kiterjesztett Krutzke vizsgálattal [expanded disability status scale (EDSS)], valamint a Scripps neurológiai értékeléssel [Scripps neurologic rating scale (SNRS)].

Nem volt kimutatható semmiféle szignifikáns toxikus mellékhatás. A négy beteg közül egyiknél sem volt hányinger, hányás, bőrpír vagy máj- vagy vesedisz-
25
funkció. Mindegyik betegnél kifejlődött a lymphopenia (a limfociták szintjének csökkenése a vérben), az abszolút limfocitaszám 0,5–10%-kal csökkent több mint egy év időtartamra.

A monocitaszint minden egyes kezelés után csökkent. Így például az egyik betegnél a monocitaszint 40%-kal csökkent az első kezelés után, és lényegében nem volt kimutatható egyik kezelés után sem a fennmaradó öt kezelés esetén. Egy másik betegnél a monocitaszint lényegében nem volt kimutatható két kezelés után, és a többi négy kezelés után 85, 50, 40 és 73%-kal csökkent.

Bizonyos esetekben leukoménia volt kimutatható (az összfehérvérsejtszám csökkenése). Ugyancsak enyhe macrocytosis volt mindegyik betegnél, amely
40
6–8 hónapon át tartott a kezelés megszüntetése után. Azonban mind a négy beteg esetében a vérelemzések szám a normál intervallumon belül maradt. Lényeges, hogy nem volt semmiféle jel a toxicitásra a négy betegnél, sem a normál csontvelő-, sem a máj- és veseműködéssel kapcsolatban. Hasonlóképpen, nem mutatott a CdA észrevehető mellékhatásokat a négy betegnél.

Az idegműködés vizsgálata az EDSS és SNRS mód-
55
szerekkel kimutatta, hogy mind a négy beteg esetében javulás következett be a CdA-val való kezelés során. Az agy-gerincvelő folyadék vizsgálatai (CSF) jelentős csökkenést mutattak a limfocitaszámban, és igen említésre méltó, hogy teljesen eltűntek az IgG oligoklonális kötések mindegyik esetben. Az össz CFS–IgG szignifikáns változást nem mutatott.

Közelebbről, az SNRS vizsgálati eredmények 5–50%-os javulást mutattak a kezelés előtti alapértékekhez viszonyítva mindegyik beteg esetében. A négy beteg közül egy ágyhoz kötött volt a kezelés kezdetén, és ez a beteg képes volt járni járókeret segítségével a kezelés befejeztével. Mindegyik beteg közérzetének javu-
60

lásáról és megnövekedett energiáról és állóképességről tett említést.

2. példa

Multiplex szklerózis kezelése CdA-val

Az 1. példa szerinti, négy betegre vonatkozó vizsgálatokat kibővítettük. Kétszeres vakpróba placebovizsgálatot végeztünk 50 betegen, hogy tovább demonstráljuk a CdA hatásosságát a multiplex szklerózis kezelésénél. Az alkalmazott dózisos és a vizsgálati protokoll a második kísérletnél hasonló volt, vagy lényegében azonos, mint amit az 1. példánál alkalmaztunk. Ugyanazon két neurológiai értékelési vizsgálatot alkalmaztunk, azaz az SNRS és az EDSS értékelést. 28 beteget vizsgáltunk az SNRS előírása szerint, és 23 beteget az EDSS előírásai szerint. Az SNRS értékelés lényegében sokkal érzékenyebb, mint az EDSS vizsgálat. A feltalálók legutóbbi adatai azt mutatják, hogy igen jelentős növekedés ($p=0,004$) volt megfigyelhető a CdA-val kezelt betegeknel, viszonyítva a placeboval kezelt betegekhez a vizsgált 28 esetben az SNRS vizsgálat során.

1. táblázat

Változások az SNRS-nél

	Abszolút	Relatív
CdA	$4,83 \pm 5,71$	$0,076 \pm 0,089$ (N=14)
Placebo	$-4,40 \pm 5,14$ $p=0,0004$	$-0,062 \pm 0,071$ (N=14) $p=0,0005$

2. táblázat

Változások az EDSS-nél

	Abszolút	Relatív
CdA	$-0,018 \pm 0,222$	$-0,011 \pm 0,081$ (N=12)
Placebo	$0,038 \pm 0,9233$ $p=0,84$	$0,039 \pm 0,240$ (N=11) $p=0,50$
SNRS	0	100
EDSS	10 legrosszabb	1 legjobb

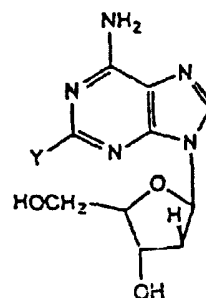
5

Az előzők szerinti ismertetés, valamint a példák csak illusztráció céljára szolgálnak, és semmiképpen nem jelentenek korlátozást. Minden olyan változtatás, amely a találmány lényegében belül van, és a szakember számára nyilvánvaló, szintén a találmány oltalmi körébe tartozik.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Eljárás (I) általános képletű szubsztituált adeninszármazékokat tartalmazó gyógyszerkészítmények előállítására

15



20

25

amely képletben

Y jelentése halogénatom,

azzal jellemezve, hogy az ismert módon előállított hatóanyagot fiziológiailag elfogadható hordozóanyaggal elkeverjük, és multiplex szklerózis kezelésére alkalmas gyógyszerkészítménnyé alakítjuk.

30

2. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy szubsztituált adeninszármazékként 2-klór-2'-dezo-oxi-adenozint alkalmazunk.

35

3. Az 1. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy szubkután injekció céljára alkalmas készítményt állítunk elő.

40

4. A 3. igénypont szerinti eljárás, azzal jellemezve, hogy szubsztituált adeninszármazékként a 2-klór-2'-dezo-oxi-adenozint alkalmazunk.