(12) **Ausschließungspatent**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) **DD** (11) **282 229 A5**5(51) **C 07 H 19/00**
A 61 K 31/495**PATENTAMT der DDR**

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

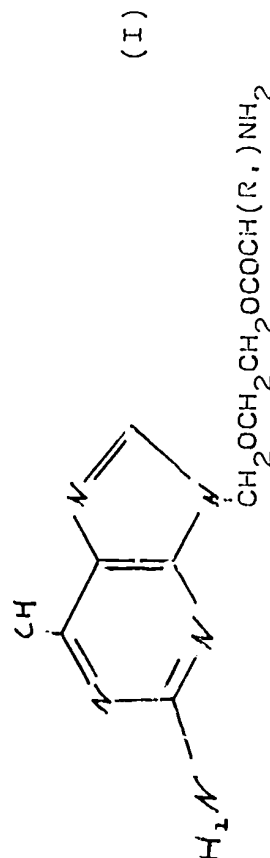
(21)	AP C 07 H / 318 867 0	(22)	12.08.88	(44)	05.09.90
(31)	8719367	(32)	15.08.87	(33)	GB
	8725939		05.11.87		

- (71) siehe (73)
 (72) Krenitzsky, Thomas A.; Beauchamp, Lilia M., 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 therapeutischen acyclischen Nucleosiden

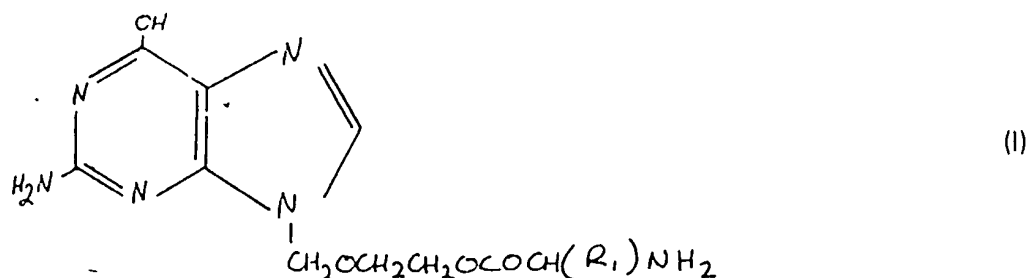
(55) acyclische Nucleoside; Aminosäureester
 Purinnucleosid Acyclovir; Behandlung; Prophylaxe;
 Herpes-Virus-Infektionen

(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von therapeutischen acyclischen Nucleosiden der allgemeinen Formel (I), worin R_1 eine Gruppe der Formel $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ oder $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ darstellt sowie von pharmazeutisch annehmbaren Salzen davon. Die Verbindungen eignen sich zur Verwendung in der Behandlung und Prophylaxe von Herpes-Virus-Infektionen. Formel (I)



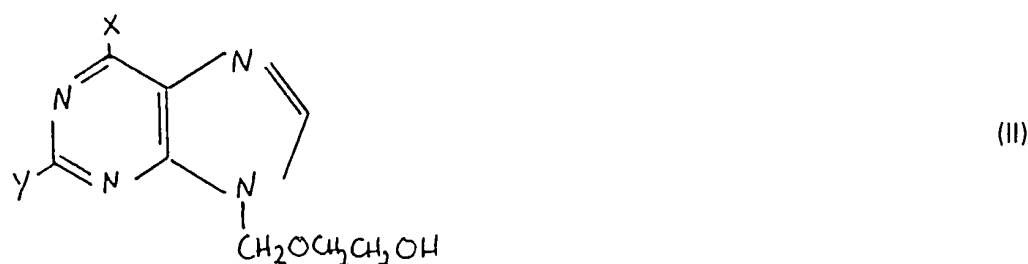
Schutzansprüche

1. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung der Formel (I)



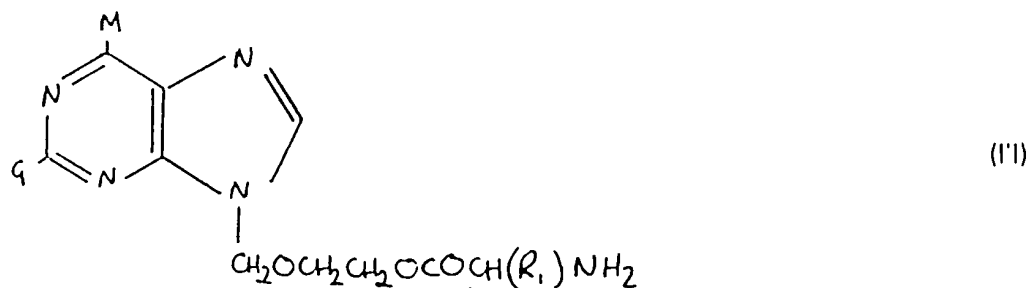
worin R_1 eine Gruppe der Formel $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ oder $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ bedeutet, oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon, **dadurch gekennzeichnet**, daß man

(a) eine Verbindung der Formel (II)



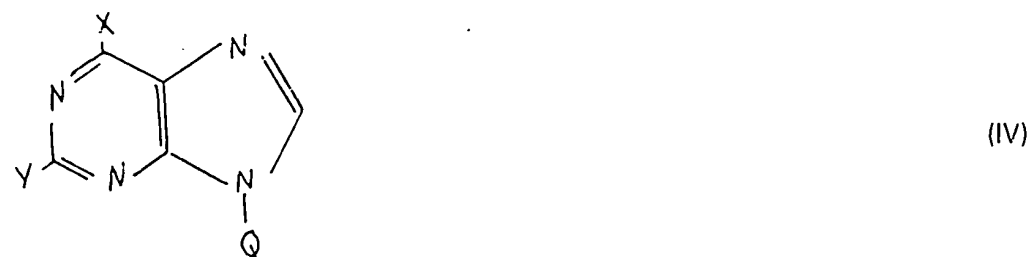
worin X eine gegebenenfalls geschützte Hydroxygruppe ist, und Y eine gegebenenfalls geschützte Aminogruppe ist, mit einem gegebenenfalls geschützten Valin oder Isoleucin oder einem funktionellen Äquivalent davon umsetzt; oder

(b) eine Verbindung der Formel (III)



(worin R_1 die oben definierte Bedeutung besitzt; und M eine Hydroxylgruppe bedeutet und G ein Atom oder eine Gruppe, die ersetzt werden kann durch oder überführt werden kann in eine Aminogruppe; oder G eine Aminogruppe bedeutet und M ein Atom oder eine Gruppe bedeutet, die ersetzt werden kann durch oder überführt werden kann in eine Hydroxygruppe) in eine Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon überführt; oder

(c) eine Verbindung der Formel (IV)



(worin X und Y die oben angegebene Bedeutung besitzen und Q ein austretendes Atom oder Gruppe bedeutet) mit einer Verbindung der Formel (V)



(worin R_1 die oben angegebene Bedeutung besitzt, A eine austretende Gruppe oder Atom bedeutet und R^2 eine gegebenenfalls geschützte Aminogruppe ist) umgesetzt; und gegebenenfalls eine oder mehrere der folgenden Umwandlungen, in irgendeiner gewünschten Reihenfolge, durchführt:

- i) Entfernung von irgendwelchen Schutzgruppen;
 - ii) wenn das erhaltene Produkt eine Verbindung der Formel (I) ist, Überführen dieser Verbindung in ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon; und
 - iii) wenn das erhaltene Produkt ein pharmazeutisch annehmbares Salz einer Verbindung der Formel (I) ist, Überführen dieses Salzes in die Stammverbindung.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man 2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H(purin-9-yl)-methoxy)-ethyl-L-valinat herstellt.
 3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man 2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H(purin-9-yl)-methoxy)-ethyl-L-isoleucinat herstellt.
 4. Verfahren nach Anspruch 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß man zur Herstellung eines Salzes einer Verbindung der Formel (I) eine Verbindung der Formel (I) mit einer Säure unter Bildung eines Salzes mischt.
 5. Verfahren nach Anspruch 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Säure Chlorwasserstoffsäure ist.

Anwendungsbereich der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von therapeutischen acyclischen Nucleosiden mit wertvollen antiviralen (Anti-virus-) Eigenschaften.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

9-(2-Hydroxyethoxymethyl)-guanin, auch als Acyclovir bekannt, besitzt eine starke antivirale Wirkung, insbesondere gegen Herpesviren (H. J. Schaeffer et al., „Nature“, 272, 583-585 [1978], GB-Patentschrift 1523865 und US-Patentschrift 4199574). Acyclovir ist jedoch nur wenig in Wasser löslich, was die Formulierung des Arzneimittels in wäßrigen pharmazeutischen Zusammensetzungen, in denen eine Löslichkeit erforderlich ist, beschränkt.

Nach oraler Verabreichung wird Acyclovir auch nur schlecht vom Gastrointestinaltrakt absorbiert (15%ige Wiedergewinnung im Urin, gemessen bei Ratten, und 20% beim Menschen). Eine solche niedrige Bioverfügbarkeit erfordert die Verabreichung hoher Dosen des Arzneimittels, um im Plasma wirksame antivirale Gehalte zu erzielen und aufrecht zu erhalten.

Die europäische Patentschrift 0099493 beschreibt Aminosäureester von Acyclovir, wie die Glycin- und Alaninester, die im Vergleich zum Acyclovir eine verbesserte Wasserlöslichkeit zeigen.

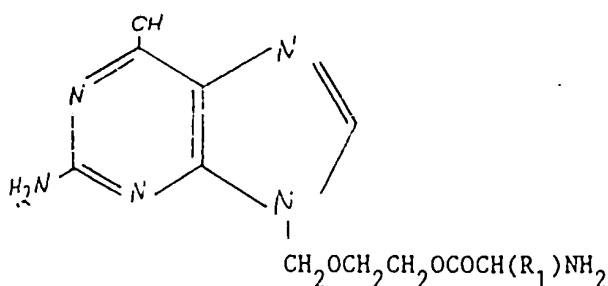
Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen mit verbesserten antiviralen Eigenschaften bereitzustellen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Es wurde nun festgestellt, daß die Valin- und Isoleucinester von Acyclovir, die durch eine Seitenkettenverzweigung in Nachbarschaft zum α -Kohlenstoffatom gekennzeichnet sind und die in der europäischen Patentschrift 0099493 nicht beschrieben wurden, im Vergleich zu den darin erwähnten Alanin- und Glycinestern nach oraler Verabreichung überraschenderweise eine verbesserte Bioverfügbarkeit zeigen.

Gemäß einem Gegenstand der vorliegenden Erfindung werden die Verbindungen der Formel (I)



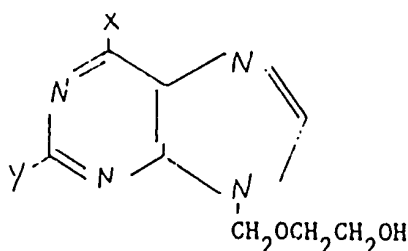
worin R_1 eine Gruppe der Formel $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ oder $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ darstellt, bereitgestellt, und pharmazeutisch annehmbare Salze davon. Die Verbindungen der Formel (I) können auch als 2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy-ethyl-L-valinat und 2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy-ethyl-L-isoleucinat bezeichnet werden. Die Valin- und Isoleucineinheiten können in der D-, L- oder racemischen DL-Konfiguration vorliegen, sind aber vorzugsweise in der L-Form. In Tests bei Ratten, bei denen die Wiedergewinnung als Acyclovir (in % der verabreichten Dosis) im Urin nach oraler Verabreichung gemessen wird, zeigen die erfindungsgemäßen Verbindungen einen hohen Anstieg der Absorption durch den Darm, verglichen mit den anderen Estern, und verglichen mit Acyclovir. Dies ermöglicht die Verabreichung von weniger Arzneimittel, wobei dennoch äquivalente Arzneimittelgehalte im Plasma nach oraler Absorption bereitgestellt werden. Aufgrund ihrer insbesondere guten Absorption durch den Darm ist die Valinatverbindung besonders bevorzugt. Zusätzlich zu der relativ hohen Bioverfügbarkeit besitzen die erfindungsgemäßen Verbindungen in vitro im wesentlichen die gleiche antivirale Wirkung wie Acyclovir. Der vorteilhafte Anstieg in der Bioverfügbarkeit der Verbindung wird deshalb nicht auf Kosten von antiviraler Wirksamkeit erzielt. Es wurde tatsächlich gefunden, daß bei bestimmten klinischen Anwendungen, zum Beispiel der Behandlung von stromaler Keratitis, bestimmte Aminosäureester eine gegenüber Acyclovir höhere therapeutische Wirkung zeigen (EP 99493).

Die pharmazeutisch annehmbaren Salze der Verbindungen der Formel (I) sind vorzugsweise Säureadditionssalze, die von einer geeigneten Säure abgeleitet sind, z.B. Chlorwasser-, Schwefel-, Phosphor-, Malein-, Fumar-, Zitronen-, Wein-, Milch-, Essig- oder p-Toluolsulfonsäure. Insbesondere bevorzugte Salze sind die Chlorwasserstoffsäuresalze der Verbindungen der Formel (I). In Tierexperimenten wurde festgestellt, daß die orale Verabreichung von Verbindungen der obigen Formel (I) meßbare Gehalte von Acyclovir im Plasma hervorrufen. Gemäß einem weiteren erfindungsgemäßen Aspekt wird deshalb ein Mittel bereitgestellt, um Acyclovir in vivo zu bilden, indem man einem Säugetier eine Verbindung der obigen Formel (I) oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon verabreicht.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in üblicher Weise hergestellt werden, zum Beispiel durch ein nachstehend beschriebenes Verfahren.

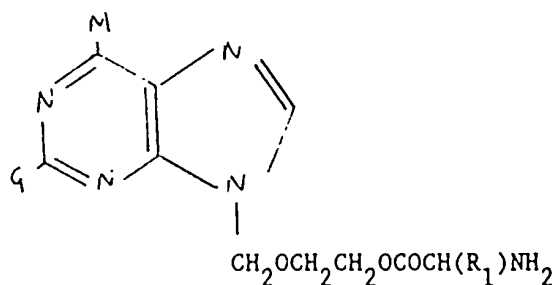
Weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist deshalb ein Verfahren zur Herstellung der Verbindungen der obigen Formel (I), und deren pharmazeutisch annehmbaren Salzen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man

(a) eine Verbindung der Formel (II)



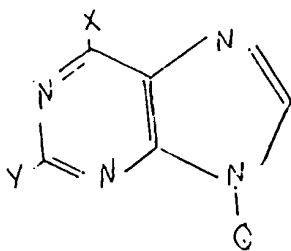
worin X eine gegebenenfalls geschützte Hydroxygruppe ist, und Y eine gegebenenfalls geschützte Aminogruppe ist, mit einem gegebenenfalls geschützten Valin oder Isoleucin oder einem funktionellen Äquivalent davon umgesetzt; oder

(b) eine Verbindung der Formel (III)

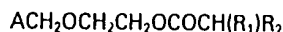


(worin R_1 die oben definierte Bedeutung besitzt; und M eine Hydroxylgruppe bedeutet und G ein Atom oder eine Gruppe, die ersetzt werden kann durch oder überführt werden kann in eine Aminogruppe; oder G eine Aminogruppe bedeutet und M ein Atom oder eine Gruppe bedeutet, die ersetzt werden kann durch oder überführt werden kann in eine Hydroxygruppe) in eine Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon überführt; oder

(c) eine Verbindung der Formel (IV)



(worin X und Y die oben angegebene Bedeutung besitzen und Q ein austretendes Atom oder Gruppe bedeutet) mit einer Verbindung der Formel (V)



(V)

(worin R₁ die oben angegebene Bedeutung besitzt, A eine austretende Gruppe oder Atom bedeutet und R² eine gegebenenfalls geschützte Aminogruppe ist) umgesetzt; und gegebenenfalls eine oder mehrere der folgenden Umwandlungen, in irgendeiner gewünschten Reihenfolge, durchführt:

- i) Entfernung von irgendwelchen Schutzgruppen;
- ii) wenn das erhaltene Produkt eine Verbindung der Formel (I) ist, Überführen dieser Verbindung in ein pharmazeutisch annehmbares Salz davon; und
- iii) wenn das erhaltene Produkt ein pharmazeutisch annehmbares Salz einer Verbindung der Formel (I) ist, Überführen dieses Salzes in die Stammverbindung.

Im Verfahren a) kann die Veresterungsreaktion in üblicher Weise durchgeführt werden, z. B. in einem Lösungsmittel, wie z. B. Pyridin oder Dimethylformamid, in Anwesenheit eines Kupplers, wie z. B. N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, gegebenenfalls in Gegenwart einer katalytischen Base, wie z. B. 4-Dimethylaminopyridin. Das während der Umsetzung gebildete Wasser kann, wenn gewünscht, in üblicher Weise entfernt werden, z. B. durch Destillation oder durch Zugabe einer wasserbindenden Substanz. Der als Reaktionsprodukt erhaltene Ester kann nachfolgend in üblicher Weise isoliert werden.

Als Alternative zur Verwendung von Valin oder Isoleucin per se kann ein funktionelles Äquivalent der Säure verwendet werden, z. B. ein Säurehalogenid, wie zum Beispiel das Säurechlorid, oder ein Säureanhydrid. In einem solchen Fall ist es zur Vermeidung unerwünschter Seitenreaktionen vorteilhaft, ein aminogeschütztes Derivat zu verwenden. Beispiele für bevorzugte Aminoschutzgruppen umfassen Acyl, z. B. C₁₋₄-Alkanoyl, wie z. B. Acetyl, und Aryloxycarbonyl, z. B. Benzyloxycarbonyl. Ein geeignetes aminogeschütztes Derivat ist z. B. ein solches, in dem die Aminogruppe der Aminosäure durch eine Azidogruppe ersetzt ist.

Die Überführung einer Verbindung der Formel (III) in eine Verbindung der Formel (I) nach Methode b) kann auf verschiedene Weise erreicht werden. G kann z. B. eine Azidgruppe darstellen, die durch katalytische Hydrierung zu einer Aminogruppe reduziert werden kann, unter Verwendung eines geeigneten Katalysators, wie z. B. Palladium-an-Kohle. Alternativ kann G ein Halogenatom oder eine Alkylthio- oder Alkylsulfonylgruppe darstellen, die in eine Azidgruppe überführt werden kann, die ihrerseits durch katalytische Hydrierung unter Verwendung von z. B. Wasserstoff in Gegenwart von Palladium-an-Kohle in eine Aminogruppe überführt werden kann. Zur Herstellung der Verbindung der Formel (I) kann in einer Verbindung der Formel (III), worin M eine Aminogruppe ist, diese in eine Hydroxygruppe überführt werden, z. B. durch Behandeln mit einem deaminierenden Enzym, wie z. B. Adenosindeaminase.

Diese Verfahren werden zusammen mit anderen üblichen Verfahren beschrieben in Fused Pyrimidines, Teil II, Purine, herausgegeben von D. J. Brown (1971), Wiley-Interscience.

Im Verfahren (c) kann die Gruppe Q in Formel (IV) z. B. darstellen ein Wasserstoffatom; eine Acylgruppe, z. B. eine C₁₋₄-Alkanoylgruppe, wie z. B. eine Acetylgruppe, oder eine Aroylgruppe wie z. B. eine Benzoylgruppe; oder eine Tri-C₁₋₄-alkylsilylgruppe wie z. B. eine Trimethylsilylgruppe. Die Gruppe A in Formel (V) kann z. B. ein Halogenatom darstellen (z. B. Chlor) oder eine Acyloxygruppe, worin die Acyleinheit z. B. eine C₁₋₄-Alkanoylgruppe wie z. B. Acetyl, oder eine Aroylgruppe wie z. B. Benzoyl, sein kann. Die Gruppe R² kann eine aminoschützende Gruppe darstellen, z. B. C₁₋₄-Alkanoyl (z. B. Acetyl) oder Aryloxycarbonyl (z. B. Benzyloxycarbonyl), und kann auch eine Azidogruppe sein. Die Umsetzung kann zweckmäßigerweise in einem stark polaren Lösungsmittel, wie z. B. Dimethylformamid oder Hexamethylphosphoramid, durchgeführt werden, vorteilhafterweise in Gegenwart einer Base wie Triethylamin oder Kaliumcarbonat. Alternativ kann eine thermische Kondensation durch Erhitzen der Verbindungen der Formeln (IV) und (V) in Gegenwart einer katalytischen Menge einer starken Säure, z. B. Schwefelsäure, bewirkt werden.

Die als Zwischenprodukte in der Synthese der Verbindungen der Formel (I) verwendeten Verbindungen der Formeln (II) bis (V) können in üblicher Weise hergestellt werden, z. B. durch Verfahren, wie sie in der GB-Patentschrift 1 523 865 beschrieben werden. Diese Verfahren beziehen sich auf Zwischenprodukte, die aus einfach substituierten Purinen hergestellt werden, die handelsüblich erhältlich sind, oder gemäß den Verfahrensweisen hergestellt werden, die als solche gut bekannt sind, und die in der Literatur, wie z. B. in dem vorgenannten Lehrbuch, beschrieben werden. Die Verbindungen der Formel (III) können z. B. allgemein hergestellt werden unter Verwendung eines zum Verfahren (c) analogen Verfahrens, d. h. durch Umsetzung eines geeigneten Purins mit einer Verbindung der Formel (V).

Die gegebenenfalls durchzuführenden Umwandlungen i), ii) und iii) können in üblicher Weise durchgeführt werden. Die Entfernung von schützenden Gruppen in der Umwandlung i) kann z. B. durch Hydrolyse, Solvolyse oder Hydrogenolyse, wie dies am geeignetsten ist, durchgeführt werden. Im Hinblick auf die Entfernung von Schutzgruppen an den Aminosäureacylresten sind Hydrogenolyse, z. B. von Aryloxycarbonyl-Schutzgruppen, und Umwandlung von Azidogruppen, z. B. durch katalytische Hydrierung, z. B. unter Verwendung eines Palladiumkatalysators, bevorzugt. Im Hinblick auf den Schutz der Gruppen in den 2- und/oder 6-Stellungen des Purinkerns können diese ausgewählt sein z. B. aus Arylmethylgruppen, z. B. Benzyl; oder Tri-C₁₋₄-alkylsilyl, z. B. Trimethylsilyl. Arylmethylblockierungsgruppen können z. B. durch Hydrogenolyse entfernt werden, z. B. durch Hydrierung in Gegenwart von Raney-Nickel oder einem Palladiumkatalysator. Trialkylsilylblockierungsgruppen können z. B. durch Solvolyse entfernt werden, z. B. durch Alkoholyse.

Die Umwandlung einer Verbindung der Formel (I) in ein pharmazeutisch annehmbares Salz kann auf übliche Weise durchgeführt werden, z. B. durch Behandlung der Verbindung mit einer geeigneten Säure unter Bildung eines Säureadditionssalzes, z. B. durch Lyophilisierung einer methanolischen Lösung des Stammesters mit einer Säurelösung.

Ähnlich kann die Überführung eines Salzes in die Stammverbindung der Formel (I) auf übliche Weise durchgeführt werden.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch die Verwendung der Verbindungen der Formel (I) und der pharmazeutisch annehmbaren Salze davon (nachfolgend als „die aktiven Verbindungen“ bezeichnet) in der medizinischen Therapie, z. B. in der Behandlung oder Prophylaxe einer viralen Erkrankung (Viruserkrankung) in einem Tier, z. B. einem Säugetier, wie z. B. beim Menschen. Die Verbindungen sind insbesondere geeignet zur Behandlung oder Prophylaxe von Erkrankungen, die durch verschiedene DNA-Viren verursacht werden, wie z. B. Herpes-Infektionen, z. B. Herpes simplex, Varicella oder Zoster, durch Cytomegalovirus sowie von Erkrankungen, die durch Hepatitis-B oder Epstein-Barr-Viren oder menschlichem Herpesvirus-6 (HHV-6) hervorgerufen werden. Die aktiven Verbindungen können auch verwendet werden zur Behandlung oder Prophylaxe von Retrovirus-Infektionen, wie z. B. HIV-Infektionen und Papilloma- oder Warzenvirusinfektionen. Zusätzlich zu ihrer Verwendung in der humanmedizinischen Therapie können die Verbindungen der Formel (I) anderen Tieren verabreicht werden zur Behandlung oder Prophylaxe von viralen Erkrankungen, z. B. in anderen Säugern. Zum Beispiel sind die wirksamen Verbindungen insbesondere für die Behandlung von Pferdeharnpneumonitis geeignet.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch ein Verfahren zur Behandlung oder Prophylaxe einer viralen Erkrankung in Tieren, z. B. einem Säuger wie dem Menschen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man dem Tier eine wirksame antivirale Menge einer Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes davon verabreicht.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch die Verwendung einer Verbindung der Formel (I) bei der Herstellung eines Medikaments zur Behandlung oder Prophylaxe einer viralen Infektion.

Die aktiven Verbindungen können auf irgendeinem für die Behandlung geeigneten Weg verabreicht werden, wobei geeignete Wege eine orale, rektale, nasale, topische (einschließlich buccal oder sublingual), vaginale oder parenterale (einschließlich subkutaner, intramuskulärer, intravenöser, intradermaler, intrathecaler und epiduraler) Verabreichung einschließen. Es ist klar, daß der bevorzugte Weg zum Beispiel abhängig vom Zustand des Empfängers variieren kann.

Für jede der oben angegebenen Verwendungen und Indikationen wird die erforderliche Menge an aktivem Bestandteil (wie vorstehend definiert) abhängen von einer Anzahl von Faktoren einschließlich der Schwere der zu behandelnden Erkrankung und der Identität des Empfängers, und wird letztendlich vom Ermessen des behandelnden Arztes oder Veterinärmediziners abhängen. Im allgemeinen wird jedoch für jede dieser Anwendungen und Indikationen eine geeignete wirksame Dosis im Bereich von 0,1 bis 250 mg pro Kilogramm (kg) Körpergewicht des Empfängers pro Tag liegen, und vorzugsweise im Bereich von 1 bis 100 mg/kg Körpergewicht/Tag, und insbesondere im Bereich von 5 bis 20 mg/kg Körpergewicht/Tag; eine optimale Dosis liegt bei ungefähr 10 mg/kg Körpergewicht/Tag. (Wenn nicht anders angegeben, sind alle Gewichtsangaben des aktiven Bestandteils als Stammverbindung der Formel (I) berechnet: Für Salze davon würden diese Zahlen proportional ansteigen). Die gewünschte Dosis wird vorzugsweise in zwei, drei, vier oder mehr Subdosen, die in geeigneten Intervallen über den Tag verteilt verabreicht werden, angewendet. Diese Subdosen können in Dosiseinheitsformen verabreicht werden, die z. B. 10 bis 1000 mg, vorzugsweise 20 bis 500 mg, und insbesondere 100 bis 400 mg des aktiven Bestandteils pro Dosiseinheitsform enthalten. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können allein oder in Kombination mit anderen therapeutischen Wirkstoffen verabreicht werden, z. B. mit 9-(2-Hydroxyethoxymethyl)-guanin (Acyclovir), das zur Behandlung von Herpes-Virusinfektionen, insbesondere von HSV-(I), verwendet wird, und mit Zidovudin, das zur Behandlung retroviraler Infektionen, insbesondere HIV-Infektionen, verwendet wird.

Obwohl es möglich ist, die aktiven Bestandteile allein zu verabreichen, wird es bevorzugt, sie als pharmazeutische Formulierungen anzuwenden. Die erfindungsgemäßen Formulierungen für veterinär- und humanmedizinische Anwendung umfassen mindestens einen wirksamen Bestandteil, wie vorstehend definiert, zusammen mit einem oder mehreren annehmbaren Trägersubstanzen dafür, und gegebenenfalls weiteren therapeutischen Bestandteilen. Die Trägersubstanz(en) muß/müssen „annehmbar“ sein, in dem Sinn, daß sie mit den anderen Bestandteilen der Formulierung kompatibel ist und für ihren Empfänger nicht schädlich.

Die Formulierungen umfassen solche, die geeignet sind für eine orale, rektale, nasale, topische (einschließlich buccaler und sublingualer), vaginale oder parenterale (einschließlich subkutaner, intramuskulärer, intravenöser, intradermaler, intrathecaler und epiduraler) Verabreichung. Die Formulierungen können zweckmäßigerweise in Einheitsdosisform vorliegen und können auf irgend eine der in der Pharmazie üblichen Verfahren hergestellt werden. Solche Verfahren umfassen den Verfahrensschritt, bei dem man den aktiven Bestandteil mit der Trägersubstanz, die eine oder mehrere Hilfsmittel bildet, vereinigt. Im allgemeinen werden die Formulierungen hergestellt, indem man den wirksamen Bestandteil mit flüssigen Trägersubstanzen oder fein zerteilten festen Trägersubstanzen, oder beiden gleichförmig und innig vereinigt und dann, wenn erforderlich, das Produkt in eine Form bringt.

Erfindungsgemäße Formulierungen, die zur oralen Verabreichung geeignet sind, können in Form einzelner Einheiten vorliegen, wie z. B. als Kapseln, Cachets oder Tabletten, die eine vorbestimmte Menge des wirksamen Bestandteils enthalten; als Pulver oder Granulat; als Lösung oder Suspension in einer wäßrigen Flüssigkeit oder einer nicht-wäßrigen Flüssigkeit; oder als Öl-in-Wasser-Flüssigemulsion oder als Wasser-in-Öl-Flüssigemulsion. Der wirksame Bestandteil kann auch als Bolus, Electuarium oder Paste vorliegen.

Eine Tablette kann hergestellt werden durch Verdichten oder Formen, gegebenenfalls mit einem oder mehreren Hilfsbestandteilen. Gepreßte Tabletten können hergestellt werden durch Pressen des wirksamen Bestandteils in einer freifließenden Form, wie z. B. als Pulver oder Granulat, in einer geeigneten Maschine, gegebenenfalls vermisch mit einem Bindemittel, Schmiermittel, inerten Verdünnern, Konservierungsmitteln, oberflächenaktiven oder Dispersionsmitteln. Geformte Tabletten können hergestellt werden durch Formen einer Mischung der angefeuchteten gepulverten Verbindung mit einem inerten flüssigen Verdünnern in einer geeigneten Maschine. Die Tabletten können gegebenenfalls beschichtet oder eingekernt sein und können so formuliert sein, daß sie eine langsame oder kontrollierte Abgabe des darin enthaltenen wirksamen Bestandteils ermöglichen.

Für Infektionen des Auges oder anderer externer Gewebe, z. B. des Mundes und der Haut, werden die Formulierungen vorzugsweise als topische Salbe oder Creme appliziert, die den wirksamen Bestandteil in einer Menge von z. B. 0,075 bis 20% Gew./Gew., vorzugsweise von 0,2 bis 15% Gew./Gew. und insbesondere von 0,5 bis 10% Gew./Gew. enthalten. Als Salbe formuliert können die wirksamen Bestandteile mit entweder paraffinischer oder einer wassermischbaren Salbengrundlage verwendet werden. Alternativ können die wirksamen Bestandteile in einer Creme mit einer Öl-in-Wasser-Cremengrundlage formuliert sein. Zusätzlich können topische Applikationen transdermal mittels einer ionophoretischen Vorrichtung durchgeführt werden.

Wenn gewünscht, kann die wäßrige Phase einer Cremegrundlage z. B. mindestens 30 % Gew./Gew. eines mehrwertigen Alkohols enthalten, d. h. eines Alkohols, der zwei oder mehrere Hydroxylgruppen enthält, wie z. B. Propylenglykol, Butan-1,3-diol, Mannitol, Sorbit, Glycerin und Polyethylenglykol, und Mischungen davon. Die topischen Formulierungen können wünschenswerterweise eine Verbindung enthalten, die die Absorption oder Penetration des wirksamen Bestandteils durch die Haut oder andere angegriffene Flächen erhöht. Beispiele für solche dermale Penetrationsverstärker umfassen Dimethylsulfoxid und verwandte Analoga.

Formulierungen, die für eine topische Verabreichung am Auge geeignet sind, umfassen auch Augentropfen, bei denen der wirksame Bestandteil in einem geeigneten Träger, insbesondere einem wäßrigen Lösungsmittel für den wirksamen Bestandteil, gelöst oder suspendiert ist. In solchen Formulierungen ist der wirksame Bestandteil vorzugsweise in einer Konzentration von 0,5 bis 20 %, vorteilhafterweise von 0,5 bis 10 % und insbesondere von ungefähr 1,5 % Gew./Gew. vorhanden.

Für eine topische Verabreichung im Mund geeignete Formulierungen umfassen Pastillen, die den wirksamen Bestandteil in einer geschmacklichen Grundlage enthalten, gewöhnlich Sucrose und Akazie oder Traganth; Pastillen, die den wirksamen Bestandteil in einer inerten Grundlage, wie z. B. Gelatine und Glycerin, oder Sucrose und Akazie, enthalten; und Mundwässer, die den wirksamen Bestandteil in einer geeigneten flüssigen Trägersubstanz enthalten.

Formulierungen für rektale Verabreichung können als Suppositorium vorliegen, mit einer geeigneten Grundlage, die z. B. Kakaobutter oder ein Salicylat umfaßt.

Für eine nasale Administration geeignete Formulierungen, in denen die Trägersubstanz ein Feststoff ist, umfassen ein grobes Pulver mit einer Teilchengröße im Bereich von beispielsweise 20 bis 500 Mikron (μm), das in der Weise verabreicht wird, bei der es in die Nase gezogen wird, d. h. durch rasche Inhalation durch den Nasenweg aus einem Puderbehälter, der nahe an die Nase gehalten wird. Geeignete Formulierungen, bei denen der Träger eine Flüssigkeit ist, zur Verabreichung z. B. als Nasenspray oder Nasentropfen umfassen wäßrige oder ölige Lösungen des wirksamen Bestandteils.

Formulierungen, die für eine vaginale Verabreichung geeignet sind, können als Pessare, Tampons, Cremes, Gele, Pasten, Schäume oder Sprayformulierungen vorliegen, die zusätzlich zu dem wirksamen Bestandteil solche Trägersubstanzen enthalten, die als geeignet bekannt sind.

Zur parenteralen Verabreichung geeignete Formulierungen umfassen wäßrige und nichtwäßrige sterile Injektionslösungen, die Antioxidantien, Puffersubstanzen, Bakteriostatika und gelöste Stoffe enthalten können, die die Formulierung mit dem Blut des Empfängers isotonisch halten; und wäßrige und nichtwäßrige sterile Suspensionen, die Suspendiermittel und Verdickungsmittel enthalten können. Die Formulierungen können in Einheitsdosis- oder Vielfachdosisbehältern vorliegen, z. B. in versiegelten Ampullen und Violen, und können in einer gefriergetrockneten (lyophilisierten) Form gelagert werden, die unmittelbar vor der Verwendung nur den Zusatz des sterilen flüssigen Trägers erfordern, z. B. von Wasser für Injektionen. Aus dem Stegreif können Injektionslösungen und Suspensionen aus sterilen Pulvern, Granulaten und Tabletten der vorstehend beschriebenen Art hergestellt werden. Formulierungen für intramuskuläre Verabreichung sind insbesondere bevorzugt. Bevorzugte Einheitsdosis-Formulierungen sind solche, die eine tägliche Doseinheit oder tägliche Subdosiseinheit eines wirksamen Bestandteils, wie vorstehend beschrieben, oder einen geeigneten Bruchteil davon enthalten.

Zusätzlich zu den im einzelnen oben erwähnten Bestandteilen können die erfindungsgemäßen Formulierungen weitere konventionelle Agentien enthalten, die abhängig sind von dem in Frage stehenden Formulierungstypus, wobei z. B. solche für eine orale Verabreichung geeignete Agentien Geschmacksstoffe umfassen können.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind weiter veterinärmedizinische Zusammensetzungen, die mindestens einen wie oben definierten wirksamen Bestandteil zusammen mit einem veterinärmedizinischen Träger dafür enthalten.

Veterinärmedizinische Trägersubstanzen sind Materialien, die für den Zweck der Verabreichung der Zusammensetzung geeignet sind, und feste, flüssige oder gasförmige Materialien sein können, die sonst inert oder in der Veterinärmedizin annehmbar sind, und mit dem wirksamen Bestandteil kompatibel sind. Diese veterinärmedizinischen Zusammensetzungen können oral, parenteral oder auf irgendeinem anderen gewünschten Weg verabreicht werden.

Für eine orale Administration können die Zusammensetzungen in der Form einer Tablette, eines eingeweichten Granulats, einer Paste, eines Cachets, einer Kapsel oder als Nahrungszusatz vorliegen. Granulate können hergestellt werden mittels der allgemein bekannten Techniken der Naßgranulation und Vorverpressung (Slugging). Sie können den Tieren verabreicht werden in einem inerten flüssigen Träger, um einen Arzneitrank zu bilden, oder in einer Suspension mit Wasser oder Ölgrundlage. Vorzugsweise sind weitere Hilfsbestandteile, wie z. B. ein Arzneizubereitungsmittel, enthalten. Diese Formulierungen enthalten vorzugsweise 15 bis 85 % des wirksamen Bestandteils.

Ausführungsbeispiele

Die nachfolgenden Beispiele veranschaulichen die vorliegende Erfindung.

Beispiel 1A

2-(2-Amino-1,3-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy-ethyl-L-valinat

a) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-L-valinat

Eine Suspension von Acyclovir (2000 g; Burroughs Wellcome Co.) in trockenem Dimethylformamid (DMF) (150 ml) wurde auf 60°C erwärmt, und ergab eine farblose Lösung. CBZ-L-Valin (3,012 g; Sigma chemicals, St. Louis, MO, und J. Am. Chem. Soc., 79, 5697 (1957), 4-Dimethylaminopyridin (150 mg; DMAP, Chem. Ber. 89, 2921–2933 (1956) und Dicyclohexylcarbodiimid (2,998 g; DCC, US-Patent 2 656 383) wurde zu der warmen Lösung zugegeben. Die schwach gelbe Lösung wurde auf Raumtemperatur abkühlen gelassen und über Nacht gerührt. Nach 30 Minuten wurde ein weißer Niederschlag beobachtet. Die Reaktionsmischung wurde mit den obigen Mengen an CBZ-L-Valin, DMAP und DCC neu beladen und die wolkige Suspension bei Raumtemperatur 2 Tage lang gerührt. Die Suspension wurde filtriert, um 1,418 g eines weißen Feststoffs zu entfernen. Das farblose Filtrat wurde konzentriert und ergab ein leicht-gelbes Öl. Das Öl wurde durch Flash-Chromatographie an Silicagel gereinigt, wobei mit einem Methanol-in-Dichlormethan-Gradienten (0–15 %) eluiert wurde, und ergab die Titelverbindung als 3,751 g (92,1 %) eines weißen Feststoffs.

b) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-L-valinat

Eine Mischung aus 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-L-valinat (5,0 g), 5% Palladium-an-Kohle-Katalysator/50% Wasser (2 g), und Dimethylformamid (50 ml) wurde in einer Parr-Apparatur unter 40 psi H_2 ($27,56 \times 10^4$ Pa H_2) 3 Stunden geschüttelt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Bausch von Celite filtriert und im Vakuum verdampft, und ergab ein Öl. Aus Wasser/Ethanol (1:3 V/V) wurde ein Feststoff kristallisiert und umkristallisiert, und ergab 1,5 g der Titelverbindung.

Analyse berechnet	C 48,14	H 6,22	N 25,91
gefunden	C 47,84	H 6,26	N 25,75

Beispiel 1B

2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy)-ethyl-L-valinathydrochlorid-monohydrat

a) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-L-valinat

Eine Suspension von Acyclovir (2,00 g; Burroughs Wellcome Co.) in trockenem Dimethylformamid (DMF) (150 ml) wurde auf 60°C erwärmt und ergab eine farblose Lösung. CBZ-L-Valin (3,012 g; Sigma Chemicals, St. Louis MO, und J. Am. Chem. Soc. 79, 5697 [1957]), 4-Dimethylaminopyridin (154 mg; DMAP, Chem. Ber. 89, 2921–2933 [1956]) und Dicyclohexylcarbodiimid (2,998 g, DCC, US-Patent 2656383) wurden zu der warmen Lösung zugefügt. Die schwach gelbe Lösung wurde auf Raumtemperatur abkühlen gelassen und über Nacht gerührt. Nach 30 Minuten wurde ein weißer Niederschlag beobachtet. Die Reaktionsmischung wurde mit den obigen Mengen an CBZ-L-Valin, DMAP und DCC wieder beladen und die wolkige Suspension bei Raumtemperatur 2 Tage lang gerührt. Die Suspension wurde zur Entfernung von 1,418 g eines weißen Feststoffes filtriert. Das farblose Filtrat wurde konzentriert und ergab ein leicht gelbes Öl. Das Öl wurde durch Flash-Chromatographie an Silicagel gereinigt, wobei mit einem Methanol-in-Dichlormethan-Gradienten (0–15%) eluiert wurde, und ergab die Titelverbindung als 3,751 g (92,1%) eines weißen Feststoffes.

b) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-L-valinat-hydrochloridmonohydrat

Eine Mischung aus 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-L-valinat (3,730 g), 5% Palladium-an-Kohle-Katalysator (377 mg), Methanol (100 ml), Tetrahydrofuran (THF) (100 ml) und einer 0,5 M wässrigen HCl-Lösung (18 ml) wurde an einem Parr-Apparat unter 50 psi H_2 ($34,45 \times 10^4$ Pa H_2) einen Tag lang geschüttelt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Bausch von Celite filtriert und dann konzentriert und ergab einen weißen Feststoff. Dieser Feststoff wurde aus Wasser/Ethanol umkristallisiert und ergab die Titelverbindung als 1,762 g (60,0%) eines weißen Pulvers; Schmelzpunkt: 150°C (Feststoff schrumpft), verändert sich allmählich zu einem Öl und zersetzt sich unter Schäumen bei 195°C.

Analyse berechnet	C 41,22	H 6,12	N 22,19	Cl 9,36
gefunden	C 41,09	H 6,10	N 22,12	Cl 9,28.

Beispiel 1C

2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy)-ethyl-D-valinat-hydrochloridmonohydrat

a) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N[(benzyloxy)-carbonyl]-D-valinat

Eine Suspension von Acyclovir (2,000 g; Burroughs Wellcome Co.) in trockenem Dimethylformamid (DMF) (80 ml) wurde auf 60°C erwärmt und ergab eine farblose Lösung. CBZ-D-Valin (1,7 g; US-Patent 4411925), 4-Dimethylaminopyridin (74 mg; DMAP, Chem. Ber. 89, 2921–2933 [1956]) und Dicyclohexylcarbodiimid (1,6 g; DCC, US-Patent 2656383) wurden zu der warmen Lösung zugefügt. Die klare Lösung wurde auf Raumtemperatur abkühlen gelassen und unter N_2 2 Tage gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit den obigen Mengen an CBZ-D-Valin, DMAP und DCC wieder beladen und die wolkige Suspension bei Raumtemperatur 2 Tage lang gerührt. Die Suspension wurde filtriert, um einen weißen Feststoff zu entfernen. Das farblose Filtrat wurde konzentriert und der Rückstand des Filtrates wurde in Methanol/Dichlormethan aufgelöst und auf Silicagel chromatographiert, wobei mit 10%iger Methanol/Dichlormethan eluiert wurde und ergab die Titelverbindung als 1,10 g (52% eines weißen Feststoffes; Fp 155–158°C).

Berechnet:	C 52,05;	H 6,01;	N 17,34;
Gegeben:	C 52,02;	H 5,98;	N 17,32.

b) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-D-valinat-hydrochloridmonohydrat

Eine Mischung aus 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-D-valinat (0,49 g), 5% Palladium-an-Kohle-Katalysator (200 mg), Methanol (100 ml), Tetrahydrofuran (THF) (25 ml) und einer 0,5 M wässrigen HCl-Lösung (4,5 ml) wurde an einem Parr-Apparat unter 44 psi H_2 4 Tage lang geschüttelt. Das Reaktionsgemisch wurde durch eine Millipore-Membrane filtriert, das Filtrat konzentriert und getrocknet und ergab die Titelverbindung als einen weißlichen Feststoff; Fp 185–188°C.

Berechnet:	C 40,47;	H 6,18;	N 21,37;	Cl 10,82;
Gegeben:	C 40,62;	H 5,98;	N 21,20;	Cl 10,91.

Beispiel 1D

2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy)-ethyl-DL-valinat-hydrochloridmonohydrat

a) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-DL-valinat

Eine Suspension von Acyclovir (2,000 g; Burroughs Wellcome Co.) in trockenem Dimethylformamid (DMF) (150 ml) wurde auf 60°C erwärmt und ergab eine farblose Lösung. CBZ-DL-Valin (3,012 g; Sigma Chemicals, St. Louis MO, und Chemical Abstracts, Vol. 101 [5], 38799j), 4-Dimethylaminopyridin (154 mg; DMAP, Chem. Ber., 89, 2921–2933 [1956]) und Dicyclohexylcarbodiimid (2,998 g; DCC, US-Patent 2656383) wurden zu der warmen Lösung zugefügt. Die schwach gelbe Lösung wurde auf Raumtemperatur abkühlen gelassen und über Nacht gerührt. Die Suspension wurde dann filtriert zur Entfernung eines weißen Feststoffs. Das Filtrat wurde konzentriert und durch Flash-Chromatographie auf Silicagel gereinigt, wobei mit einem Methanol-in-Dichlormethan-Gradienten (0,15%) die Titelverbindung erhalten wurde.

b) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-DL-valinat-hydrochloridmonohydrat
Eine Mischung aus 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-DL-valinat (3,730 g), 5% Palladium-an-Kohle-Katalysator (377 mg), Methanol (100 ml), Tetrahydrofuran (THF) (100 ml) und einer 0,5 M wässrigen HCl-Lösung (18 ml) wurde an einem Parr-Apparat unter 50 psi H_2 ($34,45 \times 10^4$ Pa H_2) einen Tag lang geschüttelt. Die Reaktionsmischung wurde durch einen Bausch (pad) von Celite filtriert, dann konzentriert und ergab einen weißen Feststoff. Dieser Feststoff wurde aus Wasser/Ethanol umkristallisiert und ergab die Titelverbindung.

Beispiel 2

2-(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy-ethyl-L-isoleucinat-hydrochlorid

a) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-L-isoleucinat

Eine Mischung aus Acyclovir (1,0 g, 4,4 mMol; Burroughs Wellcome Co.), 4-Dimethylaminopyridin (74 mg, 0,6 mMol; Aldrich Chemical Co., und Chem. Ber. 89, 2921–2933 [1956]), 1,3-Dicyclohexylcarbodiimid (1,6 g, 8,0 mMol; Aldrich Chemical Co., und US-Patent 2656383), N-Carbobenzoxyl-L-isoleucin (1,8 g, 6,6 mMol; Sigma Chemical Co., und Bull. Chem. Soc. Jap. [1966], 39, 947, oder Tetrahedron 40 [24] 5207–5211 [1984]) und Molekularsiebe (0,3 g, Davison Typ 3A; Fisher Scientific, Co.) in trockenem N,N-Dimethylformamid (80 ml) wurde bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt. Nach 4 Tagen wurden zusätzliches 1,3-Dicyclohexylcarbodiimid (1,6 g, 8,0 mMol) und N-Carbobenzoxyl-L-isoleucin (1,8 g, 6,6 mMol) zugefügt. Das Rühren bei Raumtemperatur wurde 7 Tage lang fortgesetzt. Die resultierende Mischung wurde filtriert und das klare Filtrat wurde im Vakuum zu einem halbfesten Rückstand konzentriert. Die Elution des Rückstandes aus Silicagel 60 (EM, 230–400 mesh; 8,5 cm $\times$ 14 cm) mit 2,5–5% Methanol/Methylchlorid ergab 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-L-isoleucinat, 0,8 g (45%) als weißen Feststoff; Schmelzpunkt: 155–157°C; UV (MeOH); λ_{max} 255 nm (ϵ 17 700) λ_{sh} 279 (9800), λ_{min} 230 (6 100)

NMR (200 MHz, Me_2SO-d_6): 0,73–0,80 ppm (m, 6H), 1,13–1,33 (m, 2H), 1,66–1,70 (m, 1H), 3,64 (t, 2H), 3,92 (t, 1H), 4,16 (m, 2H), 5,00 (s, 2H), 5,32 (s, 2H), 6,47 (br, s, 2H), 7,33 (s, 5H), 7,65 (d, j = 8 Hz, 1H), 7,78 (s, 1H), 10,59 (br s, 1H);

MS (CI/ CH_4 ; 70°C): m/z 473 (1,0%, $M + 1$), 347 (23,2, $M-125$), 225 (100,0, $M-247$); $[\alpha]_D^{20} - 3,07^\circ$ (c 0,488, 6N HCl).

TLC: ein Fleck auf Silicagel mit 10% MeOH/ CH_2Cl_2 · R_f = 0,38

HPLC: ein Peak auf Supelco LC₈ mit 50% MeOH/ H_2O ; 100% K' = 7,02

Analyse auf $C_{22}H_{28}N_6O_6 \cdot H_2O$:

berechnet C 53,87 H 6,16 N 17,13

gefunden C 53,94 H 6,20 N 17,04

b) 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-L-isoleucinat-hydrochlorid

Eine Lösung von 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-N-[(benzyloxy)-carbonyl]-L-isoleucinat (1,11 g, 2,2 mMol) in Methanol/Tetrahydrofuran (1:1, 50 ml) wurde mit 0,5 N Chlorwasserstoffsäure (5 ml) und 5% Palladium-an-Kohle (0,30 g; MCB Reagents) behandelt. Die Mischung wurde an einem Parr-Hydrogenator bei 50 psi ($34,45 \times 10^4$ Pa) 11 Stunden hydriert, durch einen Celite-Bausch filtriert und das Filtrat im Vakuum konzentriert, und ergab 2-[(2-Amino-1,6-dihydro-6-oxo-9H-purin-9-yl)-methoxy]-ethyl-L-isoleucinat-hydrochlorid (0,86 g, 92%) als gebrochenen weißen Feststoff; Schmelzpunkt: 180–182°C (schäumendes Erweichen bei etwa 150°C).

UV (MeOH); λ_{max} 254 nm (ϵ 13 400), λ_{sh} 272 (9000), λ_{min} 224 (3600);

NMR (200 MHz, Me_2SO-d_6): 0,77–0,84 ppm (m, 6H), 1,13–1,37 (m, 2H), 1,82 (m, 1H), 3,73 (t, 2H), 3,87 (br t, 1H), 4,14–4,40 (m, 2H), 5,36 (s, 2H), 6,70 (br s, 2H), 7,97 (s, 1H), 8,46 (br s, 3H), 10,87 (s, 1H);

MS (CI/ CH_4 ; 150°C): m/z 367 (6,9%, $M + 29$), 339 (100, $M + 1$), 225 (92,9, $M-113$); $[\alpha]_D^{20} + 11,15^\circ$ (c 2,0, HOAc).

TLC: ein Fleck auf Silicagel mit 10% MeOH/ CH_2Cl_2 , R_f = 0,12;

HPLC: ein Peak auf Versapak C₁₈ mit 10% MeOH/ H_2O /0,1% F_3CCOOH ; 100% K' = 3,74.

Analyse auf $C_{14}H_{22}N_6O_4 \cdot 1,25HCl \cdot 1,10MeOH \cdot 0,25H_2O$:

berechnet C 42,81 H 6,70 N 19,84 Cl 10,46

gefunden C 42,82 H 6,50 N 19,64 Cl 10,46.

Beispiel 3

Tablettenformulierungen

Die folgenden Formulierungen A, B und C wurden durch Naßgranulierung der Bestandteile mit Povidon (Polyvinylpyrrolidon) und nachfolgende Zugabe von Magnesiumstearat und Pressen hergestellt.

Formulierung A

	mg/Tablette	mg/Tablette
aktiver Bestandteil	250	250
Lactose B.P.	210	26
Povidon B.P.	15	9
Natriumstärkeglykolat	20	12
Magnesiumstearat	5	3
	<u>500</u>	<u>300</u>

Formulierung B

	mg/Tablette	mg/Tablette
aktiver Bestandteil	250	250
Lactose	150	–
Avicel PH 101	60	26
Povidon B.P.	15	9
Natriumstärkeglykolat	20	12
Magnesiumstearat	5	3
	<u>500</u>	<u>300</u>

Formulierung C

	mg/Tablette
aktiver Bestandteil	100
Lactose	200
Stärke	50
Povidon B.P.	5
Magnesiumstearat	4
	<u>359</u>

Die folgenden Formulierungen D und E wurden durch direktes Verpressen der vermischten Bestandteile hergestellt. Die Lactose in Formulierung E ist eine solche vom Verpreßtyp.

Formulierung D

	mg/Kapsel
aktiver Bestandteil	250
Avicel	150
Magnesiumstearat	4
	<u>404</u>

Formulierung E

	mg/Kapsel
aktiver Bestandteil	250
Lactose	150
Avicel	100
Magnesiumstearat	5
	<u>505</u>

Formulierung F (Formulierung für kontrollierte Freigabe)

Die Formulierung wird hergestellt durch Naßgranulierung der Bestandteile (nachfolgend) mit Povidone, gefolgt von der Zugabe von Magnesiumstearat und Verpressen.

	mg/Tablette
aktiver Bestandteil	500
Hydroxypropylmethylcellulose (Methocel K4 m Premium)	112
Lactose B.P.	53
Povidon B.P.	28
Magnesiumstearat	7
	<u>700</u>

Beispiel 4

Kapselformulierungen

Formulierung A

Eine Kapselformulierung wird hergestellt durch Vermischen der Bestandteile der Formulierung D von Beispiel 3 oben und Einfüllen in eine zweiteilige Hartgelatine kapsel. Formulierung B (nachfolgend) wird in einer ähnlichen Weise hergestellt.

Formulierung B

	mg/Kapsel
aktiver Bestandteil	250
Lactose B.P.	143
Aluminiumstärkeglykolat	25
Aluminiumstearat	2
	<u>420</u>

Formulierung C

	mg/Kapsel
aktiver Bestandteil	250
Macrogol 4000 B.P.	350
	<u>600</u>

Die Kapseln werden hergestellt durch Schmelzen des Macrogol 4000 B.P., Dispergieren des aktiven Bestandteils in der Schmelze und Einfüllen der Schmelze in die zweiteilige Hartgelatine-kapsel.

Formulierung D

	mg/Kapsel
aktiver Bestandteil	250
Lecithin	100
Erdnußöl	100
	<u>450</u>

Die Kapseln werden hergestellt durch Dispersion des aktiven Bestandteils in dem Lecithin- und Erdnußöl und Einfüllen der Dispersion in welche, elastische Gelatine-kapseln.

Formulierung E (Kapsel für die kontrollierte Freigabe)

Die folgende Kapsel-formulierung für eine kontrollierte Freigabe wird hergestellt durch Extrudieren der Bestandteile a), b) und c) unter Verwendung eines Extruders, nachfolgende Überführung in Pellets (Sphäronisierung) des Extrudats und Trocknung. Die getrockneten Pellets werden dann mit einer die Freigabe kontrollierenden Membran (d) beschichtet und in eine zweiteilige Hartgelatine-kapsel gefüllt.

	mg/Kapsel
aktiver Bestandteil	250
mikrokristalline Cellulose	125
Lactose B.P.	125
Ethylcellulose	13
	<u>513</u>

Beispiel 5

Ophthalmische Lösung

aktiver Bestandteil	0,5
Propylenglykol	0,2 g
Thiomersal	0,001 g
gereinigtes Wasser	auf 100 ml

pH-Wert, eingestellt auf 7,5

Beispiel 6

Injizierbare Formulierung

aktiver Bestandteil 0,200 g

steriler, pyrogenfreier Citratpuffer (pH 7,0) auf 10 ml

Der aktive Bestandteil wird in dem Großteil des Citratpuffers gelöst (35–40°C), dann auf das Volumen aufgefüllt und durch ein steriles Mikroporenfilter in eine sterile bernsteinfarbene 10-ml-Glasviale (Typ 1) filtriert, und mit sterilen Verschlüssen und Überverschlüssen versiegelt.

Beispiel 7

Intramuskuläre Injektionslösung

aktiver Bestandteil	0,20 g
Benzylalkohol	0,10 g
Glycofurol 75	1,45 g
Wasser für Injektion q.s.	auf 3,00 ml

Der aktive Bestandteil wird in dem Glycofurol gelöst. Dann wird der Benzylalkohol zugefügt und gelöst, und Wasser auf 3 ml zugefügt. Die Mischung wird dann durch ein steriles Mikroporenfilter filtriert und in sterilen bernsteinfarbenen 3-ml-Glasvialen (Typ 1) versiegelt.

Beispiel 8

Sirupsuspension

aktiver Bestandteil	0,25 g
Sorbitlösung	1,50 g
Glyzerin	2,00 g
Natriumbenzoat	0,005 g
Geschmacksstoff	0,0125 ml
gereinigtes Wasser q.s.	auf 5,00 ml

Das Natriumbenzoat wird in einem Teil des gereinigten Wassers gelöst, und die Sorbitlösung zugegeben. Der aktive Bestandteil wird zugefügt und gelöst. Das Glyzerin und die Geschmacksstoffe werden zugefügt und eingemischt. Wasser wird auf ein Endvolumen von 5 ml zugefügt.

Beispiel 9

Suppositorium

	mg/Suppositorium
aktiver Bestandteil (63 µm)*	250
Hartfett, BP (Witepsol H15 – Dynamit Nobel)	1 700
	1 950

Ein Fünftel des Witepsol H 15 wird in einer Pfanne mit einem Dampfmantel bei 45°C (Maximum) geschmolzen. Der aktive Bestandteil wird durch ein 250-µm-Sieb gesiebt und zu der geschmolzenen Grundsubstanz unter Verwendung eines Silverson-Mischers, der mit einem Schrägkopf versehen ist, gemischt, bis eine gleichmäßige Dispersion erhalten ist. Während die Mischung bei 45°C gehalten wird, wird das übrige Witepsol H 15 zur Suspension zugefügt und gerührt, um eine homogene Mischung zu erhalten. Die gesamte Suspension wird durch ein rostfreies 250-µm-Stahlsieb hindurchgeführt und unter kontinuierlichem Rühren auf 40°C abkühlen gelassen. Bei einer Temperatur von 38°C bis 40°C werden 2,02 g der Mischung in geeignete Plastikformen gefüllt. Die Suppositorien werden auf Raumtemperatur abkühlen gelassen.

Beispiel 10

Pessarien

	mg/Pessar
aktiver Bestandteil 63 µm	250
wasserfreie Dextrose	543
Stärke	200
Magnesiumstearat	7
	1 000

Die obigen Bestandteile werden direkt gemischt und durch direkte Verpressung der erhaltenen Mischung die Pessare hergestellt.

Beispiel 11

a) antivirale Wirkung

Herpes-Simplex-Virus (HSV-1) wurde in Monoschichten von Vero-Zellen in Mehrlöcher-Trögen untersucht. Die Aktivität der Verbindungen wurde im Fleckenreduzierungsversuch bestimmt, indem eine Zellmonoschicht mit einer Suspension von HSV-1 infiziert wurde, und dann mit einem Nähragar in Form eines Gels überschichtet wurde, um sicherzustellen, daß keine Ausbreitung des Virus durch die Kultur stattfindet. In die Nähragardeckschicht wurde ein Bereich von Konzentrationen der Verbindung bekannter Molarität inkorporiert. Fleckenzahlen bei jeder Konzentration wurden als Prozente der Kontrolle ausgedrückt, und eine dosisabhängige Kurve gezeichnet. Von dieser Kurve wurde die 50%-Inhibierungskonzentration (IC_{50}) abgeschätzt.

Verbindung	IC_{50} µm
Beispiel 1	0,84
Beispiel 2	3,8
Acyclovir	0,08–0,1

b) Bestimmung der oralen Bioverfügbarkeit

Long-Evans-Ratten wurden die zu testende Verbindung durch Sondenernährung verabreicht in einer Dosis, die äquivalent ist zu 25 mg/kg Acyclovir. Der Urin wurde für 24 und 48 Stunden nach der Dosisverabreichung gesammelt, ultrafiltriert und durch Umkehrphasen-Hochdruckflüssigkeitschromatographie analysiert. Die orale Bioverfügbarkeit der Verbindung wurde ausgedrückt als Prozent der Dosis, die im Urin als Acyclovir ausgeschieden wurde.

* Der aktive Bestandteil wird als Pulver verwendet, bei dem mindestens 90% der Teilchen einen Durchmesser von 63 µm oder weniger besitzen.

Verbindung	Wiedergewinnung im Urin (% der Dosis) als Acyclovir
Beispiel 1	63
Beispiel 2	50
Acyclovir (ACV)	15
Glycylester von ACV	30
L-Alanyl-ester von ACV	34

c) Toxizitätsdaten

Bestimmung der Wachstumsinhibierung von nicht-infizierten Säugetierzellen

Die Fähigkeit der zu untersuchenden Verbindungen zur Inhibierung des Wachstums von D98-Zellen (Mensch) und L-Zellen (Maus) wurde gemessen durch Bestimmung der Zellzahl drei Tage, nachdem eine Standardzahl von Zellen verschiedenen Verdünnungen der Verbindung ausgesetzt wurde (Rideout, J. L., Krenitsky, T. A., Koszalka, G. W., Cohn, N. K., Chao, E. Y., Elion, G. B., Litter, V. S. und Williams, R. B. [1982], J. Med. Chem. 25, 1040–1044).

Die Zellzahl wurde dann mit der in Abwesenheit der Verbindung erhaltenen Zahl verglichen. Die Zellzählung wurde entweder durch direkte Teilchenzählung, gefolgt von Trypsinisierung der Monoschicht, ausgeführt, oder durch spektrophotometrische Bestimmung der Menge an vitalen Flecken, die von den Zellen aufgenommen wurden. Mit beiden Methoden wurden vergleichbare Ergebnisse erhalten.

Datenanalyse

Die Konzentration der Verbindung, die 50 % der Kontrollwerte (IC_{50}) ergab, wurde entweder durch direkte Interpolation der Kurve des log der Verbindungskonzentration gegen die Prozente des Kontrollwertes berechnet, oder aus einem Computerprogramm, welches die Daten gemäß dem gleichen Algorithmus analysiert.

In diesen Berechnungen wurden die Daten im Bereich von 20 % bis 80 % der Kontrolle verwendet.

Beispiel	Zelltoxizität (% der Kontrolle bei 100 μ m)	
	D98-Zellen	L-Zellen
ACV (Acyclovir)	99	72
1 B	91	95
2	80	83