DEUTSCHE DEMOKRATISCHE REPUBLIK

PATENTSCHRIFT

(12) Ausschließungspatent

(19) DD (11) 268 705 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

4(51) C 07 H 19/16
A 61 K 31/52

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	AP C 07 H / 314 547 6	(22)	08.04.88	(44)	07.06.89
(31)	8708512	(32)	09.04.87	(33)	GB
	8712691		29.05.87		
	8723013		30.09.87		

(71) siehe (73)
(72) Koszalka, George W.; Krenitsky, Thomas A.; Rideout, Janet L.; Burns, Charlene L., US
(73) The Wellcome Foundation Limited, 183–193 Euston Road, London NW1 2BP, GB
(74) Patentanwaltsbüro Berlin, Frankfurter Allee 286, Berlin, 1130, DD

(54) Verfahren zur Herstellung von 6-substituierten 2',3'-Dideoxynucleosiden und deren Derivaten

(55) 6-substituierten 2',3'-Dideoxypurinnukleosiden, Prophylaxe, Behandlung, HIV-Infektion, Verfahren, Produktion, 6-Isoprophylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

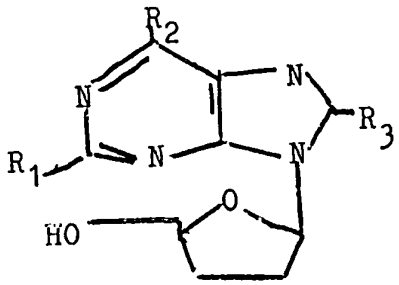
(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von 6-substituierten 2',3'-Dideoxypurinnukleosiden und deren pharmazeutisch akzeptablen Derivaten, die bei der Behandlung und Prophylaxe von HIV-Infektionen einsetzbar sind. Zu den bevorzugt nach der Erfindung herstellbaren Verbindungen gehören 6-N-Piperidinopurin-9-β-2',3'-dideooxyribofuranosid, 6-Chlorapurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid und 6-Isopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid.

ISSN 0433-6461

19 Seiten

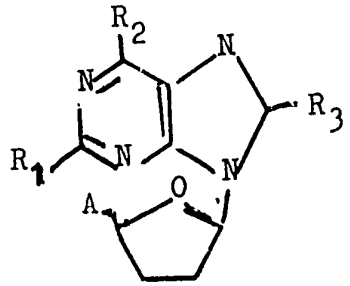
Patentansprüche:

1. Verfahren für die Herstellung einer Verbindung mit der Formel (I)



(I),

worin R_1 Wasserstoff oder eine Aminogruppe darstellt; R_2 Halogen, eine C_{1-6}-Alkoxygruppe, wahlweise substituiert durch C_{3-6}-Zykloalkyl; eine C_{3-8}-Zykloalkoxygruppe; Aryloxy-, Aralkyl- oder Aralkoxygruppe, in welcher das Aryl wahlweise mit einem niederen Alkyl, einer Hydroxygruppe oder Halogen substituiert sein kann; C_{3-6}-Zykloalkylthiogruppe; C_{1-6}-Alkylthiogruppe; Arylthio- oder Aralkylthiogruppe, in welcher das Aryl wahlweise mit einem niederen Alkyl, einer Hydroxygruppe oder Halogen substituiert sein kann, darstellt oder R_2 eine heterozyklische Gruppe darstellt, die ein Sauerstoffatom oder ein oder zwei Stickstoffatome und 3–7 Kohlenstoffatome mit wahlweisen Doppelbindungen im Ring enthält, der wahlweise ein Schwefel- und/oder Sauerstoffheteroatom enthält, und wahlweise am Ring substituiert ist durch eine oder mehrere niedere Alkyl-, Hydroxy- oder Halogengruppen, C_{3-6}-Zykloalkylthiogruppe, Aralkylthiogruppe, in welcher das Aryl mit einem niederen Alkyl, einer Hydroxygruppe oder Halogen substituiert sein kann, oder R_2 eine Imidazolylthiogruppe darstellt, in welcher die Imidazolylkomponente durch ein niederes Alkyl und/oder C-substituiert mit Nitro sein kann, oder R_2 eine Aminogruppe darstellt, welche mono- oder disubstituiert ist durch C_{1-6}-Alkyl, C_{1-6}-Alkoxygruppe, Hydroxy-C_{1-6}-Alkylgruppe und/oder C_{3-6}-Zykloalkyl, Aryl, Aralkyl, in welchem das Aryl wahlweise substituiert sein kann mit Alkyl, Hydroxygruppe oder Halogen, Allyl, das wahlweise mit Mono- oder Dialkylgruppen oder Alkoxygruppe substituiert ist, und R_3 Wasserstoff oder Aminogruppe darstellt, und deren pharmazeutisch akzeptable Derivate mit Ausnahme von Verbindungen mit der Formel (I), bei denen R_1 und R_3 Wasserstoff darstellen und R_2 eine Methoxy-, Methylthio- oder Methylaminogruppe darstellt,
dadurch gekennzeichnet, daß man
(A) eine Verbindung mit der Formel (II)



(II),

(in welcher R_1, R_2 und R_3 wie im Anspruch 2 definiert sind), in welcher A eine Vorläufergruppe für die Hydroxygruppe darstellt, mit einem Mittel oder unter Bedingungen reagiert, um die genannte Vorläufergruppe in die gewünschte Gruppe umzuwandeln, oder
(B) eine Purinbase mit der Formel (III)

B–H (III),

in welcher B eine Purinbase nach Anspruch 1 oder deren funktionelles Äquivalent ist, mit einer Verbindung reagiert, die dazu dient, den gewünschten Dideoxyribofuranosylring an der Position 9 der Purinbase der Formel (III) einzuführen, und anschließend oder gleichzeitig damit folgende wahlweise Umwandlungen ausführt:
(i) wenn eine Verbindung mit der Formel (I) hergestellt wird, man diese in deren pharmazeutisch akzeptables Derivat umwandelt;

(ii) wenn ein pharmazeutisch akzeptables Derivat einer Verbindung mit der Formel (I) hergestellt wird, man dieses Derivat in eine Verbindung mit der Formel (I) oder ein anderes Derivat davon umwandelt.

2. Verfahren für die Herstellung einer Verbindung mit der Formel (I) nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß R_1 und R_3 jeweils Wasserstoff darstellen.
3. Verfahren für die Herstellung einer Verbindung mit der Formel (I) nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet,** daß R_1 und R_3 jeweils Wasserstoff darstellen und R_2 eine C_{3-6}-Zykloalkylaminogruppe darstellt.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß 6-Zyklopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid hergestellt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Herstellung von 6-substituierten 2',3'-Dideoxynukleosiden und deren pharmazeutisch akzeptablen Derivaten, die in der Therapie, besonders zur Behandlung oder Prophylaxe bei bestimmten viralen Infekten, anwendbar sind.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

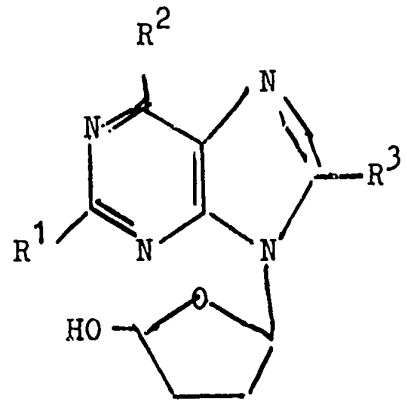
AIDS ist eine immunsuppressive oder immundestruktive Krankheit, welche bei den Betroffenen die Prädisposition für Infektionen mit tödlichem Ausgang schafft. Im charakteristischen Fall geht AIDS mit der progressiven Erschöpfung von T-Zellen, insbesondere der Helfer-Induktor-Untereinheit mit dem OKT^4-Oberflächen-Marker, einher.
Von Patienten mit AIDS oder mit Symptomen, die häufig AIDS vorausgehen, wurde das Human immunodeficiency Virus (HIV) reproduzierbar isoliert. Das HIV ist zytopathisch und scheint vorzugsweise T-Zellen mit dem OKT^4-Marker zu infizieren und zu zerstören, und es wird gegenwärtig allgemein davon ausgegangen, daß das HIV das ätiologische Agens von AIDS ist.
Seit der Entdeckung, daß das HIV das ätiologische Agens von AIDS ist, wurden zahlreiche Vorschläge für chemotherapeutische Anti-HIV-Agenzien gemacht, die bei der Behandlung von AIDS-Erkrankten wirksam sein können. So beschreibt beispielsweise die europäische Patentbeschreibung Nr. 196185 3'-Azido-3'-deoxythymidin (mit dem bestätigen Namen Zidovudin), dessen pharmazeutisch akzeptablen Derivate und dessen Anwendung bei der Behandlung von menschlichen Retroviruserkrankungen, einschließlich AIDS, und die entsprechenden klinischen Bedingungen.
EP-PS 0206497 bezieht sich allgemein auf Purinnukleoside zum Einsatz bei der Behandlung von HIV-Infektionen und verwandten Zuständen. Insbesondere legt diese Patentschrift 2,6-Diaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid für die Behandlung von HIV-Infektionen offen.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, verbesserte Verbindungen zur Bekämpfung bestimmter viraler Infektionen, insbesondere retroviralen Infektionen und speziell von AIDS bereitzustellen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Es wurde festgestellt, daß bestimmte 6-substituierte 2',3'-Dideoxynukleoside, wie sie unten ausgeführt werden, von Nutzen bei der Behandlung oder Prophylaxe von viralen Infektionen, insbesondere retroviralen Infektionen und speziell von AIDS, sind.
Bestimmte 6-substituierte Purinnukleoside wurden bereits früher beschrieben und insbesondere 6-Methylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das nachstehend in seiner Anwendung bei der Behandlung von HIV-Infektionen und verwandten Zuständen beschrieben wird, wie das von Bioorg Khim 9 (1), 52–59 (1983) veröffentlicht wurde.
Nach einem ersten Gesichtspunkt der vorliegenden Erfindung werden neuartige 6-substituierte 2',3'-Dideoxynukleoside mit der folgenden allgemeinen Formel geschaffen: (I)



(I)

worin R_1 Wasserstoff oder eine Aminogruppe darstellt; R_2 Halogen (z.B. Chlor), eine C_{1-6}-Alkoxygruppe (z.B. Propyloxy- oder Isopropoxygruppe), wahlweise durch beispielsweise C_{3-6}-Zykloalkyl (z.B. Zyklopropylmethoxy-) substituiert; C_{3-6}-Zykloalkyloxygruppe (z.B. Zyklobutyloxy- oder Zyklopentyloxygruppe); Aryloxygruppe (z.B. Phenyloxygruppe), Aralkyl (z.B. Benzyl) oder Aralkyloxy- (z.B. Benzyloxy-) Gruppe, in welcher das Aryl wahlweise substituiert sein kann mit einem niederen Alkyl, einer Hydroxygruppe oder Halogen; C_{3-6}-Zykloalkylthiogruppe; C_{1-6}-Alkylthiogruppe; Arylthio- oder Aralkylthiogruppe, in welcher das Aryl wahlweise substituiert sein kann mit einem niederen Alkyl, einer Hydroxygruppe oder Halogen, darstellt oder R_2 eine heterozyklische Gruppe darstellt, die ein Sauerstoffatom oder ein oder zwei Stickstoffatome und 3 bis 7 Kohlenstoffatome enthält, mit wahlweisen Doppelbindungen im Ring (z.B. Piperidino-, Pyrrolidinogruppe oder Furfuryl), wahlweise ein Schwefel- und/oder Sauerstoffheteroatom enthält und wahlweise am Ring substituiert ist durch eine oder mehrere niedere Alkyl-, Hydroxy- oder Halogengruppen, C_{3-6}-Zykloalkylthiogruppe, Aralkylthiogruppe, in welcher das Aryl substituiert sein kann mit einem niederen Alkyl, einer Hydroxygruppe oder einem Halogen, oder R_2 eine Imidazolylthiogruppe darstellt, in welcher die Imidazolylkomponente substituiert sein kann mit einem niederen Alkyl und/oder C-substituiert mit Nitro; oder R_2 eine Aminogruppe darstellt, die mono- oder disubstituiert ist durch C_{1-6}-Alkyl (z.B. Methyl oder Ethyl), eine C_{1-6}-Alkoxygruppe (z.B. Methoxygruppe), Hydroxy-C_{1-6}-Alkyl (z.B. Hydroxyethyl) und/oder C_{3-6}-Zykloalkyl (z.B. Zyklopropyl oder Zyklopentyl), Aryl (z.B. Phenyl), Aralkyl (z.B. Benzyl), in welcher das Aryl wahlweise substituiert sein kann mit einem niederen Alkyl, Hydroxygruppe oder Halogen, Allyl, wahlweise substituiert mit Mono- oder Dialkyl oder Alkoxygruppen (z.B. Dimethylallyl); und R_3 Wasserstoff oder eine Aminogruppe darstellt, und deren pharmazeutisch akzeptablen Derivate, die sich von den Verbindungen mit der Formel (I) unterscheiden, in welchen R_1 und R_3 Wasserstoff darstellt und R_2 eine Methoxy-, Methylthio- oder Methylaminogruppe darstellt. Zu den Beispielen für substituierte Aminogruppen, die durch R_2 in der Formel (I) dargestellt werden, gehören Ethylamino-, Ethylmethylamino-, Zyklonpropylamino- und Isopropylaminogruppen.

Wird oben auf ein „niederes Alkyl" verwiesen, versteht man darunter Gruppen, die 1 bis 6 Kohlenstoffatome enthalten, vorzugsweise Methyl oder Ethyl. Der Verweis auf Halogen schließt Chlor, Brom, Jod und Fluor ein, wobei vor allem Chlor und Jod bevorzugt werden.

Zu den bevorzugten Klassen von Verbindungen mit der Formel (I) gehören die, bei denen R_1 und R_3 Wasserstoff darstellen und R_2 eine substituierte Aminogruppe darstellt, beispielsweise eine Mono-C_{3-6}-zykloalkylaminogruppe, eine Mono- oder Di-C_{1-6}-Alkylaminogruppe oder eine heterozyklische Gruppe wie eine Piperidino- oder Pyrrolidinogruppe.

Folgende Verbindungen sind bevorzugte Verbindungen der vorliegenden Erfindung:

1. 6-N-Piperidinopurin-9-β-D-2',3'-didoxyribofuranosid
2. 6-Chloropurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
3. 6-Ethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
4. 6-Ethylmethylamino-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
5. 6-Jodopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6. 6-Zyklopropylmethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
7. 6-Isopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
8. Thiamiprin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
9. 2-Amino-6-n-propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
10. 6-Ethylthiopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
11. 2-Amino-6-benzylthiopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
12. 6-Ethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
13. 6-Dimethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
14. 6-Hydroxyethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
15. 6-Zykopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
16. 6-Zyklopentylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
17. 2-Amino-6-methoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
18. 6-n-Propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
19. 6-n-Butoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
20. 6-Zyklopropylmethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
21. 6-Zyklopentyloxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
22. 6-Zyklohexyloxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
23. 6-Zyklobutylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
24. 6-Diethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
25. 6-Pyrrolidinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
26. 6-Morpholinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
27. 6-γ,γ-Dimethylallylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
28. 6-Furfurylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
29. 6-Benzylmerkaptopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
30. 6-Anilinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
31. 2-Amino-6-ethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
32. 2,6,8-Triaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
33. 2-Amino-6-benzylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
34. 2-Amino-6-zyklopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
35. 2-Amino-6-methylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
36. 2-Amino-6-n-propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
37. 6-Benzylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
38. 6-Isopropoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
39. 6-Propylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
40. 6-Zyklohexylamino-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
41. 6-Methylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

Auf Grund ihrer überraschend hohen Anti-HIV-Aktivität werden die Verbindungen 1, 6, 13, 15, 16, 25 und 41 besonders bevorzugt.

Die Verbindungen mit der oben genannten Formel (I) und deren pharmazeutisch akzeptable Salze, einschließlich der Verbindung mit der Formel (I), in welcher R_1 Wasserstoff und R_2 eine Methylaminogruppe sind, auf die in der oben genannten Quelle in Bioorg. Khim verwiesen wird, werden nachstehend als Verbindungen nach der Erfindung bezeichnet.

Zu den Beispielen für retrovirale Infektionen, mit den erfindungsgemäß hergestellten Verbindungen behandelt oder denen mit diesen Substanzen vorgebeugt werden kann, gehören retrovirale Infektionen des Menschen wie Infektionen mit dem Human Immunodeficiency Virus (HIV), HIV-2 und dem Human-T-cell Lymphotropic Virus (HLTV), z.B. HTLV-I- oder HTLV-IV-Infektionen. Die Verbindungen nach der Erfindung sind besonders nützlich für die Behandlung oder Prophylaxe von AIDS und verwandten klinischen Zuständen, wie dem AIDS-verwandten Komplex (ARC), der progressiven generalisierten Lymphadenopathie (PGL), AIDS-verwandten neurologischen Zuständen, wie der multiplen Sklerose oder tropischen Paraparese, Anti-HIV-antikörperpositiven und HIV-positiven Zuständen, dem Kaposi-Sarkom und der Purpurathromozytopenie. Die Verbindungen können auch bei der Behandlung oder Verhinderung von Psoriase eingesetzt werden.

Unter einem „pharmazeutisch annehmbaren Derivat" oder unter einem „pharmazeutisch akzeptablen Derivat" versteht man jedes pharmazeutisch akzeptable Salz, Ester oder Salz eines solchen Esters einer Verbindung nach der Erfindung oder jeder anderen Verbindung, die nach Verabreichung an den Rezipienten in der Lage ist (direkt oder indirekt), eine Verbindung nach der Erfindung oder einen antivirell aktiven Rest oder Stoffwechselprodukt davon zu schaffen.

Zu den bevorzugten Estern der Verbindungen der Erfindung gehören Karboxylsäureester, bei denen die Nicht-Karbonylkomponente der Estergruppierung aus einem gerad- oder verzweigtkettigen Alkyl, z.B. n-Propyl, t-Butyl, n-Butyl, Alkoxyalkyl (z.B. Methoxymethyl), Aralkyl (z.B. Benzyl), Aryloxyalkyl (z.B. Phenoxymethyl), Aryl (z.B. Phenyl, wahlweise substituiert durch Halogen, C_{1-4}-Alkyl oder eine C_{1-4}-Alkoxygruppe), ausgewählt wird; Sulfonatester wie Alkyl- oder Aralkylsulfonyl (z.B. Methansulfonyl); Aminosäureester (z.B. L-Valyl- oder L-Isoleukyl) und Mono-, Di- oder Triphosphatester. Bei den oben beschriebenen Estern enthält, wenn nichts Gegenteiliges angegeben ist, jede vorhandene Alkylkomponente vorzugsweise 1 bis 18 Kohlenstoffatome, insbesondere 1 bis 4 Kohlenstoffatome. Jede in diesen Estern vorhandene Arylkomponente enthält vorteilhaft eine Phenylgruppe.

Jeder Verweis auf eine der oben genannten Verbindungen schließt auch einen Verweis auf deren pharmazeutisch akzeptables Salz ein.

Zu den Beispielen für pharmazeutisch akzeptable Salze von Verbindungen nach der Erfindung und deren pharmazeutisch akzeptablen Derivaten gehören Basensalze, die z.B. von einer geeigneten Base abgeleitet wurden, wie Alkalimetall- (z.B. Natrium), Erdalkalimetall- (z.B. Magnesium-) salze, Ammonium und NX_4^+ (worin X C_{1-4}-Alkyl ist). Zu den physiologisch akzeptablen Salzen eines Wasserstoffatoms oder einer Aminogruppe gehören Salze von organischen Karboxylsäuren, wie Essig-, Milch-, Wein-, Apfel-, Isäthion-, Laktobion und Bernsteinsäure; organischen Sulfonsäuren wie Methansulfon-, Ethansulfon-, Benzensulfon- und p-Toluensulfonsäure und anorganische Säuren wie Chlorwasserstoff-, Schwefel-, Phosphor- und Sulfaminsäure. Zu den physiologisch akzeptablen Salzen einer Verbindung mit einer Hydroxygruppe gehört das Anion der genannten Verbindung in Kombination mit einem geeeigneten Kation wie Na^+, NH_4^+ und NX_4^+ (wobei X eine C_{1-4}-Alkylgruppe ist).

Zu den besonderen Beispielen für pharmazeutisch akzeptable Derivate der Verbindung mit der Formel (I), die nach der vorliegenden Erfindung eingesetzt werden können, gehören das Mononatriumsalz und die folgenden 5'-Ester: Monophosphat, Dinatriummonophosphat, Diphosphat, Triphosphat, Azetat, 3-Methylbutyrat, Oktanoat, Palmitat, 3-Chlorobenzoat, Benzoat, 4-Methylbenzoat, Wasserstoffsukzinat, Pivalat, Propionat, Valerat und Mesylat.

Die oben genannten Verbindungen nach der Erfindung und deren pharmazeutisch akzeptable Derivate können in Verbindung mit anderen therapeutischen Agenzien für die Behandlung oder Prophylaxe der oben genannten Infektionen oder Zustände eingesetzt werden. Zu den Beispielen für diese weiteren therapeutischen Agenzien gehören solche Agenzien, die bei der Behandlung oder Prophylaxe von HIV-Infektionen oder ähnlichen Zuständen wirksam sind, wie 3'-Azido-3'-deoxythymidin (Zidovudin), andere 2',3'-Dideoxynukleoside wie 2',3'-Dideoxyzytidin, 2',3'-Dideoxyadenosin und 2',3'-Dideoxyinosin, azyklische Nukleoside (z.B. Azyklovir), Interferone wie α-Interferon, Renalexkretionsinhibitoren wie Probenizid, Nukleosidtransportinhibitoren wie Dipyridamol sowie Immunmodulatoren wie Interleukin II und granulozytmakrophagkoloniestimulierende Faktoren. Die Komponentenverbindungen einer solchen Kombinationstherapie können gleichzeitig verabreicht werden, in gesonderten oder kombinierten Präparaten, oder zu unterschiedlichen Zeiten, z.B. nacheinander, so daß eine kombinierte Wirkung erzielt wird.

Die Verbindungen nach der Erfindung, die nachstehend auch als aktiver Bestandteil bezeichnet werden, können auf jede geeignete Weise zur Therapie verabreicht werden, einschließlich oral, rektal, nasal, topisch (einschließlich bukkal und sublingual), vaginal und parenteral (einschließlich subkutan, intramuskulär, intravenös und interdermal). Es ist selbstverständlich, daß die bevorzugte Verabreichungsform mit dem Zustand und Alter des Rezipienten, der Art der Infektion und dem gewählten aktiven Bestandteil variiert.

Im allgemeinen liegt eine geeignete Dosis bei 3,0 bis 120 mg jekg Körpergewicht des Rezipienten am Tage, vorzugsweise im Bereich von 6 bis 90 mg je kg Körpergewicht am Tage und günstigstenfalls im Bereich von 15 bis 60 mg je kg Körpergewicht am Tage. Die gewünschte Dosis wird vorzugsweise in zwei, drei, vier, fünf, sechs oder mehr Teildosen gegeben, die in entsprechenden Intervallen über den Tag verteilt verabreicht werden. Diese Teildosen können in Dosierungseinheitsformen verabreicht werden, die beispielsweise 10 bis 1500 mg, vorzugsweise 20 bis 1000 mg und günstigstenfalls 50 bis 700 mg des aktiven Bestandteils je Dosierungseinheitsform enthalten.

Im Idealfall sollte der aktive Bestandteil so verabreicht werden, daß Plasmaspitzenkonzentrationen der aktiven Verbindung von etwa 1 bis etwa 75 µM, vorzugsweise von etwa 2 bis 50 µM und günstigstenfalls von etwa 3 bis etwa 30 µM erreicht werden. Das ist beispielsweise möglich durch die intravenöse Injektion einer 0,1- bis 5%igen Lösung des aktiven Bestandteils, wahlweise in physiologischer Kochsalzlösung, oder durch die orale Verabreichung als Bolus, der etwa 1 bis etwa 100 mg/kg des aktiven Bestandteils enthält. Wünschenswerte Blutpegel können durch eine Dauerinfusion erreicht werden, um etwa 0,01 bis etwa 5,0 mg/kg/h zu schaffen, oder durch aussetzende Infusionen, die etwa 0,4 bis etwa 15 mg/kg des aktiven Bestandteils enthalten

Es ist zwar möglich, den aktiven Bestandteil allein zu verabreichen, vorteilhaft ist es aber, ihn als pharmazeutische Rezeptur zu geben. Die Rezepturen nach der vorliegenden Erfindung enthalten mindestens einen aktiven Bestandteil nach der obigen Definition, zusammen mit einem oder mehreren akzeptablen Trägermitteln und wahlweise anderen therapeutischen Agenzien. Jedes Trägermittel muß in dem Sinne „akzeptabel" sein, daß es mit den anderen Bestandteilen der Rezeptur kompatibel ist und den Patienten nicht schädigt. Zu den Rezepturen gehören solche, die für die orale, rektale, nasale, topische (einschließlich bukkale und sublinguale), vaginale oder parenterale (einschließlich subkutane, intramuskuläre, intravenöse und intradermale) Verabreichung geeignet sind. Die Rezepturen können vorteilhaft in Dosierungseinheitsform gegeben werden und können nach jeder geeigneten, bekannten pharmazeutischen Methode hergestellt werden. Zu diesen Methoden gehört der Schritt der Herbeiführung einer Assoziation des aktiven Bestandteils mit dem Trägermittel, welches einen oder mehrere Zusatzbestandteile darstellt. Im allgemeinen werden die Rezepturen durch gleichmäßiges und enges Zusammenwirken des aktiven Bestandteils mit flüssigen Trägermitteln oder fein verteilten Trägermitteln fester Konsistenz oder beiden und, soweit erforderlich, anschließendes Formen des Produktes hergestellt.

Präparate nach der Rezeptur der vorliegenden Erfindung, die für die mündliche Verabreichung geeignet sind, können als einzelne Einheiten wie Kapseln, Oblatenkapseln oder Tabletten angeboten werden, die jeweils eine festgelegte Menge des aktiven Bestandteils enthalten; als Pulver oder Körnchen; als Lösung oder Suspension in einer wäßrigen oder nichtwäßrigen Flüssigkeit oder als eine Öl-in-Wasser-Emulsion oder eine Wasser-in-Öl-Emulsion. Der aktive Bestandteil kann auch als Bolus, Latwerge oder Paste verabreicht werden.

Eine Tablette kann durch Pressen oder Formen, wahlweise mit einem oder mehreren Zusatzbestandteilen, hergestellt werden. Gepreßte Tabletten können so hergestellt werden, daß in einer geeigneten Maschine der aktive Bestandteil in einer freifließenden Form, wie Pulver oder Körnchen, wahlweise gemischt mit einem Bindemittel (z.B. Povidon, Gelatine, Hydroxypropylmethylzellulose), Schmiermittel, trägen Verdünnungsmittel, Präservativ, Desintegrationsmittel (z.B. Natriumstärkeglykolat, vernetztes Povidon, vernetztes Natriumkarboxymethylzellulose), oberflächenaktiven oder Dispersionsmittel, gepreßt wird. Geformte Tabletten können so hergestellt werden, daß in einer geeigneten Maschine ein Gemisch der pulverisierten Verbindung, angefeuchtet mit einem inerten, flüssigen Verdünnungsmittel, geformt wird. Die Tabletten können wahlweise einen Überzug oder eine Kerbe enthalten und können so hergestellt werden, daß der darin enthaltene aktive Bestandteil langsam oder kontrolliert freigesetzt wird, wofür beispielsweise Hydroxymethylzellulose in unterschiedlichen Mengen eingesetzt wird, um das gewünschte Freisetzungsprofil zu erhalten. Tabletten können wahlweise mit einem enterischen Überzug versehen werden, um die Freisetzung des aktiven Bestandteils in anderen Abschnitten des Verdauungskanals als dem Magen zu erreichen. Das ist besonders vorteilhaft bei Purinnukleosidderivaten, da diese Verbindungen anfällig für die Säurehydrolyse sind.

Zu den Präparaten, die für die topische Verabreichung im Mund geeignet sind, gehören Bonbons, die aus dem aktiven Bestandteil in einer aromatisierten Grundlage, in der Regel Sukrose und Akaziengummi oder Tragantgummi, bestehen; Pastillen, die aus dem aktiven Bestandteil in einer inerten Grundlage, wie Gelatine und Glyzerin oder Sukrose und Akaziengummi, bestehen, und Mundwässer, die aus dem aktiven Bestandteil in einem geeigneten flüssigen Trägermittel bestehen.

Präparate für die rektale Verabreichung können als Suppositorium mit einer geeigneten Grundlage bestehen, wobei die Grundlage beispielsweise durch Kakaobutter oder ein Salizylat gebildet wird.

Präparate, die für die vaginale Verabreichung geeignet sind, können als Pessare, Tampons, Krems, Gele, Pasten, Schaum- oder Sprühpräparate gegeben werden, die neben dem aktiven Bestandteil solche Trägermittel enthalten, wie sie auf diesem Gebiet als geeignet bekannt sind.

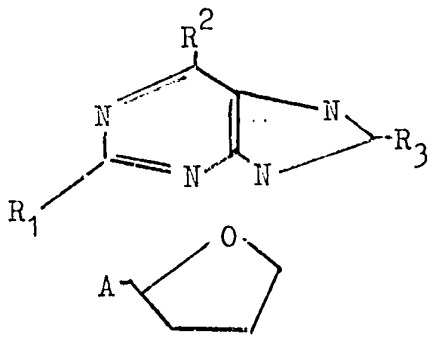
Zu den Präparaten, die für die parenterale Verabreichung geeignet sind, gehören wäßrige und nichtwäßrige isotonische, sterile Injektionslösungen, die Antioxydationsmittel, Puffer, Bakteriostate und Solute enthalten können, welche das Präparat mit dem Blut des vorgesehenen Rezipienten isotonisch machen; und wäßrige und nichtwäßrige sterile Suspensionen, die auch Suspergiermittel und Dickungsmittel enthalten können. Die Präparate können in Einheitsdosis oder in mehreren Dosen enthaltenen versiegelten Behältern, beispielsweise Ampullen und Phiolen, angeboten werden und können im gefriergetrockneten (lyophilisierten) Zustand aufbewahrt werden, so daß nur der Zusatz eines sterilen, flüssigen Trägermittels, beispielsweise Wasser für Injektionen, unmittelbar vor der Anwendung erforderlich ist. Extemporane Injektionslösungen und Suspensionen können aus sterilen Pulvern, Körnchen und Tabletten der oben beschriebenen Art hergestellt werden.

Bevorzugte Dosierungseinheiten der Präparate sind solche, die eine Tagesdosis oder -einheit, Tagesteildosis, wie das oben ausgeführt wurde, oder eine entsprechende Fraktion davon des aktiven Bestandteils enthalten.

Die Verbindungen nach der Erfindung können auch zur Anwendung in Form von Veterinärpräparaten angeboten werden, die beispielsweise nach auf dem Gebiet bekannten Methoden hergestellt werden können.

Es ist selbstverständlich, daß die Präparate dieser Erfindung neben den oben speziell genannten Bestandteilen auch andere auf diesem Gebiet bekannte Agenzien, die für den fraglichen Typ des Präparats geeignet sind, eingesetzt werden können, beispielsweise können für die orale Verabreichung vorgesehene Präparate außerdem weitere Agenzien wie Süßungsmittel, Dickungsmittel und Geschmacksstoffe enthalten. Die eigentliche Erfindung bezieht sich, wie einleitend bereits ausgeführt, auf ein Verfahren für die Herstellung von 6-substituierten 2',3'-Dideoxynukleosiden und deren pharmazeutisch akzeptablen Derivaten, die entweder darin besteht:

(A) eine Verbindung mit der Formel



(II),

(in welcher R_1, R_2 und R_3 wie oben definiert sind und A eine Vorläufergruppe für die Hydroxygruppe oder für eine pharmazeutisch akzeptable Derivatgruppe darstellt) mit einem Agens oder unter Bedingungen zu reagieren, die zur Umwandlung der Vorläufergruppe in die entsprechende Gruppe, die gewünscht wird, dienen; oder

(B) eine Purinbase mit der Formel

B – H (III),

(in welcher B die geforderte Purinkomponente einer Verbindung nach der Erfindung ist) oder ein entsprechendes funktionelles Äquivalent mit einer Verbindung zu reagieren, die der Einführung des gewünschten Ribofuranosylrings an der Position 9 der Purinbase mit der Formel (III) dient;

und anschließend oder gleichzeitig damit eine oder mehrere der nachfolgenden, wahlweisen Umwandlungen auszuführen;

(i) bei Herstellung einer Verbindung mit der Formel (I) deren Umwandlung in ihr pharmazeutisch akzeptables Derivat,

(ii) bei Herstellung eines pharmazeutisch akzeptablen Derivats einer Verbindung mit der Formel (I) dessen Umwandlung in eine Verbindung mit der Formel (I) oder in ein anderes Derivat.

Bei dem oben beschriebenen Verfahren nach der Erfindung ist es selbstverständlich, daß die Vorläuferverbindungen mit der Formel (I) sowie die oben erwähnten Agenzien und Bedingungen aus den auf dem Gebiet der synthetischen Nukleosidchemie bekannten ausgewählt werden. Beispiele für diese Umwandlungsverfahren werden nachstehend als Richtlinie beschrieben, und es ist selbstverständlich, daß sie in Abhängigkeit von der gewünschten Verbindung mit der Formel (I) auf herkömmliche Weise modifiziert werden können. Insbesondere können, wenn eine Umwandlung beschrieben wird, die andernfalls zur unerwünschten Reaktion von labilen Gruppen führen würde, diese Gruppen auf herkömmliche Weise geschützt, und die Schutzgruppen anschließend nach Abschluß der Umwandlung entfernt werden.

Im Zusammenhang mit Verfahren (A) kann A eine geschützte Hydroxygruppe, z.B. eine Estergruppierung des Typs, wie sie oben im Zusammenhang mit Formel (I) genannt wurde, vor allem eine Azetoxygruppe, oder eine Ethergruppe, wie eine Trialkylsilyloxygruppe, z.B. t-Butyldimethylsilyloxygruppe, oder eine Aralkoxygruppe, z.B. eine Triphenylmethoxygruppe, darstellen. Diese Gruppen können beispielsweise durch Hydrolyse in die gewünschte Hydroxygruppe oder durch Transveresterung in eine alternative Estergruppe umgewandelt werden.

Im Zusammenhang mit dem Verfahren (B) ist dessen Ausführung beispielsweise möglich durch Behandlung einer geeigneten Purinbase mit der Formel (III) oder deren Salz oder geschütztem Derivat mit 3'-Deoxythimidin, beispielsweise bei Vorhandensein des geeigneten Pentosyl übertragenden Enzyms.

Eine Verbindung mit der Formel (I) kann in ein pharmazeutisch akzeptables Phosphat oder einen anderen Ester durch Reaktion mit einem Phosphorylierungsmittel, z.B. $POCl_3$, bzw. mit einem geeigneten Veresterungsmittel, z.B. einem Säurehalid oder Anhydrid, umgewandelt werden. Die Verbindung mit der Formel (I),einschließlich deren Ester, kann auf herkömmliche Weise in deren pharmazeutisch akzeptable Salze umgewandelt werden, z.B. durch Behandlung mit einer geeigneten Base. Ein Ester oder ein Salz einer Verbindung mit der Formel (I) können, z.B. durch Hydrolyse, in die Grundverbindung umgewandelt werden.

Die folgenden Beispiele dienen nur der Veranschaulichung und sollen den Rahmen der Erfindung in keiner Weise einschränken. Unter dem Begriff „aktiver Bestandteil", wie er in den Beispielen angewendet wird, versteht man eine Verbindung mit der Formel (I) oder deren pharmazeutisch aktzeptables Derivat.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

6-N-Piperidinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-N-Piperidionopurin (2,41 mMol, 0,5g, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) wurde in 10ml Dimethylsulfoxid unter Wärmezufuhr aufgelöst. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde 3'-Deoxythimidin (3,62 mMol, 0,82g) (J.P. Howitz u.a., J. Org. Chem. 31, 205 [1966]) zusammen mit 30ml eines 10mM Kaliumphosphatpuffers mit einem pH-Wert von 6,8, der 0,04% Kaliumazid enthielt, zugegeben.

Es wurden gereinigte Thymidinophosporylase (10000IU) und Purinnukleosidphosphorylase (20000IU) (Krenitzky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20**, 3615, 1981, und US-PS 4381444), adsorbiert auf 10ml DEAE-Zellulose (Whatman), zugesetzt, und die Respensien wurde bei 35°C gerührt. Nach 8 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer Reihe von gekoppelter Kolonnen zugeführt. Die erste Kolonne enthielt AG1 X2-Hydroxidharz (2,5 × 10cm), während die zweite Kolonne mit Amberlite XAD-2-Harz (2,5 × 20cm) gefüllt war. Nach der Probeneinführung wurden die Kolonnen mit einem großen Volumen Wasser gewaschen, und das Produkt wurde mit Methanol eluiert. Nach der Entfernung des Lösungsmittels und dem

erneuten Auflösen in Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.), wurde eine weitere Chromatografie in einer Kolonne durchgeführt, die Kieselsäuregel (5 × 20cm) enthielt. Die mobile Phase war Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.). die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert, wieder in Ethanol aufgelöst und durch einen 0,22µ-Filter gefiltert. Das Ethanol wurde verdampft, und das Produkt wurde erneut in Wasser aufgelöst. Nach dem Lyophilisieren wurde das 6-N-Piperidinopurin-9-β-D-2',3'-Dideoxyribofuranosid (0,265g) als ein 0,1-Hydrat analysiert, das 0,3 Ethanol enthielt.
Analyse berechnet für $C_{15}H_{21}N_5O_2$ 0,3 C_2H_6O:
Berechnet: C—58,74, H—7,27, N—21,96
Ermittelt: C—58,86, H—7,14, N—21,82
MKR: δ 8,36 (s, 1 H, H_8), 8,19 (s, 1 H, H_2), 6,23 (dd, 1 H, H_1), 5,01 (t, 1 H, J = 5,54, OH_6), 4,12 (m, 3 H, H_4, CH_2), 3,52 (m, 2 H, H_5), 2,37 (m, 2 H, H_2), 2,04 (m, 2 H, H_3), 1,61 (b, 2 H, CH_2).

Beispiel 2
6-Chloropurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
Die Synthese von 6-Chloropurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid wurde wie im Beispiel 1 ausgeführt, wobei allerdings das 6-Chloropurin (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) in jeweils 5ml Dimethylformamid und Dimethoxyethan aufgelöst wurde. Nach dem Ausfiltern der Feststoffe wurde das Filtrat unter Vakuum auf etwa 5ml reduziert und dann in 100ml Wasser aufgelöst. Dieses Material wurde auf einer 2,5 × 20cm-Kolonne chromatografiert, die XAD-2-Harz enthielt. Nachdem diese Kolonne mit 500ml Wasser gewaschen worden war, wurde das Produkt mit Methanol eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert, und es wurden 20ml trockenes Kieselsäuregel zugesetzt. Das gesamte Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Das trockene Kieselsäuregel wurde oben auf eine Kieselsäuregelkolonne aufgebracht, die mit Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) äquilibriert wurde. Die produkthaltigen Fraktionen, die frei von Deoxythymidin waren, wurden kombiniert, und nach der Entfernung des Lösungsmittels unter Vakuum wurde der Rückstand in Ethanol aufgelöst, gefiltert, anschließend in Wasser aufgelöst und lyophiliert. Dieses Material wurde weiter durch Chromatografie auf einer Kolonne gereinigt, die Polygosil-C_{18}-Harz in Methanol:Wasser (8:2, Vol./Vol.) enthielt. Nach der Entfernung des Lösungsmittels im Vakuum wurde das Produkt in Wasser aufgelöst und lyophiliert, was 0,199g 6-Chloropurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid (Schmelzpunkt 100°C) ergab.
Analyse berechnet für $C_{10}H_{11}ClN_4O_2$:
Berechnet: C—47,16, H—4,35, N—22,00, Cl—13,92
Ermittelt: C—47,10, H—4,35, N—21,94, Cl—13,86

Beispiel 3
6-Ethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Ethylaminopurin (hergestellt durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe bei 6-Chloropurin (Sigma Chemicals, St. Louis, Mo) durch die Aminogruppe von Ethylamin) (2,69 mMol, 0,5g) und3'-Deoxythymidin (Horwitz, J.P. u.a., J. Org. Chem., **31**, 205 [1966]) (3,33 mMol, 0,755g) wurden zusammen mit 50ml eines 10mM Kaliumphosphatpuffers mit einem *p*H-Wert von 6,8, der 0,04% Kaliumazid enthielt, kombiniert. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (400IU) und Purinnukleosidphosphorylase (700IU) zugesetzt, und die Suspension wurde bei 37°C gerührt. Nach 48 Stunden wurden weitere 700 Einheiten Purinnukleosidphosphorylase und 400 Einheiten Thymidinphosphorylase zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 37°C gerührt. Nach fünf Tagen wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer Kolonne zugeführt, die AG-1 X2-Hydroxidharz (2,5 × 10cm) enthielt. Das Produkt wurde mit einer Wasserwaschung eluiert und auf Amberlite XAD-2-Harz (2,5 × 20cm) chromatographiert. Nach der Probeneinführung wurde diese Kolonne mit einer großen Wassermenge gewaschen. Das Produkt wurde mit Methanol eluiert. Nach der Entfernung des Lösungsmittels wurde das Produkt erneut in Wasser und Azeton aufgelöst und anschließend lyophiliert, was 0,299g 6-Ethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid ergab, das auf 0,2 Wasser und 0,1 Azeton analysiert wurde (Schmelzpunkt < 30°C, [α] 20°C = −29,45°C [0,5, DMF]).
Analyse berechnet für $C_{12}H_{17}N_5O_2$ 0,2 H_2O 0,1 C_3H_6O:
Berechnet: C—54,17, H—6,64, N—25,68
Ermittelt: C—54,13, H—6,69, N—25,75

Beispiel 4
6-Ethylmethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
Das Verfahren für die Synthese von 6-Ethylmethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid war mit dem im Beispiel 2 identisch. Die Reaktion wurde gefiltert, und das Filtrat wurde einer Dowex-1-Hydroxid-Kolonne (2,5 × 10cm) zugeführt. Das Produkt wurde mit 90% Methanol/Wasser (Vol./Vol.) eluiert und nach der Entfernung des Lösungsmittels auf etwa 5ml und dem erneuten Auflösen in Wasser (100ml) auf Amberlite XAD-2-Harz (2,5 × 20cm) chromatografiert. Nach der Probenzuführung wurde die Kolonne mit einer großen Wassermenge gewaschen, und das Produkt wurde mit 95% Ethanol/Wasser (Vol./Vol) eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert, und es wurden 20ml trockenes Kieselsäuregel zugesetzt. Das gesamte Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Das getrocknete Kieselsäuregel wurde oben auf die Kieselsäuregelkolonne (4,8 × 20cm) aufgebracht und mit Chloroform:Methanol (98:2, Vol./Vol.) äquilibriert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und nach der Entfernung des Lösungsmittels unter Vakuum zunächst in Ethanol aufgelöst und gefiltert. Nach der Entfernung des Lösungsmittels und der erneuten Auflösung in Wasser wurde die Lösung lyophiliert und ergab 0,3g 6-Ethylmethylamino-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuraniylpurin, des auf ein 0,05-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt < 30°C).
Analyse berechnet für $C_{13}H_{19}N_5O_2$ 0,05 H_2O:
Berechnet. C—56,12, H—6,92, N—25,17
Ermittelt: C—56,12, H—6,91, N—25,14
MKR: δ 8,36 (s, 1 H, H_8), 8,19 (s, 1 H, H_2), 6,23 (dd, 1 H, H_1), 5,05 (t, 1 H, J = 5,58, $OH_{6'}$), 4,09 (m, 1 H, $H_{4'}$), 4,08 (m, 2 H, CH_2), 3,51 (m, 2 H, $H_{6'}$), 3,33 (s, 3 H, CH_3), 2,41 (m, 2 H, $H_{2'}$), 2,03 (m, 2 H, $H_{3'}$), 1,14 (t, 3 H, J = 7,01, CH_3).

Beispiel 5

6-Jodopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Jodopurin (0,624g, 2,54 mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,71g, 3,13 mMol) (Horwitz, J.P. u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden mit 700ml 10mM Kaliumphosphatpuffer mit einem *p*H-Wert von 6,8, der 0,04% Kaliumazid enthielt, kombiniert. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (2000 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (7000IU) (Krenitsky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981 und US-PS 4381444) zugesetzt und die Suspension bei 35°C gerührt. Nach 48 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde unter Vakuum getrocknet. Der resultierende Rückstand wurde in 95% Ethanol/Wasser (Vol./Vol.) aufgelöst, und nach dem Zusatz von etwa 20ml Kieselsäuregel wurde das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das getrocknete Kieselsäuregel wurde oben auf eine Kieselsäuregelkolonne (2,8 × 5,0cm) gegeben, und das Produkt wurde mit Chloroform/Methanol (95:5 (Vol./Vol.) eluiert. Nur die Produkt enthaltende Fraktionen wurden kombiniert, und das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde erneut in Ethanol aufgelöst und durch einen 0,22µ-Filter gefiltert. Nach dem Entfernen des größten Teils des Ethanols und dem Zusatz von etwa 25ml Wasser wurde das Material lyophiliert, was 0,088g 6-Jodopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid ergab, das als 0,2-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 151°–153°C).

Analyse berechnet für $C_{10}H_{11}N_4O_2$ 0,2 H_2O

Berechnet: C—35,15, H—3,46, N—15,77

Ermittelt: C—35,31, H—3,31, N—15,83

Beispiel 6

6-Zyklopropylmethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Zyklopropylmethylaminopurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an Chloropurin (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) durch die Aminogruppe an Zyklopropylmethylamin (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) hergestellt

6-Zyklopropylmethylaminopurin (2,64 mMol, 0,50g) wurde in 5ml Dimethylformamid aufgelöst. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur wurde 3'-Deoxythymidin (3,98mMol, 0,90g) (Horwitz, L.P. u.a., **J. Org. Chem. 31,** 205 [1966]) zusammen mit 30ml 10mM Kaliumphosphatpuffer mit einem *p*H-Wert von 6,8, der 0,04% Kaliumazid enthielt, zugesetzt. Gereinigte Thymidinphosphorylase (10000IU) und Purinnukleosidphosphorylase (20000IU) (Krenitzky, T.A. u.a., **Biochemistry 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444), auf 10ml DEAE-Zellulose (Whatman) adsorbiert, wurden zugegeben, und die Suspension wurde bei 35°C gerührt. Nach 8 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer Reihe von gekoppelten Kolonnen zugeführt. Die erste Kolonne enthielt AG1-X2-Harz (OH-Form), 2,5 × 10cm, während die zweite Kolonne Amberlite XAD-2-Harz, 2,5 × 20cm, enthielt. Nach der Probenzuführung wurden die Kolonnen mit 500ml Wasser gewaschen, und das Produkt wurde mit Methanol eluiert. Dann wurde das Produkt einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 5 × 20cm, mit einem Gemisch aus Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und das Gummiprodukt wurde in Azeton in einer Phiole gegeben. Die Lyophilisierung ergab 0,588g 6-Zyklopropylmethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyriboufranosid, das auf 0,15 Wasser und 0,15 Azeton analysiert wurde.

Analyse berechnet für $C_{14}H_{19}N_5O_2$ 0,15 H_2O 0,15 C_3H_6O

Berechnet: C—57,71, H—6,77, N—23,29

Ermittelt: C—57,73, H—6,94, N—23,39

Beispiel 7

6-Isopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

Die Synthese von 6-Isopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid wurde wie im Beispiel 1 durchgeführt, wobei allerdings 6-Isopropylaminopurin (hergestellt aus 6-Chloropurin (Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und Isopropylamin) in jeweils 5ml Dimethylformamid und Dimethylsulfoxid aufgelöst wurden.

Analyse berechnet für $C_{13}H_{19}N_5O_2$ 0,2 H_2O

Berechnet: C—55,58, H—6,96, N—24,93

Ermittelt: C—55,54, H—6,96, N—25,01

Beispiel 8

Thiamiprin-9-β-D-2'-3'-dideoxyribofuranosid

Thiamiprin (Burroughs Wellcome Co., Research Triangle Park NC) (0,5g) wurde in 2,5ml Dimethylsulfoxid und 15ml Dimethoxyethan aufgelöst und mit 3'-Deoxythymidin (0,8g) (Horwitz, J.P. u.a., J. Org. Chem. 31, 205 [1966]) in 30ml Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 6,8, kombiniert. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (1600IU) und Purinnukleosidphosphorylase (70000IU) (Krenitzky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugesetzt und die Suspension bei 35°C gerührt. Nach 96 Stunden wurde die Reaktion gefiltert und das Volumen im Vakuum zu einem Sirup reduziert, es wurde Wasser (25ml) zugegeben, und die Lösung wurde über Nacht bei 3°C gelagert. Der Niederschlag wurde durch Filtern aufgenommen, in 5ml Dimethylformamid zur Suspension gebracht und gefiltert. Dem Filtrat wurden 15ml Methanol zugesetzt, und die Lösung wurde bei −20°C aufbewahrt. Nach 5 Tagen wurden die festen Stoffe durch Filtern aufgenommen, in 65% Methanol/Wasser (Vol./Vol) aufgelöst und auf einem AG-1 X2-Hydroxidharz chromatografiert. Das Produkt wurde mit 65% Methanol/Wasser (Vol./Vol.) eluiert. Nachdem das Lösungsmittel im Vakuum entfernt wurde, wurde der Feststoff in 20ml Chloroform/Methanol (9:1) aufgelöst und auf einem Bett von Kieselsäuregel (3 × 50cm) chromatografiert, das mit Chloroform/Methanol (9:1, Vol./Vol.) äquibriiert worden war. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Das restliche Kieselsäuregel wurde aus dem Produkt durch Auflösen in 95% Ethanol/Wasser (Vol./Vol.) und Filtern durch einen 0,22µ-Filter entfernt. Das Ethanol wurde verdampft, und es wurden etwa 200ml Wasser zugesetzt. Die resultierende Suspension wurde lyophilisiert und ergab 0,056g Thiamiprin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,4 Hydrat analysiert wurde, welches 0,7 Methanoläquivalente enthielt (Schmelzpunkt 130°C, teilweises Schmelzen bei 110°C).

Analyse berechnet für $C_{14}H_{16}SN_8O_4$ 0,4 H_2O 0,7 CH_4O

Berechnet: C—41,84, H—4,68, N—26,55, S—7,60

Ermittelt: C—41,93, H—4,43, N—26,34, S—7,48

Beispiel 9

2-Amino-6-n-propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2-Amino-6-n-propoxypurin (hergestellt durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 2-Amino-6-chloropurin (Aldrich Chemical Co., Milwaukes, WI) durch das Alkoxyanion, das zwischen Natriumhydrid und Propanol gebildet wird) (0,21 g) und 3'-Deoxythymidin (0,29 g) (Horwitz, J.P. u.a. J. Org. Chem. **31**, 205 [1966]) wurden in 100 ml Kaliumphosphat, *p*H-Wert 6,8, mit 0,04% Kaliumazid, kombiniert. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (1 200 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (8400 IU) (Krenitzky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20**, 3615, 1981, und US PS 4 381 444) zugesetzt, und die Suspension wurde bei 35°C gerührt. Nach 48 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde auf einer Kolonne chromatografiert, die AG-1 X2-Hydroxidharz (2 × 5 cm) enthielt. Das Produkt wurde mit 90% Methanol/Wasser (Vol./Vol.) eluiert. Das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde in Methanol aufgelöst. Es wurden 10 ml trockenes Kieselsäuregel zugesetzt, und das Methanol wurde unter Vakuum entfernt. Das getrocknete Kieselsäuregel wurde einer Kieselsäuregelkolonne (2,5 × 30 cm) zugeführt, die mit Chloroform/Methanol (9 zu 1, Vol./Vol.) äquilibriert worden war. Das war auch das Eluierungslösungsmittel. Nur das Produkt enthaltende Fraktionen wurden kombiniert, und das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Das restliche Kieselsäuregel wurde entfernt, und das Produkt wurde auf die im Beispiel 8 beschriebene Weise getrocknet. Das ergab 0,132 g 2-Amino-6-n-propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als ein 0,2-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 70°C).

Analyse berechnet für $C_{13}H_{19}N_5O_2$ 0,2 H_2O

Berechnet: C—52,91, H—6,56, N—23,73

Ermittelt: C—52,52, H—6,62, N—23,49

Beispiel 10

6-Ethylthiopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Ethylthiopurin (5,5 mMol, 1 g), das von der Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, bezogen wurde, und 3'-Deoxythymidin (4,47 mMol) (Horwitz, J.P. u.a., **J. Org. Chem., 31**, 205 [1966]) wurden in 50 ml einer 15 mM-Kaliumphosphatlösung mit einem *p*H-Wert von 7,2 zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (7890 IU) und Purinnuleosidphosphorylase (1980 IU) (Krenitzky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20**, 3615, 1981, und US-PS 4 381 444) zugegeben, und die Suspension wurde bei 35°C gerührt. Nach 144 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde bei −20°C aufbewahrt. Nach dem Aufbauen wurde das Filtrat mit Ammoniumhydroxid auf einen *p*H-Wert von 10,7 abgestimmt und auf einer Kolonne chromatografiert, die Dowex-1-Formatharz (2,5 × 8 cm) enthielt. Diese Kolonne wurde mit 30% n-Propanol/Wasser (Vol./Vol.) eluiert. Produkthaltige Fraktionen wurden kombiniert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 30% n-Propanol/Wasser (Vol./Vol.) aufgelöst und auf einer Kolonne chromatografiert, die BioRad P-2- (5 × 90 cm) enthielt. Das Produkt wurde mit 30% n-Propanol/Wasser (Vol./Vol.) aus der Kolonne eluiert. Produkthaltige Fraktionen wurden kombiniert, und das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt, was 0,427 g 6-Ethylthiopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid ergab, das als ein 0,5-Hydrat analysiert wurde.

Analyse berechnet für $C_{12}H_{16}SN_4O_2$ 0,5 H_2O

Errechnet: C—49,81, H—5,92, N—19,36, S—11,44

Ermittelt: C—49,63, H—5,95, N—19,28, S—11,06

MKR-Daten: δ 8,71 (s, 1 H, H_8), 8,67 (s, 1 H, H_2), 6,33 (t, 1 H, H_1'), 4,1 (m, 2 H, OH, H_4'), 3,4–3,6 (m, 2 H, 5'CH_2,), 1,8–2,4 (m, 4 H, 2' und 3'CH_2), 1,5' (t, 3 H, CH_3).

Beispiel 11

2-Amino-6-benzylthiopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2-Amino-6-benzylthiopurin (1,9 mMol, 0,5 g) von der Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, und 3'-Deoxythymidin (2,0 mMol, 0,543 g) (Horwitz, J.P. u.a., **J. org. Chem., 31**, 205 [1966]) wurden in 20 ml eines 10 mM-Kaliumphosphatpuffers, *p*H-Wert 7, der 0,04% Kaliumazid enthielt, aufgelöst. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (2000 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (2900 IU) (Krenitzky T.A. u.a., **Biochemistry, 20**, 3615, 1981, und US-PS 4 381 444) zugesetzt, und die Suspension wurde bei 35°C gerührt. Nach 3 Tagen wurden 80 ml 10 mM-Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 7, zugesetzt. Einen Tag später wurde die Reaktion gefiltert. Der Filterkuchen wurde in 90% Methanol/Wasser (Vol./Vol.) aufgelöst, gefiltert und das Filtrat auf eine 2,5 × 10 cm-Kolonne, die Dowex-Hydroxid enthielt, chromatografiert. Das Produkt wurde mit 90% Methanol/Wasser (Vol./Vol.) aus der Kolonne eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und ergaben nach dem Lyophilieren 0,086 g 2-Amino-6-benzylthiopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid.

Analyse berechnet für $C_{17}H_{19}SH_5O_2$

Errechnet: C—57,13, H—5,36, N—19,59, S—8,97

Ermittelt: C—57,02, H—5,39, N—19,51, S—8,89

MKR-Daten: δ 8,18 (s, 1 H, H_8), 7,3 (m, 5 H, Ø), 6,6 (s, 2 H, NH_2), 6,08 (dd, 1 H_1), 4,93 (b, 1 H, 5'OH), 4,45 (b, 2 H, CH_2), 4,08 (m, 1 H, H_4'), 3,43–3,65 (m, 2 H, 5'CH_2), 2,35 (m, 2 H, 2'CH_2), 2,0 (m, 2 H, 3'CH_2).

Beispiel 12

6-Ethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Ethoxypurin (3,0 mMol, 0,5 g; Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (3,3 mMol, 0,75 g) (Horwitz, J.P. u.a. J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 25 ml 10 mM-Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 6,8 und mit 0,04% Kaliumazid, zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte THymidinphosphorylase (800 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (1 200 IU) (Krenitzky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20**, 3615, 1981, und US-PS 4 381 444) zugegeben, und die Suspension wurde bei 35°C gerührt. Nach 24 Stunden wurden 85 mol 10 mM-Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 6,8, zugesetzt, und die Reaktion wurde weitere 5 Tage bei 35°C gerührt. Der Reaktionsniederschlag wurde durch Filtern entfernt und das Filtrat auf einer 2,5 × 10 cm-Kolonne, die Dowex-1-Hydroxid enthielt, chromatografiert. Das Produkt wurde mit 90% Methanol/Wasser (Vol./Vol.) eluiert, und die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels durch Vakuum wurde das Material in 30% n-Propanol/Wasser (Vol./Vol.) aufgelöst und auf einer 5 × 90 cm-Kolonne, die Biorad P-2-Harz enthielt, chromatografiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden zusammengefaßt und ergaben nach dem Lyophilieren 0,225 g 6-Ethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, als 0,15-Hydrat analysiert.

Analyse berechnet für $C_{13}H_{17}N_5O_2$ 0,15 H_2O
Errechnet: C — 53,98, H — 6,15, N — 20,98
Ermittelt: C — 54,05, H — 6,15, N — 20,89
MKR-Daten: δ 8,6 (s, 1H, H_8), 8,5 (s, 1H, H_2), 6,3 (dd, 1H, $H_{1'}$), 4,97 (t, 1H, 5'OH), 4,6 (m, 2H, $-CH_{2'}-$), 4,1 (m, 1H, $H_{4'}$), 3,53 (m, 2H, 5'CH_2), 2,41 (m, 2H, 2'CH_2), 2,03 (m, 2H, 3'CH_2), 1,4 (t, 3H, J = 0,035Hz, CH_3).

Beispiel 13
6-Dimethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Dimethylaminopurin (6,13mMol, 1g, Sigma Chemicals Co., St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (4,44mMol, 1g) (Horwitz, J.P. u.a. J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 50ml einer 10mM-Kaliumphosphatlösung, *p*H-Wert 7,0 mit 0,04% Kaliumazid, zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (200 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (3000 IU) (Krednitzky, T.A. u.a., Biochemistry, 20, 3615 [1981] und US-PS 4381444) zugegeben und die Suspension bei 35°C gerührt. Nach 120 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde auf einer Kolonne, die Dowex-1-Hydroxidharz (2,5 × 8cm) enthielt, mit 90% Methanol und Wasser (Vol./Vol.) als Eluierungsmittel chromatografiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 25ml 30%igem n-Propanol/Wasser (Vol./Vol.) aufgelöst und auf eine Kolonne, die BioRad P-2-Harz (5 × 90cm) enthielt, chromatografiert. Das Produkt wurde mit 30% n-Propanol/Wasser (Vol./Vol.) eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und das Lösungsmittel unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in 30ml deionisiertem Wasser aufgelöst und auf einer Kolonne, die Sephadex G 10-Harz (5 × 90cm) enthielt, chromatografiert. Das Eluierungsmittel war Wasser. Geeignete Fraktionen wurden kombiniert und ergaben nach dem Lyophilieren 6-Dimethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als ein 0,3-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 162°C).
Analyse berechnet für $C_{12}H_{17}N_5O_2$ 0,3 H_2O
Errechnet: C 53,64, H — 6,60, N — 26,06
Ermittelt: C — 53,63, H — 6,63, N — 25,8.

Beispiel 14
6-Hydroxyethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Hydroxyethylaminopurin (2,8mMol, 0,5g, Sigmal Chemical Co., St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (3,30mMol, 0,76g) (Horwitz, J.P. u.a. J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 75ml eines 10mM-Phosphatpuffers, *p*H-Wert 6,8, mit 0,04% Kaliumazid, zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (400 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (700 IU) (Krenitzky, T.A. u.a., Biochemistry, 20, 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugegeben und die Suspension bei 35°C gerührt. Nach acht Tagen wurden 600 IU Thymidinphosphorylase und 1050 IU Purinnukleosidphosphorylase zugegeben. Nach einem weiteren Tag wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer 2,5 × 10cm-Kolonne zugeführt, die Dowex-1-Hydroxid enthielt. Das Produkt wurde mit Methanol eluiert; die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und unter Vakuum verdampft. Der Rückstand wurde dann einer 2,5 × 50cm-Kieselsäuregelkolonne zugeführt und unter Druck mit einem Gemisch von Chloroform und Methanol (8:2) eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und ergaben nach dem Lyophilieren 6-Hydroxyethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als ein 0,65-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 153°C).
Analyse berechnet für $C_{12}H_{17}N_5O_3$ 0,65 H_2O
Berechnet: C — 49,53, H — 6,34, N — 24,07
Ermittelt: C — 49,85, H — 6,07, N — 23,70.

Beispiel 15
6-Zyklopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Zyklopropylaminopurin (hergestellt aus 6-Chloropurin [Sigma Chemicals, St. Louis, MO] und Zyklopropylamin) (2,86mMol, 0,5g) und 3'-Deoxythymidin (4,30mMol, 1g) (Horwitz, J.P. u.a.; J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 10ml eines 1:1-Gemischs von Dimethylsulfoxid und N',N'-Dimethylformamid aufgelöst und weiter mit 30ml eines 10mM-Kaliumphosphatpuffers, *p*H-Wert 6,8 und mit 0,04% Kaliumazid, verdünnt. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (10000 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (20000 IU) (Krenitzky, T.A. u.a. Biochemistry, 20, 3615, 1981, und US-PS 4381444), adsorbiert auf 10ml DEAE-Harz (Whatman) zugesetzt, und die Suspension wurde bei 35°C gerührt. Nach 8 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer Reihe von gekoppelten Kolonnen zugeführt. Die erste Kolonne enthielt Dowex-1-Hydroxid (2,5 × 10cm), während die zweite Kolonne mit Amberlite XAD-2-Harz (2,5 × 20cm) gefüllt war. Nach der Probenzuführung wurden die Kolonnen mit einer großen Menge Wasser gewaschen, und das Produkt wurde mit Methanol eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und ergaben nach dem Lyophilieren 0,54g 6-Zyklopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als ein 0,55-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 63°C–65°C).
Analyse berechnet für $C_{13}H_{17}N_5O_2$ 0,55 H_2O
Berechnet: C — 54,75, H — 6,40, N — 24,55
Ermittelt: C — 54,67, H — 6,43, N — 24,57.

Beispiel 16
6-Zyklopentylaminopurin-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Zyklopentylaminopurin (hergestellt aus 6-Chloropurin [Sigma Chemicals, St. Louis, NO] und Zyklopentylamin) (2,49mMol, 0,506g) wurde in 5ml N,N-Dimethylformamid und 5ml Dimethylsulfoxid aufgelöst. 3'-Deoxythymidin (3,94mMol, 0,894g (Horwitz, J.P. u.a., J. Org. Chem. 31, 205 [1966]) wurde zusammen mit 30ml 10mM-Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 6,8, 0,04% Gehalt an Kaliumazid, zugegeben. Der *p*H-Wert wurde mit Essigsäure auf 6,8 abgestimmt. Gereinigte Thymidinphosphorylase (10000 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (20000 IU) (Krenitsky, T.A. u.a., Biochemistry, 20, 3615, 1981, und US-PS 4381444), gebunden an DEAE-Zellulose (Whatman), wurden dem Reaktionsgemisch zugesetzt. Die Suspension wurde bei 35°C 8 Stunden lang gerührt, gefiltert und das Filtrat bei −20°C über Nacht aufbewahrt. Nach dem Auftauen wurde das Filtrat einer 2,5 × 10cm-Kolonne mit Dowex-1-Hydroxidharz zugeführt. Das Produkt wurde mit Wasser eluiert; die produkthaltigen

Fraktionen wurden kombiniert und das Methanol unter Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Wasser aufgelöst, und nach dem Lyophilieren erhielt man 0,459g 6-Zyklopentylaminopurin-β-D-2',3'-dideoxyribofurancsid, das als ein 0,05-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 88°C).
Analyse berechnet für $C_{15}H_{21}N_5O_2$ 0,05 H_2O
Errechnet: C—59,21, H—6,99, N—23,02
Ermittelt: C—59,24, H—7,05, N—22,95.

Beispiel 17
2-Amino-6-methoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
2-Amino-6-methoxypurin (3,0mMol, 0,5g, hergestellt aus 2-Amino-6-chloropurin [Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI] und Methanol) und 3'-Deoxythymidin (4,50mMol, 1g) (Horwitz, J.P. u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 10ml eines 1:1-Gemisches von Dimethylsulfoxid und N',N'-Dimethylformamid aufgelöst und weiter mit 30ml eines 10mM-Kaliumphosphatpuffers mit einem *p*H-Wert von 6,8 und einem Kaliumazidgehalt von 0,04% verdünnt. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (10000 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (20000 IU) (Krenitsky u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444), absorbiert auf 10ml DEAE-Harz, zugegeben und die Suspension bei 35°C gerührt. Nach 8 Stunden wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer 2,5 × 10cm-Kolonne zugeführt, die Dowex-1-Hydroxid enthielt. Produkthaltige Fraktionen wurden zusammengefaßt und auf ein Volumen von 70ml reduziert. Diese Probe wurde einer 2,5 × 20cm-Kolonne zugeführt, die mit Amberlite XAD-2-Harz gefüllt war. Die Kolonne wurde mit einer großen Wassermenge gewaschen, und das Produkt wurde mit Methanol eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert und ergaben nach dem Lyophilieren 2-Amino-6-methoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid.
Analyse berechnet für $C_{11}H_{15}N_5O_3$
Errechnet: C—49,81, H—5,70, N—26,40
Ermittelt: C—49,70, H—5,72, N—26,34

Beispiel 18
6-n-Propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-n-Propoxypurin (0,5g, 2,8mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,96g, 4,2mMol) (Horwitz, J.P. u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 5ml Dimethylsulfoxid und 5ml N,N-Dimethylformamid aufgelöst. Es wurden 30ml eines 10mM-Kaliumphosphatpuffers, *p*H-Wert 6,8, mit 0,04% Kaliumazid, und gereinigte Purinnukleosidphosphorylase (20000 IU) und Thymidinphosphorylase (10000 IU) (Krenitsky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444), absorbiert auf 10ml DEAE-Zelluloseharz, zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 35°C 7 Stunden lang gerührt. Das Harz wurde durch Zentrifugieren entfernt und die obenauf schwimmende Schicht einer Kolonne von AG1-X2 (OH-Form), 2,5 × 10cm, gekoppelt mit einer Kolonne von XAD-2, 2,5 × 20cm, zugeführt. Die Kolonnen wurden mit 500ml Wasser gewaschen, und das Produkt wurde mit Methanol eluiert. Das Produkt wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonnen, 3 × 50cm, mit Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,554g 6-n-Propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als ein 0,3-Hydrat analysiert wurde.
Analyse berechnet für $C_{13}H_{18}N_4O_3$ 0,3 H_2O
Errechnet: C—55,04, H—6,61, N—19,75
Ermittelt: C—55,05, H—6,61, N—19,72.

Beispiel 19
6-n-Butoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-n-Butoxypurin (0,5g, 2,6mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,70g, 3,1mMol) (Horwitz, J.P. u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 100ml eines 10mM-Kaliumphosphatpuffers, *p*H-Wert 6,8, mit 0,04% Kaliumazid, zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte Purinnukleosidphosphorylase (3500 IU) und Thymidinphosphorylase (800 IU) (Krenitsky, T.A. u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugesetzt und die Lösung bei 32°C gerührt. Nach 7 Tagen wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer Kolonne mit AG1-X2 (OH-Form), 2,5 × 10cm, zugeführt. Das Produkt wurde mit 90% wäßrigem Methanol eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus dem Produkt entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 2,5 × 80cm, mit Chloroform:Methanol (8:2, Vol., Vol.) unterzogen. Das Produkt wurde in Wasser aufgelöst und einer Kolonne zugeführt, die XAD-2 enthielt, 2,5 × 20cm. Die Kolonne wurde mit 500ml Wasser gewaschen und dann mit Methanol entwickelt. Das Lyophilieren ergab 0,276g 6-n-Butoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid (Schmelzpunkt 55°C).
Analyse berechnet für $C_{14}H_{20}N_4O_3$
Errechnet: C—57,52, H—6,90, N—19,17
Ermittelt: C—57,86, H—7,29, N—18,83.

Beispiel 20
6-Zyklopropylmethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Zyklopropylmethoxypurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 6-Chloropurin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) durch das Alkoxyanion hergestellt, das sich zwischen Natriumhydrid und Zyklopropylmethylalkohol bildete. 6-Zyklopropylmethoxypurin (0,505g, 26,5mMol) und 2',3'-Dideoxythymidin (0,908g, 40,1mMol) (Horwitz u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben worden ist. Die produkthaltigen Fraktionen wurden einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 3 × 50cm, mit Azetonitril:Wasser (98:2, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,496g 6-Zyklopropylmethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid.
Analyse berechnet für $C_{14}H_{18}N_4O_3$
Errechnet: C—57,92, H—6,25, N—19,30
Ermittelt: C—57,93, H—6,28, N—19,27.

Beispiel 21

6-Zyklopentyloxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Zyklopentyloxypurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 6-Chloropurin (Sigma Chemical Co., St. Louis, 31, 205 [1966]) durch das Alkoxyanion, das zwischen Natriumhydrid und Zyklopantanol gebildet wird, hergestellt. 6-Zyklopentyloxypurin (0,506 g, 2,48 mMol) und 3'-Deoxythymidin (0,856 g, 3,78 mMol) (Horwitz u. a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und, wie im Beispiel 18 beschrieben, auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus den Produktfraktionen entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 3 × 50 cm, mit Chloroform:Methanol (95,5, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyphilieren ergab 0,385 g 6-Zyklopentyloxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,15-Hydrat analysiert wurde.

Analyse berechnet für $C_{15}H_{20}N_4O_3$ 0,15 H_2O

Berechnet: C — 58,68, H — 6,66, N — 18,25

Ermittelt: C — 58,61, H — 6,53, N — 18,25

Beispiel 22

6-Zyklohexyloxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Zyklohexyloxypurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 6-Chloropurin (Sigma Chemical, St. Louis, MO) durch das Alkoxyanion, das zwischen Natriumhydrid und Zyklohexanol gebildet wird, hergestellt. 6-Zyklohexylpurin (0,50 g, 2,29 mMol) und 3'-Deoxythymidin (0,776 g, 3,42 mMol) (Horwitz, J. P. u. a., J. Org. Chem. 31, 205 [1966]) wurden, wie im Beispiel 18 beschrieben, auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wobei allerdings 10 ml Glym neben den 5 ml Dimethylsulfoxid und 5 ml N,N-Dimethylformamid und insgesamt 70 ml eines 10 mM-Kaliumphosphatpuffers, *p*H-Wert 6,8, mit einem Gehalt von 0,04% Kaliumazid eingesetzt wurden. Das Lyophilieren ergab 0,102 g 6-Zyklohexyloxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid (Schmelzpunkt 105°C), das als 0,2-Hydrat analysiert wurde.

Analyse berechnet für $C_{16}H_{22}N_4O_3$ 0,2 H_2O

Berechnet: C — 59,69, H — 7,01, N — 17,40

Ermittelt: C — 59,69, H — 6,93, N — 17,27

Beispiel 23

6-Zyklobutylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Zyklobutylaminopurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 6-Chloropurin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) durch die Aminogruppe an Zyklobutylamin hergestellt.

6-Zyklobutylaminopurin (0,510 g, 2,62 mMol) und 3'-Deoxythymidin (0,896 g, 3,96 mMol) (Horwitz, J. P., u. a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurde reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Aus den produkthaltigen Fraktionen wurde das Lösungsmittel entfernt, und der Rückstand wurde auf einer Kieselgelkolonne, 3 × 50 cm, mit Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) einer Entspannungschromatografie unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,524 g 6-Zyklobutylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid (Schmelzpunkt 96°C–98°C).

Analyse berechnet für $C_{14}H_{19}N_5O_2$

Errechnet: C — 58,12, H — 6,62, N — 24,20

Ermittelt: C — 58,19, H — 6,65, N — 24,16

Beispiel 24

6-Diethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Diethylaminopurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an Chloropurin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) durch die Aminogruppe an Diethylamin hergestellt.

6-Diethylaminopurin (0,246 g, 1,29 mMol) und 3'-Deoxythymidin (0,463 g, 2,04 mMol) (Horwitz, J. P., u. a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurde reagiert und auf Ag1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das in Beispiel 18 beschrieben wurde. Aus den produkthaltigen Fraktionen wurde im Vakuum das Lösungsmittel entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 5 × 20 cm, mit Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus den produkthaltigen Fraktionen entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer zweiten Kieselsäuregelkolonne, 2,5 × 50 cm, mit Ethylazetat unterzogen. Der Produktgummi wurde in Azeton in eine Phiole gegeben, und das Lyophilieren ergab 0,098 g 6-Diethylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das nach 0,25 Wasser und 0,20 Azeton analysiert wurde.

Analyse berechnet für $C_{14}H_{21}N_5O_2$ 0,2 C_3H_6O 0,25 H_2O

Errechnet: C — 57,03, H — 7,44, N — 22,78

Ermittelt: C — 57,02, H — 7,39, N — 22,72

Beispiel 25

6-Pyrrolidinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Pyrrolidinopurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 6-Chloropurin durch die Aminogruppe an Pyrrolidin hergestellt.

6-Pyrrolidinopurin (0,500 g, 2,64 mMol) und 3'-Deoxythymidin (0,901 g, 3,98 mMol) (Horwitz, J. P., u. a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 5 ml Dimethylsulfoxid und 5 ml N,N-Dimethylformamid aufgelöst. Es wurden 30 ml 10 mM Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 6,8, die 0,04% Kaliumazid enthielten, und gereinigte Purinnukleosidphosphorylase (10000 IU) und Thymidinphosphorylase (10000 IU) (Krenitsky, T. A., u. a., Biochemistry, 20, 3615, 1981, und US-PS 4381444), adsorbiert auf 10 ml DEAE-Zelluloseharz, zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 35°C 7 Stunden lang gerührt. Das Harz wurde durch Zentrifugieren entfernt und die obenaufschwimmende Schicht einer Kolonne von AG1-X2 (OH-Form), 2,5 × 10 cm, die mit einer Kolonne von XAD-2, 2,5 × 20 cm, gekoppelt war, zugeführt. Die Kolonnen wurden mit 500 ml Wasser gewaschen, und das Produkt wurde mit Methanol eluiert. Lyophilieren ergab 0,385 g 6-Pyrrolidinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,05-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 158°C–159°C).

Analyse berechnet für $C_{14}H_{19}N_5O_2$ 0,05 H_2O
Errechnet: C—57,94, H—6,63, N—24,13
Ermittelt: C—57,92, H—6,67, N—24,11

Beispiel 26
6-Morpholinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Morpholinopurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 6-Chloropurin (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) durch die Aminogruppe an Morpholin hergestellt.
6-Moropholinopurin (0,501 g, 2,44 mMol) und 3'-Deoxythimidin (0,842 g, 3,72 mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Lyophilisieren ergab 0,292 g 6-Morpholinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,2-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 97°C).
Analyse berechnet für $C_{14}H_{19}N_5O_3$ 0,20 H_2O
Errechnet: C—54,43, H—6,33, N—22,67
Ermittelt: C—54,48, H—6,28, N—22,51

Beispiel 27
6-γ,γ-Dimethylallylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-γ,γ-Dimethylallylaminopurin (0,500 g, 2,46 mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,752 g, 3,32 mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Aus den produkthaltigen Fraktionen wurde im Vakuum das Lösungsmittel entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 3 × 50 cm, mit Chloroform:Methanol (95:5, Vol./Vol.) unterzogen.
Die produkthaltigen Fraktionen wurden dann einer XAD-2-Kolonne, 2,5 × 20 cm, zugeführt und mit Methanol eluiert. Der Produktgummi wurde in Azeton in einer Phiole übertragen, und das Lyophilieren ergab 0,445 g 6-γ,γ-Dimethylallylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das nach 0,45 Wasser und 0,20 Azeton analysiert wurde.
Analyse berechnet für $C_{15}H_{21}N_5O_2$ 0,45 H_2O, 0,2 C_3H_6O
Errechnet: C—57,99, H—7,21, N—21,68
Ermittelt: C—57,77, H—6,91, N—21,41

Beispiel 28
6-Furfurylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Furfurylaminopurin (0,502 g, 2,33 mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythimidin (0,754 g, 3,33 mMol) (Horwitz, J.P., u.a. J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus den produkthaltigen Fraktionen entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 5 × 50 cm, mit Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,303 g 6-Furfurylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,2-Hydrat analysiert wurde.
Analyse berechnet für $C_{15}H_{17}N_5O_3$ 0,2 H_2O
Errechnet: C—56,49, H—5,50, N—21,96
Ermittelt: C—56,50, H—5,53, N—21,97

Beispiel 29
6-Benzylmerkaptopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Benzylmerkaptopurin (0,501 g, 2,07 mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,704 g, 3,11 mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde, wobei aber 10 ml Glym verwendet wurden, um die Purinbasis aufzulösen. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus den produkthaltigen Fraktionen entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 3 × 50 cm, mit Choroform:Methanol (95:5, Vol./Vol.) unterzogen. Das Produkt wurde in Ethanol in eine Phiole übertragen, und das Lyophilieren ergab 0,304 g 6-Benzylmerkaptopurin-9-9-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das nach 0,05 Wasser und 0,05 Ethanol analysiert wurde (Schmelzpunkt 81°C–83°C).
Analyse berechnet für: $C_{17}H_{18}N_4O_2S$ 0,05 H_2O 0,05 C_2H_5O
Errechnet: C—59,43, H—5,37, N—16,21, S—9,28
Ermittelt: C—59,49, H—5,38, N—16,32, S—9,30

Beispiel 30
6-Anilinopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Anilinopurin (0,500 g, 2,37 mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,753 g, 3,32 mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Aus den produkthaltigen Fraktionen wurde im Vakuum das Lösungsmittel entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 2,5 × 50 cm, mit Chloroform: Methanol (95:5, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,470 g 6-Anilinopurin-9-β-E-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,05-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 170°C–172°C).
Analyse berechnet für $C_{16}H_{17}N_5O_2$ 0,05 H_2O
Errechnet: C—61,55, H—5,52, N—22,43
Ermittelt: C—61,57, H—5,55, N—22,43

Beispiel 31

2-Amino-6-ethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2-Amino-6-ethoxypurin (0,5g, 2,8mMol), hergestellt durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 2-Amino-6-chloropurin (Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI) durch das Alkoxyanion, das zwischen Natriumhydrid und Ethanol gebildet wurde, und 3'-Deoxythymidin (0,950g, 4,19mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus den produkthaltigen Fraktionen entfernt, und der Rückstand wurde eine Entspannungschromatografie auf eine Kieselsäuregelkolonne, 5 × 20cm, mit Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,443g 2-Amino-6-ethoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als ein 0,3-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 150°C, teilweises Schmelzen bei 65°C).

Analyse berechnet für $C_{12}H_{17}N_5O_3$ 0,3 H_2O

Errechnet: C—50,63, H—6,23, N—24,60

Ermittelt: C—50,77, H—6,21, N—24,63

Beispiel 32

2,6,8-Triaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2,6,8-Triaminopurin, 0,500g, 3,0mMol, (Davies, R., u.a. **Biochem. Biophys., Acta.**, 564 [3], 448, 1979) und 3'-Dideoxythymidin (1,02g, 4,50mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Das Lyophilieren ergab 0,148g 2,6,8-Triaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das nach 0,7 Methanol analysiert wurde (Schmelzpunkt 154°C).

Analyse berechnet für $C_{10}H_{15}N_7O_2$ 0,7 CH_4O

Errechnet: C—44,76, H—6,24, N—34,08

Ermittelt: C—44,51, H—5,95, N—33,78

Beispiel 33

2-Amino-6-benzylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2-Amino-6-benzylaminopurin (0,2g, 0,8mMol, hergestellt durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe von 2-Amino-6-Chloropurin [Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WO] durch Benzylamin) und 3'-Deoxythimidin (0,282g, 1,2mMol) (Horwitz, J.P., u.a. J. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde, wobei allerdings kleinere Mengen an Purinnukleosidphosphorylase (10000 IU) und Thymidinphosphorylase (5000 IU) eingesetzt wurden. Das Lyophilisieren ergab 0,182g 2-Amino-6-Benzylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das nach 0,60 Methanol analysiert wurde (Schmelzpunkt 92°C–94°C).

Analyse berechnet für $C_{17}H_{20}N_6O_2$ 0,60 CH_4O

Errechnet: C—58,78, H—6,28, N—23,37

Ermittelt: C—58,60, H—6,06, N—23,48

Beispiel 34

2-Amino-6-zyklopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2-Amino-6-zyklopropylaminopurin (0,495g, 2,1mMol, hergestellt durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 2-Amino-6-chloropurin [Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI] durch Zyklopropylamin) und 3'-Deoxythymidin (0,73g, 3,2mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J.Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Das Lyophilieren ergab 0,419g 2-Amino-6-zyklopropylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,3-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 82°C–84°C).

Analyse berechnet für $C_{13}H_{18}N_6O_2$ 0,3H_2O

Errechnet: C—52,80, H—6,34, N—28,42

Ermittelt: C—52,83, H—6,35, N—28,44

Beispiel 35

2-Amino-6-methylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2-Amino-6-methylaminopurin (0,5g, 3,0mMol, hergestellt durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 2-Amino-6-chloropurin [Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI] durch Methylamin) und 3'-Deoxythymidin (0,893g, 3,9mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J.Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 100ml 10mM-Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 6,8 mit einem Gehalt an 0,04% Kaliumazid, zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte Purinnukleosidphosphorylase (2880 IU) und Thymidinphosphorylse (1200 IU) (Krenitsky, T.A., u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 33°C 72 Stunden lang gerührt. Die Reaktion wurde einer Kolonne von AG1-X2 (OH-Form), 2,5 × 10cm, zugeführt, und das Produkt wurde mit 90% wäßrigem Methanol eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 2,5 × 30cm, mit Chloroform:Methanol (97:3, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,3g 2-Amino-6-methylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,4-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 95°C, teilweise Schmelzen bei 75°C).

Analyse berechnet für $C_{11}H_{16}N_6O_2$ 0,4H_2O

Errechnet: C—48,66, H—6,24, N—30,95

Ermittelt: C—48,57, H—6,27, N—30,77

Beispiel 36

2-Amino-6-n-propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

2-Amino-6-n-propoxypurin (0,21g, 1,1mMol, hergestellt durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe an 2-Amino-6-chlorpurin [Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI] durch das Alkoxyanion, das zwischen Natriumhydrid und n-Propanol gebildet wurde) und 3'-Deoxythymidin (0,293g, 1,3mMol) (Horwitz, J.P., u.a. J.Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 100ml 10mM-Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 7,0 mit einem Gehalt an Kaliumazid von 0,04%, zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte

Purinnukleosidphosphorylase (2880 IU) und Thymidinphosphorylase (1200 IU) (Krenitsky, T.A., u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 33°C 48 Stunden lang gerührt. Die Reaktion wurde einer Kolonne von AG 1-X2 (OH-Form), 2,5 × 5cm, zugeführt und mit 90% wäßrigem Methanol eluiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 2,5 × 30cm, mit Chloroform:Methanol (9:1, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,132g 2-Amino-6-n-propoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,2-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 70°C).
Analyse berechnet für $C_{13}H_{19}N_5O_3\ 0{,}2\,H_2O$
Errechnet: C—52,59, H—6,59, N—23,59
Ermittelt: C—52,52, H—6,62, N—24,49

Beispiel 37
6-Benzylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Benzylaminopurin (1,0g, 4,44mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (1,0g, 4,4mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J.Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 50ml 15mM Kaliumphosphatpuffer mit einem *p*H-Wert von 7,2 zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte Purinnukleosidphosphorylase (2000 IU) und Thymidinphosphorylase (7900 IU) (Krenitsky, T.A., u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 25°C gerührt. Nach einer Stunde wurden 6ml Diglym zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 37°C 6 Tage lang gerührt. Das Reaktionsfiltrat wurde mit Ammoniumhydroxid auf einen *p*H-Wert von 10,5 abgestimmt, einer Kolonne von AG 1-X2 (Format-Form), 2 × 6cm, zugesetzt und das Produkt mit 30% wäßrigem Propanol eluiert. Anschließend wurde das Produkt auf einer P-2-Kolonne, 2,5 × 90cm, chromatografiert, mit 30% wäßrigem Propanol eluiert, und das Lyophilieren ergab 0,063g 6-Benzylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,5-Hydrat analysiert wurde (Schmelzpunkt 65°C).
Analyse berechnet für $C_{17}H_{19}N_5O_2\ 0{,}5\,H_2O$
Errechnet: C—61,06, H—6,03, N—20,94
Ermittelt: C—61,29, H—6,21, N—20,69

Beispiel 38
6-Isopropoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Isopropoxypurin (0,5g, 2,8mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,95g, 4,2mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J.Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und auf AG 1-X2 (OH-Form) und XAD-2 chromatografiert, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus den Produktfraktionen entfernt, und der Rückstand wurde in 30% wäßrigem Propanol aufgelöst. Die Chromatografie auf einer G-10-Kolonne, 5 × 90cm, entwickelt mit 30% wäßrigem Propanol, ergab einen Gummi, der in Azeton in einen Lyophilisationskolben übertragen wurde. Das Lyophilieren ergab 0,313g 6-Isopropoxypurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das auf 0,2 Wasser und 0,2 Azeton analysiert wurde (Schmelzpunkt 75°C).
Analyse berechnet für $C_{13}H_{18}N_4O_3\ 0{,}2\,C_3H_6O\ 0{,}2\,H_2O$
Errechnet: C—55,65, H—6,73, N—19,09
Ermittelt: C—55,65, H—6,59, N—19,12.

Beispiel 39
6-n-Propylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-n-Propylaminopurin (0,500g, 2,81mMol, Sigma Chemicals, St. Louis, MO) und 3'-Deoxythymidin (0,957g, 4,26mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J.Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden reagiert und chromatografiert auf AG 1-X2 (OH-Form) und XAD-2, wie das im Beispiel 18 beschrieben wurde, allerdings wurden die 5ml Dimethylsulfoxid durch zusätzliche 5ml N,N-Dimethylformamid ersetzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum aus den produkthaltigen Fraktionen entfernt, und der Rückstand wurde einer Entspannungschromatografie auf einer Kieselsäuregelkolonne, 3 × 50cm, mit Chloroform:Ethanol (9:1, Vol./Vol.) unterzogen. Das Lyophilieren ergab 0,499g 6-n-Propylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,7-Hydrat analysiert wurde.
Analyse berechnet für $C_{13}H_{19}N_5O_2\ 0{,}7\,H_2O$
Errechnet: C—53,85, H—7,09, N—24,15
Ermittelt: C—53,93, H—7,08, N—24,18

Beispiel 40
6-Zyklohexylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid
6-Zyklohexylaminopurin wurde durch nukleophile Verschiebung der Chlorgruppe von 6-Chloropurin durch Zyklohexylamin hergestellt.
6-Zyklohexylaminopurin (1,0g, 5mMol) und 3'-Deoxythymidin (2,07g, 9,1mMol) (Horwitz, J.P., u.a., J.Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 25ml 2-Methoxyethylether und 500ml 10mM-Kaliumphosphatpuffer, *p*H-Wert 7,2, aufgelöst.
Es wurden gereinigte Purinnukleosidphosphorylase (5000 IU) und Thymidinphosphorylase (3850 IU) (Krenitsky, T.A., u.a., **Biochemistry, 20,** 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugesetzt, und die Reaktion wurde bei 37°C 7 Tage lang gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde einer Kolonne von XAD-2 zugeführt und ausgedehnt mit Wasser gewaschen. Das Produkt wurde mit 90% wäßrigem Methanol eluiert. Die UV-absorbierenden Fraktionen wurden zusammengefaßt und einer Kolonne von AG 1-X2 (OH-Form, 2 × 12cm) zugeführt, und das Produkt wurde mit 30% wäßrigem Methanol eluiert. Das Produkt wurde weiter auf einer P-2-Kolonne, 2,5 × 90cm, und einer G-10-Kolonne, 2,5 × 90cm, chromatografiert, und jede Kolonne wurde mit 30% wäßrigem Propanol eluiert. Das Lyophilieren ergab 0,093g 6-Zyklohexylaminopurin-9-β-D-2',3'-dideoxyribofuranosid (Schmelzpunkt 70°C–72°C).
Analyse berechnet für $C_{16}H_{23}N_5O_2$
Errechnet: C—60,55, H—7,30, N—22,07
Ermittelt: C—60,37, H—7,39, N—21,94

Beispiel 41

6-Methylaminopurin-9-ß-D-2',3'-dideoxyribofuranosid

6-Methylaminopurin (4,31 mMol, 1 g), die von der Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, erworben wurden, und 3'-Deoxythymidin (4,40 mMol, 1 g) (Horwitz, J.P., u.a., j. Org. Chem., 31, 205 [1966]) wurden in 50 ml 10 mM-Kaliumphosphatpuffer, pH-Wert 7,0, Kaliumazidgehalt 0,04%, zur Suspension gebracht. Es wurden gereinigte Thymidinphosphorylase (2000 IU) und Purinnukleosidphosphorylase (2400 IU) (Krenitsky, T.A., u.a., **Biochemistry, 20**, 3615, 1981, und US-PS 4381444) zugesetzt, und die Suspension wurde bei 35°C gerührt. Nach drei Tagen wurde die Reaktion bei −20°C gelagert. Nach dem Auftauen wurde die Reaktion gefiltert, und das Filtrat wurde einer 2,5 mal 10 cm-Kolonne zugeführt, die Dowex-1-Hydroxid enthielt. Das Produkt wurde mit 90% Methanol/Wasser (Vol./Vol.) eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen wurden kombiniert, und das Lösungsmittel wurde unter Vakuum entfernt. Dieses Material wurde zweimal auf einer 5 mal 90 cm-Kolonne chromatografiert, die BioRad-P-2-Harz enthielt, dazu wurden 30% n-Propanol/Wasser (Vol./Vol.) verwendet. Die produkthaltigen Fraktionen wurden zusammengefaßt und ergaben nach dem Lyophilieren 0,391 g 6-Methylaminopurin-9-ß-D-2',3'-dideoxyribofuranosid, das als 0,1-Hydrat analysiert wurde.

Analyse berechnet für $C_{11}H_{15}N_5O_2$ 0,1 H_2O

Errechnet: C—52,62, H—6,10, N—27,89

Ermittelt: C—52,75, H—6,16, N—28,01

MKR-Daten: δ 8,34 (s, 1H), 8,12 (s, 1H, H_2), 7,72 (b, 1H, NH), 6,23 (dd, 1H, H_1'), 5,06 (t, 1H, 5'OH), 4,10 (m, 1H, H_4') 3,58–3,69 (m, 1H, 5'CH_2), 3,45–3,55 (m, 1H, 5'CH_2) 2,95 (b, 3H, CH_3), 2,40 (m, 2H, 2'CH_2) und 2,07 (m, 2H, 3'CH_2).

Beispiel 42

Tablettenrezepturen

Die folgenden Präparate A, B und C werden durch Naßgranulation der Bestandteile mit einer Povidonlösung, gefolgt vom Zusatz von Magnesiumstearat und dem Pressen, hergestellt.

Präparat A		**mg/Tablette**	**mg/Tablette**
(a)	Aktiver Bestandteil	250	250
(b)	Laktose B.P.	210	26
(c)	Povidon B.P.	15	9
(d)	Natriumstärkeglykollat	20	12
(e)	Magnesiumstearat	5	3
		500	500

Präparat B		**mg/Tablette**	**mg/Tablette**
(a)	Aktiver Bestandteil	250	250
(b)	Laktose	150	—
(c)	Avicel PH 101	60	26
(d)	Povidon B.P.	15	9
(e)	Natriumstärkeglykollat	20	12
(f)	Magnesiumstearat	5	3
		500	500

Präparat C	**mg/Tablette**
Aktiver Bestandteil	100
Laktose	200
Stärke	50
Povidon	5
Magnesiumstearat	4
	359

Die folgenden Präparate, D und E, wurden durch direktes Pressen der vermengten Bestandteile hergestellt. Bei der Laktose im Präparat E handelt es sich um den Direktpreßtyp (Dairy Crest — „Zeparox").

Präparat D	**mg/Tablette**
Aktiver Bestandteil	250
Vorgelatinierte Stärke NF 15	150
	400

Präparat E	**mg/Tablette**
Aktiver Bestandteil	250
Laktose	150
Avicel	100
	500

Präparat F (Präparat mit kontrollierter Freisetzung)

Das Präparat wird hergestellt durch Naßgranulation der Bestandteile (unten) mit einer Povidonlösung, gefolgt vom Zusatz von Magnesiumstearat und dem Pressen.

		mg/Tablette
(a)	Aktiver Bestandteil	500
(b)	Hydroxypropylmethylzellulose (Methocel K4M Premium)	112
(c)	Laktose. B.P.	53
(d)	Povidon B.P.	28
(e)	Magnesiumstearat	7
		700

Beispiel 43
Kapselrezepturen
Kapselpräparat A wird durch Vermengen der Bestandteile des Präparats D in Beispiel 19 oben und entsprechendes Einfüllen in eine aus zwei Teilen bestehende Hartgelatinekapsel hergestellt. Präparat B (unten) wird auf gleiche Weise hergestellt.

Präparat B		mg/Kapsel
(a)	Aktiver Bestandteil	250
(b)	Laktose B.P.	143
(c)	Natriumstärkeglykollat	25
(d)	Magnesiumstearat	2
		420

Präparat C		mg/Kapsel
(a)	Aktiver Bestandteil	250
(b)	Macrogol 4000 B.P.	350
		600

Kapseln mit der Rezeptur C werden durch Schmelzen von Macrogol 4000 BP, Dispergieren des aktiven Bestandteils in der Schmelze und Einfüllen der Schmelze in eine zweiteilige Hartgelatinekapsel hergestellt.

Präparat D	mg/Kapsel
Aktiver Bestandteil	250
Lezithin	100
Arachis-Öl	100
	450

Kapseln mit der Rezeptur D werden durch Dispergieren des aktiven Bestandteils im Lezithin und Arachis-Öl und anschließendes Einfüllen der Dispersion in weiche, elastische Gelatinekapseln hergestellt.

Präparat E (Kapsel mit kontrollierter Freisetzung)
Die folgende Kapsel mit kontrollierter Freisetzung wird durch Extrusion der Bestandteile a, b und c unter Verwendung eines Extruders, gefolgt von der Spheronisierung des Extrudats und dem Trocknen, hergestellt; die getrockneten Pellets werden dann mit einer die Freisetzung kontrollierenden Membran (d) überzogen und in eine zweiteilige Hartgelatinekapsel gefüllt.

		mg/Kapsel
(a)	Aktiver Bestandteil	250
(b)	Mikrokristalline Zellulose	125
(c)	Laktose B.P.	125
(d)	Ethylzellulose	13
		513

Beispiel 44
Injizierbare Präparate

Präparat A	
Aktiver Bestandteil	0,200 g
Chlorwasserstoffsäurelösung, 0,1 M oder Natriumhydroxidlösung, 0,1 M q.s. bis *p*H-Wert	4,0 bis 7,0
Steriles Wasser, q.s. bis	10 ml

Der aktive Bestandteil wird im größten Teil des Wassers (35°C–40°C) aufgelöst, und der *p*H-Wert wird mit Chlorwasserstoffsäure oder Natriumhydroxid, was von beiden geeignet ist, auf einen Wert zwischen 4,0 und 7,0 abgestimmt. Der Posten wird dann mit Wasser zum Volumen aufgefüllt und durch einen sterilen Mikroporenfilter in eine sterile 10 ml Braunglasampulle (Typ 1) gefüllt und mit sterilem Verschluß und Überkappe versehen.

Präparat B	
Aktiver Bestandteil	0,125 g
Steriler, pyrogenfreier Phosphatpuffer, *p*H-Wert 7, q.s. bis	25 ml

Beispiel 45
Intramuskuläre Injektion

Aktiver Bestandteil	0,20g
Benzylalkohol	0,10g
Glykofurol 75	1,45g

Wasser zur Injektion q.s. bis 3,00ml
Der aktive Bestandteil wird in Glykofurol aufgelöst. Der Benzylalkohol wird dann zugesetzt und ebenfalls aufgelöst, und es wird Wasser bis zu 3ml zugesetzt. Dann wird das Gemisch durch einen sterilen Mikroporenfilter gefiltert und in sterilen 3-ml-Braunglasampullen (Typ 1) verschlossen.

Beispiel 46
Sirup

Aktiver Bestandteil	0,25g
Sorbitollösung	1,50g
Glyzerol	2,00g
Natriumbenzoat	0,005g

Geschmack, Pfirsich 17,42,3169 0,0125ml
Gereinigtes Wasser q.s. bis 5,00ml
Der aktive Bestandteil wird in einer Mischung von Glyzerol und dem größten Teil des gereinigten Wassers aufgelöst. Der Lösung wird dann eine wäßrige Lösung von Natriumbenzoat zugesetzt, gefolgt vom Zusatz der Sorbitollösung und schließlich dem Geschmacksstoff. Das Volumen wird mit gereinigtem Wasser aufgefüllt und gut gemischt.

Beispiel 47
Suppositorium

	mg/Suppositorium
Aktiver Bestandteil (63µm)*	250
Hartfett, BP (Witepsol H15 — Dynamit NoBel)	1770
	2020

* Der aktive Bestandteil wird als ein Pulver verwendet, in welchem wenigstens 90% der Teilchen einen Durchmesser von 63µm oder weniger haben.

Ein Fünftel des Witespol H15 wird in einem Dampfmantelgefäß bei 45°C maximal geschmolzen. Der aktive Bestandteil wird durch ein 200µm-Sieb gesiebt und der flüssigen Basis unter Mischen zugesetzt, wobei ein Silverson mit einem Schneidkopf verwendet wird, bis eine glatte Dispersion erreicht ist. Das Gemisch wird bei 45°C gehalten, während das restliche Witepsol H15 der Suspension zugesetzt und diese gerührt wird, um ein homogenes Gemisch zu gewährleisten. Die gesamte Suspension wird durch ein 250µm-Sieb aus rostfreiem Stahl passiert und unter ständigem Rühren auf 40°C abkühlen lassen. Bei einer Temperatur von 38°C bis 40°C werden 2,02g des Gemischs in geeignete 2-ml-Plasteformen gefüllt. Man läßt die Suppositorien auf Zimmertemperatur abkühlen.

Beispiel 48
Pessare

	mg/Pessar
Aktiver Bestandteil (63µm)	250
Anhydratdextrose	380
Kartoffelstärke	363
Magnesiumstearat	7
	1000

Die oben genannten Bestandteile werden direkt gemischt und Pessare durch direktes Pressen des resultierenden Gemischs hergestellt.

Antivirelle Aktivität
6-Zyklopropylaminopurin-9-ß-D-2',3'-dideoxyribofuranosid und 6-Methylaminopurin-9-ß-D-2',3'-dideoxyribofuranosid wurden auf ihre Aktivität gegenüber HIV generell entsprechend der Methode getestet, die von Mitsuya u.a., Proc. Nat. Acad. Sci, USA, Bd. 82, S. 7096–7100, Okt. 1985, beschrieben wurde, und es wurde festgestellt, daß sie bei Konzentrationen von 1µM aktiv gegen HIV sind.