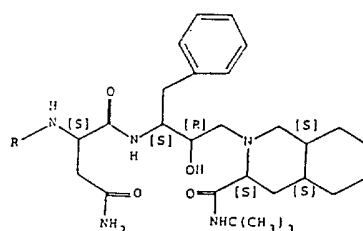


- (11) Patento numeris: **3682** (51) Int. Cl.<sup>5</sup>: **C07D 217/18**  
**A61K 31/47**  
**A61K 31/195**
- (21) Paraiškos numeris: **IP862**
- (22) Paraiškos padavimo data: **1993 08 16**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 03 27**
- (45) Patento paskelbimo data: **1996 01 25**
- (60) SU duomenys: **SU 4831985, 1990 12 11**
- (31, 32, 33) Prioritetas: **8927913, 1989 12 11, GB**
- (72) Išradėjas:  
**Joseph Armstrong Martin, GB**  
**Sally Redshaw, GB**
- (73) Patento savininkas:  
**F. Hoffmann-La Roche AG, 124 Grenzacherstrasse, CH-4002 Basle, CH**
- (74) Patentinis patikėtinis:  
**Liudmila Gerasimovič, 9, J. Basanavičiaus g. 16/5-41, 2009 Vilnius, LT**
- 

- (54) Pavadinimas:  
**Aminorūgščių darinių gavimo būdas ir farmacinių preparatų paruošimo būdas**

- (57) Referatas:

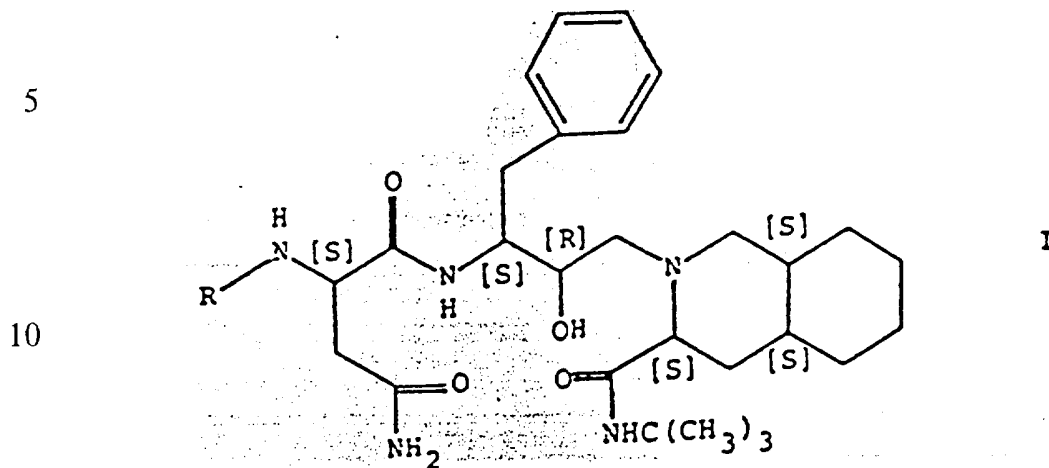
Junginiai, turintys bendrą formulę



## LT 3682 B

kurioje R yra benziloksikarbonilas arba 2-chinolilkarbonilas, arba jų farmaciniu požiūriu priimtinos druskos, kurie inhibuoja virusinės kilmės proteazes ir gali būti naudojami medikamentų, skirtų virusinių infekcijų gydymui ir profilaktikai, gamybai.

Aminorūgščių dariniai, apie kuriuos yra kalbama šiame išradime, yra junginiai, turintys bendrą formulę I



kur R yra benziloksikarbonilas arba 2-chinolil-  
 15 karbonilas, ir farmaciniu atžvilgiu priimtinos šių junginių prisijungimo druskos su rūgštimis.

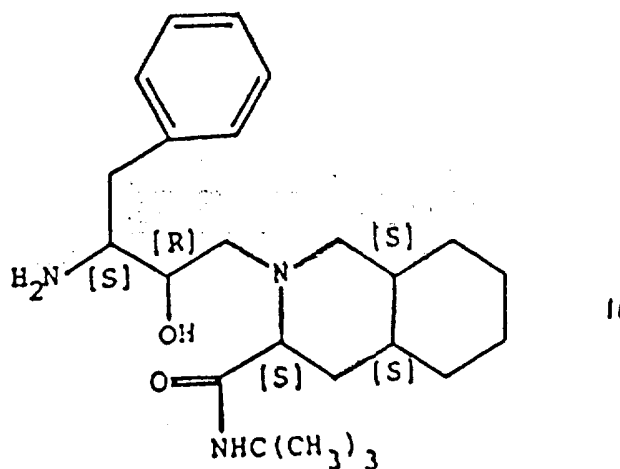
Junginiai, turintys formulę I, ir jų farmaciniu  
 atžvilgiu priimtinos druskos yra naujos ir turi vertingų  
 20 farmakologinių savybių. Jie slopina virusinės kilmės  
 proteazes ir gali būti naudojami virusinių infekcijų  
 profilaktikai arba gydymui, pavyzdžiui, infekcijų,  
 sukeltų HIV ir kitų retroidinių virusų. Pareikštų  
 junginių struktūriniais analogais galima laikyti  
 25 junginius pagal EP-A-0346847, kurie irgi pasižymi  
 virusinės kilmės procesų slopinančiu poveikiu.

Šio išradimo tikslas yra patys junginiai pagal I formulę  
 ir jų aukščiau minėtos druskos, o taip pat jų  
 30 panaudojimas kaip terapiškai aktyvių medžiagų; be to,  
 šių junginių ir druskų gamybos procesas, tarpiniai  
 produktai, naudojami minėto proceso metu; šiuos  
 junginius ir druskas turintys medikamentai; minėtų  
 junginių ir druskų panaudojimas, gydant ligas arba nuo  
 35 jų apsaugant, ypač virusinių infekcijų gydymui arba  
 profilaktikai; taip pat minėtų junginių ir druskų  
 panaudojimas medikamentų, skirtų virusinių infekcijų  
 gydymui ir profilaktikai, gamybai.

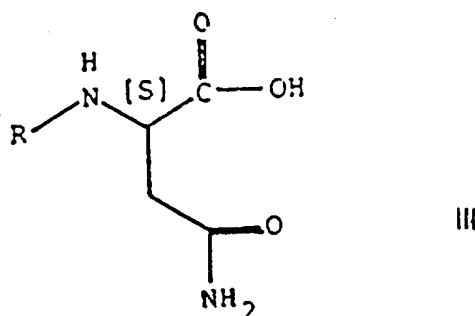
Farmaciniu atžvilgiu priimtinos druskos, sudarytos I formulės junginiams prijungiant rūgštis, tai neorganinių rūgščių druskos, pavyzdžiui, halogenvandenilinių rūgščių, tokių, kaip druskos arba bromo rūgštis, sieros rūgštis, azoto rūgštis, fosforo rūgštis ir t.t., arba organinių rūgščių druskos, kaip acto rūgštis, citrinos rūgštis, maleino rūgštis, fumaro rūgštis, vyno rūgštis, metansulfoninės rūgštis, p-toluensulfoninės rūgštis ir kt.

Pagal šį išradimą, junginius, turinčius minėtą I formulę ir jų druskas, tinkamas farmaciniam panaudojimui, galima gauti sekančiu būdu:

a) reaguojant junginiui 2-[(3(S)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidui formulės II



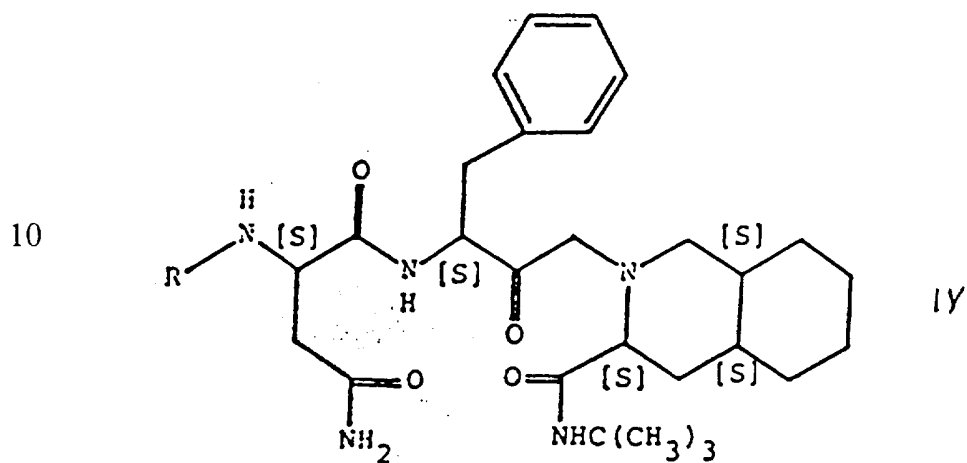
su bendros formulės III rūgštimi



kur R turi aukščiau minėtą reikšmę,  
arba su tokios rūgšties reaktyviu dariniu, arba

b) redukuojant junginį pagal bendrą formulę IV

5



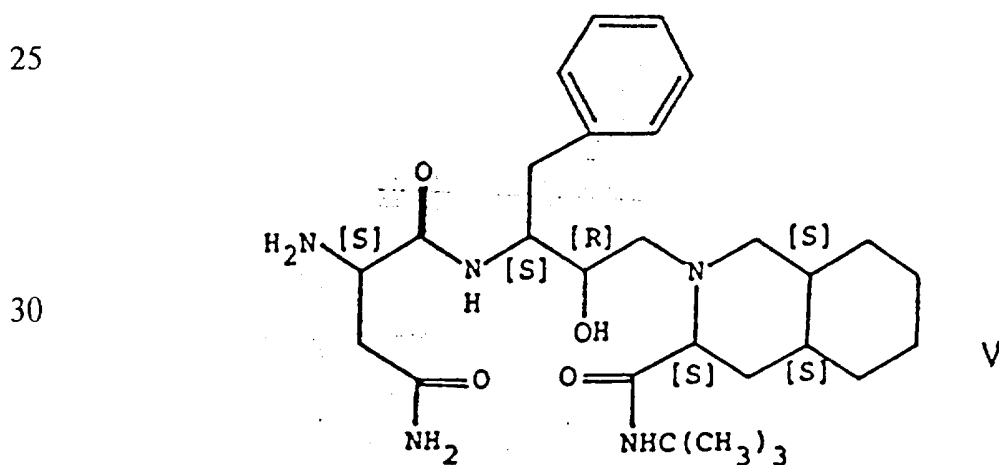
15

kur R turi aukščiau minėtą reikšmę,  
bei atskiriant norimą 2(R)-hidroksiizomerą iš gauto  
mišinio, arba

20

c) atliekant reakciją 2-[3(S)-[(L-asparaginil)amino]-  
2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,  
8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido, turinčio formulę V

25



30

35 su agentu, atskiriančiu benziloksikarbonilo, arba 2-  
chinolilkarbonilo grupę; ir

d) jei to reikia, gautą junginį pagal formulę I paverčiant į farmaciniu požiūriu priimtina druską.

5 Junginio, turinčio formulę II, reakciją su rūgštimi, turinčia formulę III, pagal siūlomą būdą (a) galima atlikti, taikant žinomus baltymų chemijoje metodus.

10 Naudojant III formulės rūgštį, reakciją geriau atlikti, dalyvaujant kondensavimo agentui, tokiam, kaip hidroksi-benzotriazolas ir dicikloheksilkarbodiimidai. Reakcija yra atliekama inertiniame organiniame tirpiklyje, kaip eteris (pavyzdžiui, dietilo eteris, tetrahidrofuranas ir kt.) arba dimetilformamidas, esant žemoms temperatūroms nuo -10°C iki +5°C, ypač tinka 0°C. Reakcijai tinka III  
15 formulės rūgščių dariniai, pavyzdžiui, atitinkami rūgštūs halogenidai (pvz., rūgštūs chloridai), rūgščių anhidridai, mišrūs anhidridai, aktyvuoti esteriai ir pan. Kai yra naudojami reaktyvūs dariniai, reakciją geriau atlikti inertiniame organiniame tirpiklyje,  
20 tokiam kaip halogenintas alifatinis angliavandenilis (pvz., dichlormetanas ir pan.) arba eteris (pvz., dietilo eteris, tetrahidrofuranas ir pan.) ir, jei tai galima, dalyvaujant organinei bazei (pvz., N-etil-morfolinas, diizopropiletilaminas ir kt.), esant žemoms  
25 temperatūroms nuo -10°C iki +5°C, ir ypač 0°C.

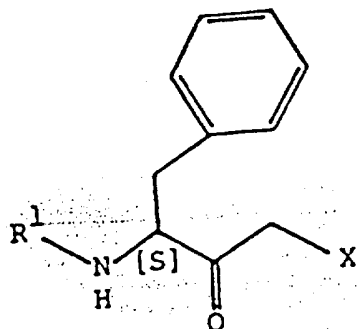
Junginio, turinčio formulę IV, redukcija pagal šio išradimo (b) procesą yra atliekama, redukuojant karbonilinę grupę žinomais metodais iki hidroksilo grupės. Redukcija gali būti atlikta, pavyzdžiui, panaudojus kompleksinius metalo hidridus, kaip šarminio metalo borhidridą, ypač natrio borhidridą, atitinkamame organiniame tirpiklyje, tokiam kaip alkanolis (pvz., metanolis, etanolis, propanolis, izopropanolis ir kt.).  
30 Paprastai redukcija yra atliekama kambario temperatūroje. Reikalingo 2(R)-hidroksi-izomero išskyrimas iš gauto mišinio gali būti atliekamas įprastiniais metodais, pavyzdžiui, chromatografija ir pan.

Atliekant išrasto būdo procesą (c), tinkamas agentas, turintis benziloksikarbonilo grupę, yra benzilo chlorformiatas. Tinkamais 2-chinolilkarbonilo grupę turinčiais agentais gali būti atitinkamos rūgštys arba jų reaktyviniai dariniai, kaip atitinkami rūgštiniai halogenidai (pvz., rūgštus chloridas), rūgščių anhidridai, mišrūs anhidridai, aktyvuoti esteriai ir kt. Junginio, turinčio formulę V, reakcija su nurodytais reagentais yra atliekama taip pat, kaip tai buvo aprašyta anksčiau apie (a) proceso įgyvendinimą.

Junginių pagal formulę I pavertimas į farmaciškai priimtinas druskas su rūgštimis pagal būdo (d) procesą gali būti atliekamas, apdorojant tokį junginį įprastiniu būdu neorganine rūgštimi, pavyzdžiui, halogenvandeniline rūgštimi, kaip druskos arba bromo rūgštimis, sieros rūgštimi, azoto rūgštimi, fosforo rūgštimi ir kt., arba organine rūgštimi, kaip acto rūgštimi, citrinos rūgštimi, maleino rūgštimi, fumaro rūgštimi, vyno rūgštimi, metansulfonine rūgštimi, p-toluensulfonine rūgštimi ir kt.

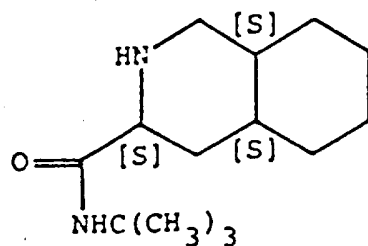
Junginys pagal formulę II, kuris yra naudojamas, kaip (a) proceso pradinis junginys, yra naujas ir taip pat sudaro šio išradimo objektą.

Junginys, kurio formulė yra II, gali būti paruoštas, pavyzdžiui, atliekant junginio, turinčio bendrą formulę,



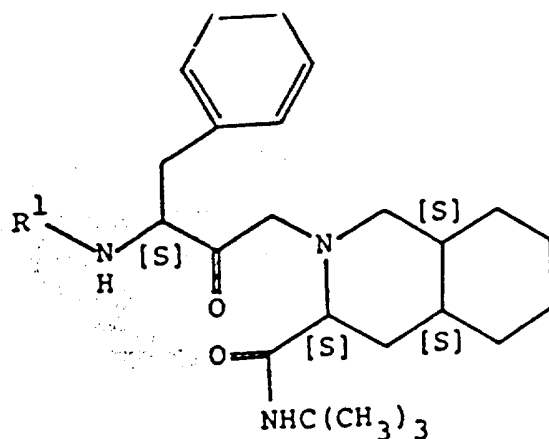
VI

kur  $R^1$  yra amino-apsauganti grupė (pvz., tretinis  
 butoksikarbonilas arba benziloksikarbonilas), o X yra  
 bromo arba chloro atomas, reakciją su N-tret-butyl-  
 dekahidro-(4aS, 8aS)izochinolin-3(S)-karboksamidu, kurio  
 formulė yra VI]



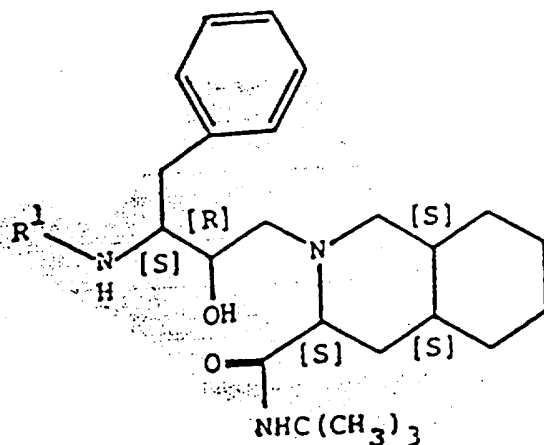
VII

ir gautą junginį VIII



VIII

kur  $R^1$  turi anksčiau nurodytą reikšmę, redukuojant ir  
 išskiriant norimą 2(R)-hidroksiizomerą iš gauto mišinio.  
 Grupė  $R^1$  nuskeliama nuo junginio, kurio bendra formulė  
 yra



IX



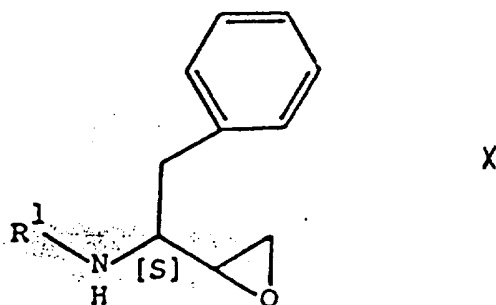
kur  $R^1$  turi anksčiau nurodytą reikšmę, ir gaunamas junginys, kurio formulė yra II.

5 Formulės VI junginio, ypač tokio, kuriame grupė  $R^1$  yra benziloksikarbonilas, reakcija su junginiu VII gali būti atliekama žinomu būdu; pvz., inertiniame organiniame tirpiklyje, tokiame, kaip halogenintas alifatinis angliavandenilis (pvz., dichlormetanas ir pan.), dalyvaujant bazei (pvz., trialkilaminui, tokiam kaip trietilaminas ir pan.), paprastai kambario temperatūroje.

10 Junginio pagal formulę VIII redukcija iki junginio IX ir po to atskyrimas norimo 2-(R)-hidroksiizomero, gali būti atliktas taip, kaip tai buvo aprašyta anksčiau, aprašant (b) procesą, t.y., redukuojant junginį IV ir norimą 2(R)-hidroksiizomerą išskiriant iš gauto mišinio.

20 Grupės  $R^1$  nuskelimas nuo junginio IX gali būti atliekamas taip pat žinomu būdu; pvz., naudojant stiprią neorganinę rūgštį, kaip halogenvandenilinę rūgštį arba stiprią organinę rūgštį (trifluoracto ir pan.), paprastai, temperatūrų intervale nuo  $0^\circ\text{C}$  iki kambario temperatūros. Hidrogenolitinė amino-apsauganti grupė  $R^1$  dar gali būti nuskelta, naudojant vandenilį, dalyvaujant tauraus metalo katalizatoriui (pvz., paladžio katalizatoriui, kaip paladžiota anglis) organiniame tirpiklyje, arba tirpiklių mišinyje, kuris yra inertinis reakcijos sąlygomis (t.y., alkanolis, kaip etanolis, izopropanolis ir kt., alkankarboksilinės rūgšties esteris, kaip etilo acetatas ir kt.) Reakcija paprastai atliekama kambario temperatūroje.

35 Sekantis metodas gauti II formulės junginį yra X formulės junginio



kur  $R^1$  turi anksčiau nurodytą reikšmę, reakcija su junginiu, kurio formulė yra VII, paprastai inertiniame organiniame tirpiklyje, kaip alkanolis (pvz., metanolis ir kt.), dimetilformamidas ar pan., ir aukštesnėje  
5 temperatūroje paprastai nuo 60°C iki 120°C, po to reakcijos produkte nuskeliant grupę  $R^1$  (formulės IX junginys), kaip buvo anksčiau aprašyta.

Formulės IV junginiai, kurie yra naudojami, kaip (b)  
10 proceso pradiniai junginiai, gali būti pagaminti, pavyzdžiui, nuskeliant amino apsauginę grupę  $R^1$  nuo junginio, turinčio formulę VIII, ir gautą junginį veikiant III formulės rūgštimi arba jos reaktyviniu dariniu. Ši reakcija gali būti atlikta analogiškai toms,  
15 kurios buvo anksčiau aprašytos ryšium su šio proceso punktu (a).

Formulės V junginys, kuris yra naudojamas, kaip pradinis junginys pagal punktą (c), yra naujas ir sudaro sekantį  
20 šio išradimo objektą.

Junginys, kurio formulė yra V, gali būti pagamintas, pavyzdžiui, nuskeliant benziloksikarbonilo grupę R nuo junginio, turinčio formulę I, kur R yra benziloksi-  
25 karbonilas arba tretinis butoksikarbonilas, susidarant junginiui, atitinkančiam formulę I, tačiau kurioje R reiškia tretinį butoksikarbonilą. Pastarasis junginys gali būti gautas, pavyzdžiui, II formulės junginį veikiant N-(tretbutoksikarbonil)-L-asparaginu pagal  
30 proceso (a) punktą. Aukščiau nurodytas nuskelimas yra atliekamas analogiškai tam, kas buvo nurodyta anksčiau sąryšyje su grupės  $R^1$  nuskaidymu iš VIII formulės junginio.

35 Pradinės III formulės medžiagos ir jų reaktyviniai dariniai, taip pat ir junginiai, turintys formules VI, VII ir X, kadangi jie nėra žinomi ir nėra žinomų medžiagų analogai, gali būti pagaminti tokiu pačiu būdu,

kaip ir žinomi junginiai arba taip, kaip yra aprašyta čia pateikiamuose pavyzdžiuose, arba analogiškai.

5 Be to, agentai, naudojami pagal punktą (c), yra plačiai žinomi junginiai.

10 Kaip buvo minėta anksčiau, junginiai pagal formulę I ir jų druskos, tinkamos farmakologiniam panaudojimui, inhibuoja virusinės kilmės proteazes ir gali būti naudojami virusinių infekcijų gydymui ir profilaktikai, ypač infekcijų, sukeltų HIV viruso ir kitų retroidinių virusų.

15 Sekančiu bandymu galima pademonstruoti HIV proteazės inhibiciją in vitro medžiagomis, aprašytomis šiame išradime.

20 HIV proteazė buvo ekspresuota E.coli, ir iš dalies išvalyta, frakcionuojant amonio sulfatu (0-30%) iš bakterinių tirpių ekstraktų. Proteazinis aktyvumas buvo nustatomas, naudojant apsaugotą heksapeptido sukcinil-Ser-Leu-Asn-Tyr-Pro-Ile izobutilamidą ( $S^1$ ) arba apsaugotą heptapeptido sukcinil-Val-Ser-Gln-Asn-Phe-Pro-Ile izobutilamidą ( $S^2$ ), kaip substratą.

25 Substrato skaidymasis buvo kiekybiškai įvertintas, matuojant H-Pro-Ile izobutilamido susidarymą, panaudojant N-termininio prolino spektrinę analizę.

30 1,25 mM substrato buvo ištirpinta 125 mM citratinio buferio (pH 5,5), turinčio 0,125 mg/ml Tween 20. Į 80 ml minėto užbuferuoto substrato buvo įpilta 10 ml proteazės ir 10 ml tirpalo įvairių koncentracijų bandomo junginio (ištirpinto metanolyje arba dimetilsulfoksido ir atskiesto vandeniui, turinčiu 0,1% Tween 20). Apdorojimas buvo atliekamas 37°C temperatūroje fiksuotą laiko tarpą ir buvo nutrauktas, pridėjus 1 ml spalvoto reagento [30 mg/ml izatino ir 1,5 mg/ml 2-(4-chlorbenzoil)-benzoinės

35

rūgšties 10% acetono etanolyje (tūrio/tūrio)]. Tirpalas buvo šildomas vandens vonioje, o po to nudažytos nuosėdos buvo iš naujo ištirpintos 1 ml 1% pirogalolio tirpale 33% vandeniniame acetone (svorio/tūrio/tūrio).

5 Tirpalo optinis tankis buvo išmatuotas spektrofotometriniu būdu, esant 599 nm. H-Pro-Ile izobutilamido susiformavimas, esant bandomam junginiui, buvo palygintas su kontroliniais bandiniais. Bandomo junginio koncentracija, reikalinga 50% inhibicijai ( $I_{50}$ ) buvo

10 nustatyta grafiniu būdu, nubraižant naudotų bandomo junginio įvairių koncentracijų grafikus.

Junginių, kurių formulė yra I, antivirusinis aktyvumas in vitro gali būti iliustruotas toliau pateikiamoje

15 analizėje.

#### Aktyvumas prieš HIV

Šioje analizėje buvo panaudoti HTLV-III (RF štamai), išaugintas C8166 ląstelėse (žmogaus  $CD4^+$  T

20 limfoblastoidine linija), naudojant RPMI 1640 terpę su bikarbonatiniu buferiu, antibiotikais ir 10% karvės embriono serumu.

Ląstelių suspensija buvo infekuojama 10 kartų didesniu

25  $TCD_{50}$  viruso kiekiu ir adsorbicija buvo atliekama 90 min  $37^{\circ}C$  temperatūroje. Ląstelės buvo tris kartus praplautos terpe. Bandymas buvo atliekamas 6 ml audinio kultūros mėgintuvėliuose, kiekvienam iš kurių buvo  $2 \times 10^5$  infekuotų ląstelių 1,5 ml terpės.

30

Bandomi junginiai buvo ištirpinami arba vandens terpėje, arba dimetilsulfoksido, priklausomai nuo jų tirpumo, ir buvo įpilama 15  $\mu$ l substancijos. Kultūros buvo inkubuojamos 72 val  $37^{\circ}C$  temperatūroje drėgnoje

35 aplinkoje, kur ore buvo 5 % anglies dioksido. Po to kultūros buvo centrifuguojamos, o supernatanto alikvota ištirpinama su Nonidet P40 ir paveikiama antigeno bandiniu, kuriame naudojama pirminio antiserumo,

pasižyminčio reaktyvumu prieš viruso baltymą 24, ir krienų peroksidazės aptikimo sistema. Nuspalvintas produktas buvo išmatuotas spektrofotometriškai ir nubraižytas grafikas, rodantis priklausomybę nuo  
 5 substancijos koncentracijos. Buvo nustatyta koncentracija, kuri užtikrina 50 % apsaugą ( $I_{50}$ ).

Antivirusiniam selektyvumui nustatyti buvo atlikta citotoksinė analizė, pagrįsta dažų įsisavinimu ir  
 10 metabolizmu, arba radioaktyviai pažymėtos amino rūgšties prisijungimu.

Žemiau pateiktoje lentelėje pateikiami rezultatai, gauti atlikus bandymus, panaudojant I formulės junginius.

15

Lentelė

| 20 | Junginys I<br>R      | $I_{50}$                                      |                             |
|----|----------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------|
|    |                      | HIV proteazės<br>inhibicija ( $\mu\text{M}$ ) | Aktyvumas prieš<br>HIV (nM) |
| 25 |                      | s1                                            | s2                          |
|    | Benziloksikarbonilas | $\leq 0,024$                                  | $\leq 0,0027$               |
|    | 2-chinolilkarbonilas | $\leq 0,033$                                  | $\leq 0,00037$              |

30

I formulės junginiai ir jų farmaciniu požiūriu priimtinos druskos su rūgštimis gali būti naudojamos, kaip vaistiniai preparatai (pvz. farmacinių preparatų pavidalu). Farmaciniai preparatai gali būti įvedami per  
 35 burną (pvz., tablečių, apvilkėtų tablečių, dražė, kietų ir minkštų želatininių kapsulių, tirpalų, emulsijų ir suspensijų pavidalu), per nosį (pvz., įpurškiamų per nosį) arba per rectum (žvakučių pavidalu). Tačiau vartojimas gali taip pat būti ir parenteralinis, į

raumenis arba į veną (pvz., tirpalų injekcijoms pavidalu).

5 Tablečių, apvilktų tablečių, dražė, kietų želatininių kapsulių gamybai I formulės junginiai ir jų farmaciniu požiūriu priimtinos druskos su rūgštimis gali būti paruošiami su farmaciniu požiūriu inertiniais organiniais arba neorganiniais užpildais. Tablečių, dražė ir kietų želatininių kapsulių gamybai tokiais  
10 užpildais gali būti, pvz., laktozė, kukurūzų krakmolai ar jų dariniai, talkas, stearino rūgštis bei jos druskos.

15 Tinkamais minkštų želatininių kapsulių užpildais gali būti, pavyzdžiui, augmeniniai aliejai, vašakai, riebalai, pusiau kieti ir skysti polioliai ir pan.

20 Tinkama terpe tirpalų ir sirupų gamybai gali būti, pavyzdžiui, vanduo, polioliai, sacharozė, invertuotas cukrus, gliukozė ir pan.

25 Tinkama terpe injekciniu tirpalų paruošimui gali būti, pavyzdžiui, vanduo, alkoholiai, polioliai, glicerolis, augmeniniai aliejai ir pan.

30 Tinkamais užpildais žvakutėms yra, pavyzdžiui, naturalūs arba sukietinti aliejai, vašakai, riebalai, pusiau skysti ir skysti polioliai ir pan.

35 Be to, farmaciniai preparatai gali turėti konservavimo agentų, tirpiklių, klampumą didinančių medžiagų, stabilizatorių, drėkinimo agentų, emulguojančių agentų, saldintojų, dažančių ir kvėpinančių agentų, osmosinį spaudimą keičiančių druskų, buferių, apvalkalą sudarančių agentų arba antioksidantų. Jie taip pat gali turėti kitų terapiniu požiūriu vertingų medžiagų.

Pagal šį išradimą I formulės junginiai ir jų farmaciškai tinkamos druskos su rūgštimis gali būti naudojamos, gydant arba profilaktiškai nuo virusinių infekcijų, ypač, retrovirusinių injekcijų atveju. Dozavimas gali kisti plačiame diapazone ir turi būti pritaikomas pagal individualius poreikius kiekvienu atveju. Bendru atveju, vartojant per burną, pakankama dienos dozė yra nuo 3 mg iki 3 g, geriausiai nuo 10 mg iki 1 g (t.y., apytikriai 300 mg asmeniui), padalinta į 1-3 vienetines dozes, kurios gali būti, pvz., vienodos. Tačiau, reikia pažymėti, kad viršutinė riba gali būti viršyta, kai yra skiriama pagal parodymus.

Šis išradimas yra iliustruojamas sekančiais pavyzdžiais.

15

#### 1 Pavyzdys

561 mg 2-[[3(S)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido ir 372 mg N-(benziloksikarbonil)-L-asparagino tirpalas 20 ml sauso tetrahidrofurano buvo ataušintas ledo/druskos mišinyje. Buvo pridėta 189 mg hidroksibenzotriazolo, 161 mg N-etilmorfolino ir 317 mg dicikloheksilkarbodiimido, ir mišinys buvo maišomas 16 valandų. Po to mišinys buvo atskiestas etilacetatu ir filtruojamas. Filtratas buvo praplautas natrio bikarbonato vandeniniu tirpalu ir natrio chlorido tirpalu. Tirpiklis buvo pašalintas išgarinant, o likusi dalis buvo chromatografuojama per silikagelį, naudojant eliucijai dichlormetaną/metanolį (9:1). Kristalinant iš metanolio/dietilo eterio gauta 434 mg 2-[[3(S)-[[N-benziloksikarbonil)-L-asparaginil]amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS, 8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido baltos kietos medžiagos pavidale, ; MS: m/e 650 [M+H]<sup>+</sup>; NMR:δ(d<sub>4</sub> CH<sub>3</sub>OH, 400MHz): 7.33 (5H, m, PhCH<sub>2</sub>O), 7.25 (2H, m), 7.18 (2H, m), 7.09 (1H, m), 5.05 (2H, s PhCH<sub>2</sub>O, 4.42 (1H, dd, Asn α J = 7.8, 6.1), 4.22 (1H, m, -CH<sub>2</sub>CH(OH) - J = 10.7, apie 4,

apie 4), 3.85 (1H, m, -CHCH(OH)CH<sub>2</sub> - J = 8.0, 6.2, apie 4), 3.02 (1H, dd PhCH(H)CH - J = -13.9, apie 4), 3.02 (1H, dd,  $1_{eq}J = -12.0$ , s), 2.69 (1H, dd, PhCH(H)CH - J = 13.9, 10.7), 2.63 (1H, dd, -CH(OH)CH(H)N - J = -12.6, 8.0), 2.62 (1H, dd, H<sub>3ax</sub> J = apie 11, s), 2.57 (1H, dd, Asn  $\beta_1$  J = -15.2, 6.1), 2.38 (1H, dd, Asn  $\beta_2$  = -15.2, 7.8), 2.19 (1H, dd, -CH(OH)CH(H)N - J = -12.6, 6.2), 2.17 (1H, dd,  $1_{ax}$  J = -12.0, 3.2), 2.07 (1H, m, H<sub>4ax</sub> J = -12.7, apie 11, apie 11.5), 1.78 (1H, m, H<sub>4a</sub> J<sub>4a-4ax</sub> = apie 11.5, J<sub>4a-4eq</sub> = s, J<sub>4a-8a</sub> = s), 1.63 (1H, m, H<sub>8a</sub> J<sub>8a-1ax</sub> = 3.2, J<sub>8a-1eq</sub> = s, J<sub>8a-4a</sub> = s), 1.35, (1H, m, H<sub>4eq</sub> J = -12.7, s, s), 1.30 (9H, s, t-butyl), 2.0 - 1.2 (8H, m).

15 2-[(3(S)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS, 8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidas, naudotas kaip pradinė medžiaga, gaunamas šiuo būdu:

(i) 12,676 g (71,6 mmol) 1,2,3,4-tetrahidro-3(S)-izochinolin-karboksilinės rūgšties suspensija (Chem.Pharm. Bull. 1983, 31, 312) 200 ml 90% acto rūgštyje buvo hidrogenizuota 24 val 80°C temperatūroje ir esant 140 atm slėgiui ant 5% rodžiotos anglies. Mišinys buvo paliktas ataušti iki kambario temperatūros, o katalizatorius po to buvo nufiltruotas. Filtratas buvo išgarintas, kol buvo gauta derva, kuri buvo ištirpinta 10 ml etilacetato ir lėtai įpilta į 100 ml diizopropilo eterio, stipriai maišant pastarąjį. Buvo gautos dervos pavidalo nuosėdos. Skystis nuo nuosėdų buvo nupiltas, o nuosėdos ekstrahuotos karštu etilo acetatu. Šis karštas tirpalas buvo išpiltas į stipriai maišomą 150 ml dietilo eterio/diizopropilo eterio (1:1) mišinį ir gauta šviesiai pilka kieta medžiaga, kuri buvo nufiltruota, perplauta dietilo eteriu ir išdžiovinta. Tokiu būdu buvo gauta 5,209 g dekahidroizochinolino - 3(S)-karboksilinių rūgščių mišinio, kurio sudėtyje buvo daugiausiai (apie 65%) 4aS,8aS izomero su 4aR,8aR izomeru (apie 25%) ir apie 10% transizomerų: MS: m/e 184 [M+H]<sup>+</sup>.



(ii) 9,036 g (49,4 mmol) dekahidroizochinolino -3(S)-  
karboksilinių rūgščių mišinio buvo ištirpinta 50 ml (50  
mmol) 1 M natrio hidroksido tirpale, gautas tirpalas  
5 ataušintas iki 0°C temperatūros. Per 1 val buvo pridėta  
lašais 7,40 ml (51,87 mmol) 1M benzilchlorformiato ir  
58,7 ml (59,7 mmol) 1M natrio hidroksido tirpalo,  
aušinimu palaikant temperatūrą 0-5°C. Mišinys dar 2 val  
buvo toliau maišomas, per tą laiką mišiniui leidžiama  
10 sušilti iki kambario temperatūros. Pridėdama 100 ml  
dietilo eterio, mišinys filtruojamas, o neištirpęs R,R -  
izomeras pašalinamas. Filtrato vandeninis sluoksnis  
atskiriamas ir parūgštinamas iki pH 1,5-2, pridedant  
koncentruotos druskos rūgšties, ko pasėkoje nusodinamas  
15 aliejus. Mišinys buvo dukart ekstrahuotas, kiekvieną  
kartą su 100 ml etilacetatu. Sujungti organiniai  
ekstraktai praplauti vandeniu, nusausti bevandeniu  
natrio sulfatu ir išgarinti, gaunant aliejų. Šis aliejus  
ištirpintas 35 ml etilo acetato, ir pridėta 2,85 ml (25  
20 mmol) cikloheksamino. Filtravimo būdu surinktos baltos  
nuosėdos; po keletą dalinių perkristalinių iš  
metano/etilo acetato gauta 2,38 g 2-(benzil-  
oksikarbonil)-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karb-  
oksilinės rūgšties cikloheksilamino druskos; MS: m/e  
25 318 [M+H]<sup>+</sup>.

(iii) 2,334 g 2-(benziloksikarbonil)-dekahidro-(4aS,  
8aS)-izochinolin-3(S)-karboksilinės rūgšties ciklo-  
heksilamino druskos buvo paskirstyta tarp 50 ml  
30 etilacetato ir 50 ml 10% citrinos rūgšties tirpalų.  
Organinė fazė atskirta, perplauta vandeniu, nufiltruota  
ir išgarinta, gauta 1,87 g 2-(benziloksikarbonil)-  
dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksilinės  
rūgšties bespalvės dervos pavidalu: MS; m/e 318 [M+H]<sup>+</sup>.

35

(iv) 0,634g (2,0 mmol) 2-(benziloksikarbonil)-dekahidro-  
(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksilinės rūgšties  
tirpalo 6 ml dimetoksietano buvo apdorota su 0,23g (2,0

mmol) N-hidroksisukcinimido ir 0,412g (2,0 mmol) dicikloheksilkarbodiimido. Mišinys maišomas 18 val kambario temperatūroje, filtruojamas ir filtratas išgarinamas; gauta 0,879g minėtos rūgšties N-  
5 hidroksisukcinimido esterio blyškiai geltonos spalvos aliejaus pavidalu. 0,828g (2,0 mmol) N-hidroksisukcinimido esterio tirpalas 5,0 ml dichlormetano buvo maišomas, ataušinamas iki 0°C temperatūros ir apdorojamas su 0,219g (3,0 mmol)  
10 tretbutilamino. Mišinys vėl maišomas 2 val 0°C temperatūroje, o po to 4,5 val kambario temperatūroje. Po to mišinys perplautas 2M druskos rūgštimi, natrio karbonato tirpalu ir natrio chlorido tirpalu, išdžiovintas bevandeniu magnio sulfatu ir išgarintas.  
15 Likutis ištirpintas 20 ml dietilo eterio ir perfiltruotas. Filtratas išgarintas, gauta 0,712 g 2-(benziloksikarbonil)-N-tretbutil-dekahidro-(4aS, 8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido baltos kietos medžiagos pavidalu; MS: m/e 373 [M+H]<sup>+</sup>.

20

(v) 0,689g (1,85 mmol) tirpalo 2-(benziloksikarbonil)-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboks-  
amido su 20 ml etanolio buvo 18 val hidrogenizuota, esant 0,01 g 10% paladžiotos anglies, kambario  
25 temperatūroje ir esant atmosferiniam slėgiui. Katalizatorius buvo pašalintas filtravimu, o tirpiklis pašalintas išgarinant, gauta kiekybinė išeiga N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karb-  
oksamido, skaidraus aliejaus pavidalo; MS: m/e 239  
30 [M+H]<sup>+</sup>, kuris buvo naudojamas kitame etape be tolesnio gryninimo.

(vi) 440 mg N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido tirpalas su 549 mg 3(S)-(benziloksiformamid)-1,2(S)-epoksi-4-fenilbutano ir 6 ml  
35 etanolio buvo maišomas 7 val, 60°C temperatūroje. Dar pridėjus 54 mg 2-(benziloksiformamid)-1,2(S)-epoksi-4-fenilbutano ir 6 ml etanolio buvo maišoma 7 val 60°C

temperatūroje. Dar pridėdama 54 mg 3(S)-(benzil-oksiformamid)-1,2(S)-epoksi-4-fenilbutano, ir mišinys maišomas 16 valandų 20°C temperatūroje. Tirpiklis buvo pašalintas išgarinant, o likusi dalis buvo chromatografuojama per silikagelį, naudojant eliucijai dietilo eterį/n-heksaną/metanolį (47,5:47,5:5). Gauta 771 mg 2-[3(S)-benziloksiformamid)-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS, 8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido baltos kietos medžiagos pavidale; MS: m/e 536 [M+H]<sup>+</sup>.

(vii) 747 mg 2-[3(S)-benziloksiformamid)-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS, 8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido tirpalas 40 ml etanolio buvo 5 val hidrogenizuotas ant 10% paladžiotos anglies 20°C temperatūroje ir esant atmosferiniam slėgiui. Katálizatorius buvo pašalintas filtravimu, o filtratas išgarintas; gauta 561 mg 2-[3(S)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido, tamsiai geltonos spalvos medžiagos pavidalu, kuri buvo naudojama sekančiame etape be tolesnio gryninimo.

## 2 Pavyzdys

154 mg 2-[(3(S)-[(L-asparaginil)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido su 52 mg chinaldino rūgšties tirpalo 6 ml sauso tetrahidrofurano buvo ataušinta ledo/druskos mišinyje. Buvo pridėta 41 mg hidroksibenzotriazolo, 35 mg N-etilmorfolino ir 68 mg dicikloheksilkarbodiimido, ir mišinys buvo maišomas 64 valandas. Po to mišinys atskiedžiamas etilo acetatu ir filtruojamas. Filtratas praplaunamas natrio bikarbonato vandeniniu tirpalu ir natrio chlorido tirpalu, po to tirpalas nugarinamas, o likusi dalis chromatografuojama per silikagelį, naudojant eliucijai dichlormetaną/metanolį (9:1). Gauta 50 mg N-tretbutil-dekahidro-2-[2(R)-hidroksi-4-fenil-3(S)-[[N-(2-chinolilkarbonil)-L-asparaginil]-amino]-

butil]-(4aS, 8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido baltos kietos medžiagos pavidale; MS: m/e 671 [M+H]<sup>+</sup>; NMR:δ(d<sub>4</sub> CH<sub>3</sub>OH, 400MHz):

8.52 (1H, m), 8.18 (1H, m), 8.14 (1H, m), 8.02 (1H, m),  
 5 7.84 (1H, m), 7.69 (1H,m), 7.18 (2H, m), 6.90 (2H, m),  
 6.72 (1H, m), 4.93 (1H, dd, Asn α CH J = 6.6, 6.8), 4.27  
 (1H, m), -CH<sub>2</sub>CHCH(OH)- J = 3.8, 3.8, 11.0), 3.89 (1H, m,  
 -CHCH(OH)CH<sub>2</sub>- J = 7.2, 6.4, 3.8), 3.06 (1H, dd H1<sub>eq</sub> J =  
 -12.0, 3.0), 3.02 (1H, dd, PhCH(H)CH- J = -14.0, 3.8),  
 10 2.77 (1H,dd, Asn β<sub>1</sub> J =-15.6,6.6), 2.68 (1H, dd, Asn β<sub>2</sub> J  
 =-15.6, 6.8), 2.68 (1H, dd, PhCH(H)CH- J =-14.0, 11.0),  
 apie 2.68 (1H, dd, -CH(OH)CH(H)N - J = -12.0, 7.2), 2.63  
 (1H,dd, H3<sub>ax</sub> J=11.0, 2.2), 2.22 (1H, dd, -CH(OH)CH(H)N-  
 J = -12.0, 6.4), 2.18 (1H, dd, H1<sub>ax</sub> J = -12.0, 2.2),  
 15 2.06 (1H, m, H4<sub>ax</sub> J = -11.0, 11.0, 11.0), 1.78 (1H, m,  
 H4<sub>a</sub> J<sub>4a-4ax</sub> = 11.0, J<sub>4a-4eq</sub> = apie 4, J<sub>4a-8a</sub> = apie 4),  
 1.65 (1H, m, 8a J<sub>8a-1ax</sub> = 2.2, J<sub>8a-1eq</sub> = 3.0, J<sub>8a-4a</sub> =  
 apie 4), 1.37, (1H, m, H4<sub>eq</sub> J = -11.0, 2.2, apie 4),  
 1.30 (9H, s, t-butyl), 2.0 - 1.2 (8H, m).

20

Pradinė medžiaga 2-[(3(S)-[L-asparaginil)amino]-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS, 8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidas gaunama sekančiu būdu:

25 195 mg 2-[(3(S)-[[N-(benziloksikarbonil)-L-asparaginil]-amino]-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido tirpalas 20 ml etanolio buvo hidrogenizuotas 18 val ant 10 mg 10% paladžiotos anglies kambario temperatūroje ir esant  
 30 atmosferiniam slėgiui. Katalizatorius buvo pašalintas filtravimu, o filtratas pašalintas išgarinimu, esant sumažintam slėgiui; gauta 154 mg 2-[(3(S)-[(L-asparaginil)amino]-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbu-  
 35 til-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido, kuris buvo naudojamas sekančioje stadijoje be tolesnio gryninimo.

## 3 Pavyzdys.

287 mg N-(2-chinolilkarbonil)-L-asparagino ir 401 mg 2-[3(S)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido, gauto, kaip aprašyta 1 pavyzdyje (i)-(vii), tirpalas 3ml tetrahidrofurano ataušinamas iki -10°C ir pridédama 163 mg 3-hidroksi-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ono ir 220 mg dicikloheksilkarbodiimido. Mišinys 2 val maišomas -10°C temperatūroje ir 16 val 20°C temperatūroje. Po to mišinys praskiedžiamas etilo acetatu ir filtruojamas. Filtratas perplaunamas natrio bikarbonato vandeniniu tirpalu ir natrio chlorido tirpalu ir išgarinamas. Likusi dalis chromatografuojama per silikagelį, naudojant eliucijai 4% (pagal tūrį) metanolį dichlormetane. Gauta 537 mg N-tretbutil-dekahidro-2-[2(R)-hidroksi-4-fenil-3(S)-[[N-(2-chinolinkarbonil)-L-asparaginil]amino]-butil]-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamido, kuris yra identiškąs produktui, gautam 2 pavyzdžio pirmame paragrafe.

(N-(2-chinolilkarbonil)-L-asparaginas, naudojamas kaip pradinė medžiaga, buvo gautas sekančiu būdu.

540 mg chinaldino rūgšties sukcinamido esterio mišinys ir 300 mg L-asparagino monohidrato mišinys 2 ml dimetilformamido maišomi 96 val 20°C temperatūroje. Tirpiklis pašalinamas garinimu, ir gaunamos baltos kietos nuosėdos, kurios stipriai maišomos su 10 ml dichlormetano, po to nufiltruojamos ir perplaunamos dichlormetanu. Tokiu būdu buvo gauta 431 mg N-(2-chinolilkarbonil)-L-asparagino kietų baltų nuosėdų pavidalu; MS: m/e 671 [M+H]<sup>+</sup>.

Sekančiame pavyzdyje yra parodytas farmacinio preparato, turinčio kaip aktyvų ingredientą I formulės junginį arba farmaciniu požiūriu tinkamą jo druską, paruošimas.

## A Pavyzdys

5 Aktyvaus ingrediento vandeninis tirpalas yra steriliai  
filtruojamas ir šildant maišomas su steriliu želatinos  
tirpalu, turinčiu konservanto - fenolo, tokiu santykiu,  
kad 1,00 ml gauto tirpalo būtų 3,0 mg aktyvaus  
ingrediento, 150,0 mg želatinos, 4,7 mg fenolo ir iki  
1,0 ml distiliuoto vandens. Mišinys yra supilamas į 1,0  
ml ampules antiseptinėse sąlygose.

10

15

20

25

30

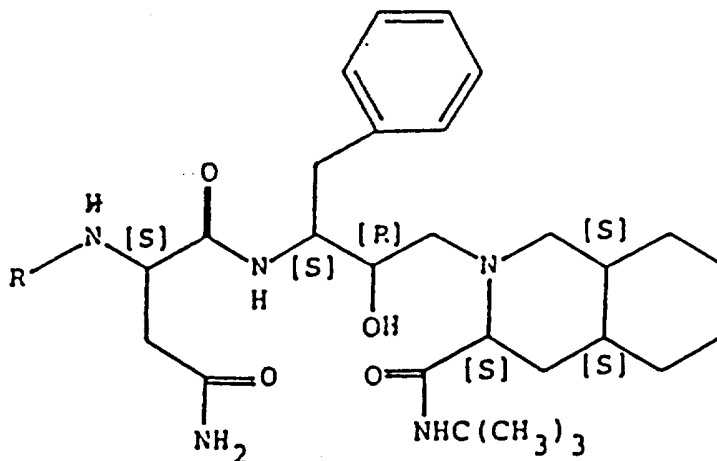
35

## I Š R A D I M O A P I B R Ė Ž T I S

## 1. Aminorūgščių dariniai bendros formulės I

5

10



I

15

kurioje R yra benzilokarbonilas arba 2-chinolil-karbonilas, arba farmaciniu požiūriu priimtinos jų prisijungimo druskos su rūgštimis.

20

2. N-tretbutil-dekahidro-2[2(R)-hidroksi-4-fenil-3(S)-[[N-(2-chinolilkarbonil)-L-asparaginil]amino]butil]-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidas.

25

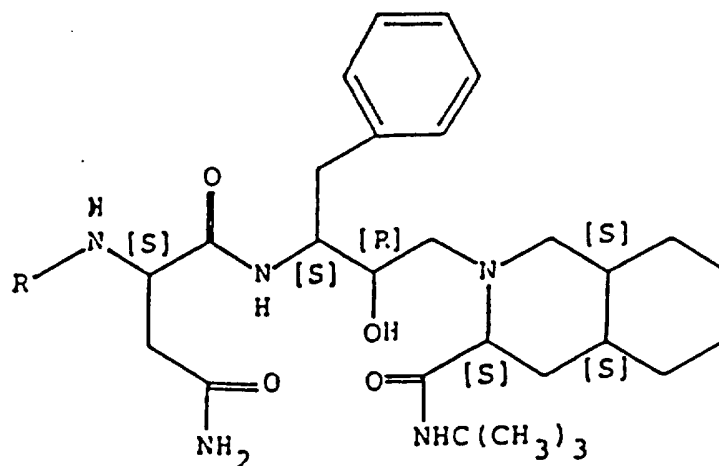
3.2-[3(S)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidas.

30

4. 2-[3(S)-[(L-asparaginil)amino]-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidas.

35

## 5. Aminorūgščių darinių bendros formulės I



I

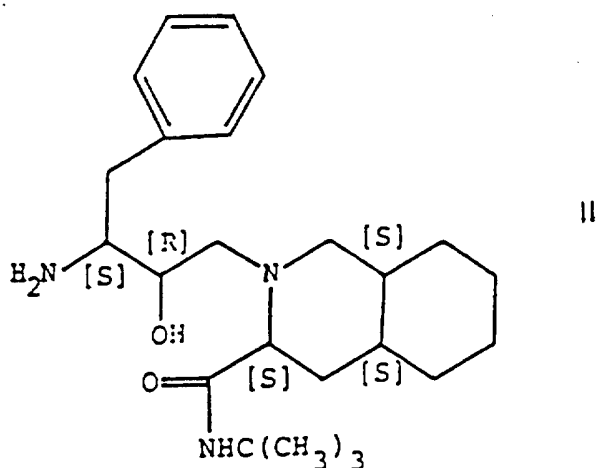
kurioje R yra benziloksikarbonilas arba 2-chinolil-karbonilas, arba farmaciniu požiūriu priimtinių jų druskų su rūgštimis gamybos būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad

5

a) 2-[(3(S)-amino-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tret-butyl-dekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidą, turintį formulę II

10

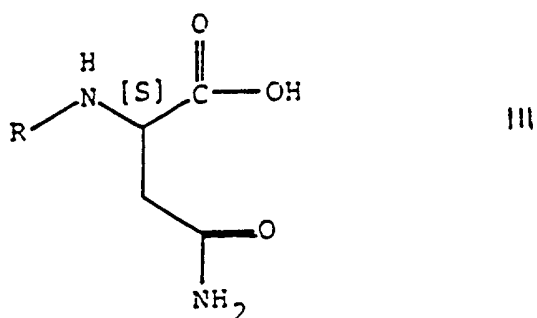
15



20

veikia bendros formulės III rūgštimi

25

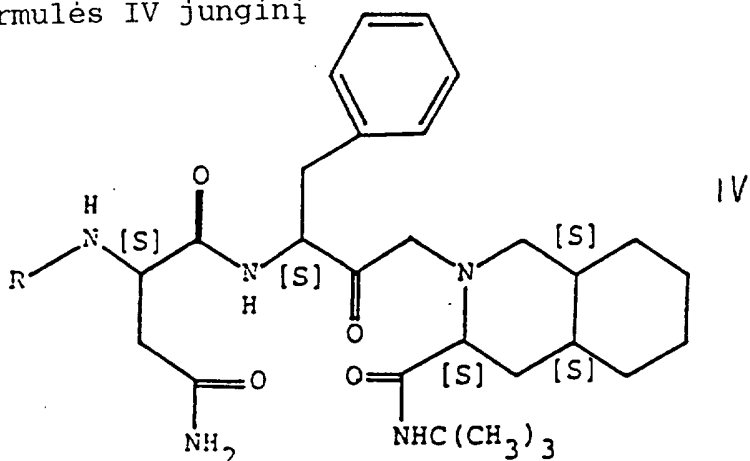


kurioje R turi aukščiau nurodytas reikšmes, arba jos reaktyviu dariniu, arba

30

b) bendros formulės IV junginį

35



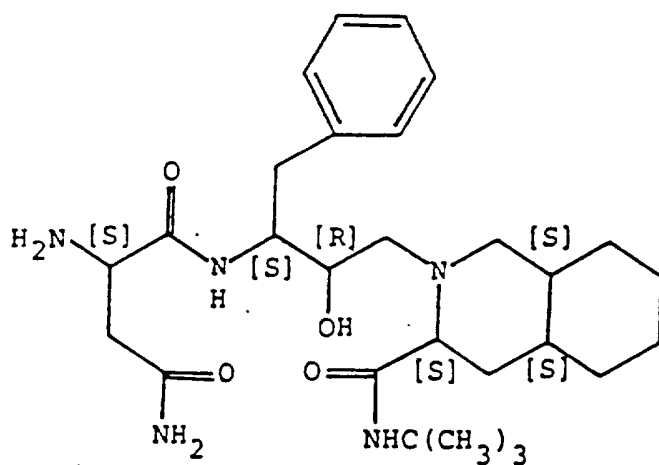


kur R turi aukščiau nurodytas reikmes, redukuoja ir iš gauto mišinio išskiria norimą 2(R)-hidroksiizomerą, arba

- 5 c) 2-[3(S)-[(L-asparaginil)amino]-2(R)-hidroksi-4-fenilbutil]-N-tretbutil-đekahidro-(4aS,8aS)-izochinolin-3(S)-karboksamidą, turintį formulę V

10

15



V

20

veikia agentu, išskiriančiu benziloksikarbonilo arba 2-chinolilkarbonilo grupę; ir

25

d) jej to reikia, gautą I formulės junginį paverčia farmaciniu požiūriu priimtina jo druska.

30

6. Medikamento, skirto virusinių infekcijų gydymui ir profilaktikai, gamybos būdas, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad paruošia I formulės junginio pagal 1 punktą arba šio junginio farmaciniu požiūriu priimtinos druskos veksmingos dozės vaistinę formą.

35

7. I formulės junginio pagal 1 punktą arba jo farmaciniu požiūriu priimtinos druskos panaudojimas medikamentų, skirtų virusinių infekcijų gydymui ir profilaktikai, gamybai.