



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 293 498 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) A 61 K 31/70

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 K / 331 051 2	(22)	20.07.89	(44)	05.09.91
(71)	Akademie der Wissenschaften, Otto-Nuschke-Straße 22/23, O - 1080 Berlin, DE				
(72)	Matthes, Eckart, Dr. med.; von Janta-Lipinski, Martin, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Reimer, Karen, Dr. med.; Meisel, Helga, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Schildt, Jürgen; Lehmann, Christine, DE				
(73)	Zentralinstitut für Molekularbiologie der Akademie der Wissenschaften, O - 1115 Berlin; Humboldt-Universität, Institut für Medizinische Virologie der Charité, O - 1080 Berlin, DE				
(74)	Zentralinstitut für Molekularbiologie, AG Patent- und Neuererwesen, Robert-Rössle-Straße 10, O - 1115 Berlin-Buch, DE				

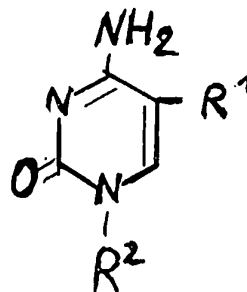
(54) Verfahren zur Herstellung eines Mittels für die Behandlung oder Prophylaxe von Hepatitis-Infektionen bei Mensch und Tier

(55) Hepatitis-Infektionen; Behandlung; Prophylaxe; Desoxynucleoside; 3'substituierte Träger; Human- und Veterinärmedizin; Industrie, pharmazeutische
(57) Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Mittels für die Behandlung oder Prophylaxe von Hepatitis-Infektionen bei Mensch und Tier. Anwendungsgebiet der Erfindung ist die Human- und Veterinärmedizin bzw. die pharmazeutische Industrie. Erfindungsgemäß werden substituierte Nucleoside der Formel I,

in der R¹: F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂OH

- R²: 2,3-Dideoxyribofuranosyl,
 2,3-Dideoxy-3-fluorribofuranosyl,
 2,3-Dideoxy-3-chlorribofuranosyl,
 2,3-Dideoxy-3-azidoribofuranosyl,
 2,3-Dideoxy-3-aminoribofuranosyl,
 2,3-Didehydro-2,3-dideoxyribofuranosyl,
 Arabinofuranosyl,
 3-Desoxy-3-fluorarabinofuranosyl bzw. deren
 5-0-Acetyl-, 5-0-Palmitoyl-,
 5-0-Alkoxycarbonyl-Derivate, oder deren
 5-Mono-, 5-Di- oder Triphosphate (als freie
 Säuren oder Alkali-, Ammonium- oder
 Alkylammoniumsalze) bzw. andere
 Prekursorgruppen für die 5-Hydroxylgruppe
 bedeuten

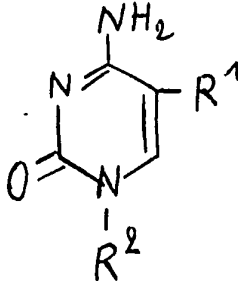
mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern vermischt.
Formel I



I

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung eines Mittels für die Behandlung oder Prophylaxe von Hepatitis-Infektionen bei Mensch und Tier, **dadurch gekennzeichnet**, daß man substituierte Nucleoside der Formel I



in der

R¹: F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂OH

R²: 2,3-Didesoxyribofuranosyl, 2,3-Dideoxy-3-fluorribofuranosyl, 2,3-Dideoxy-3-chlorribofuranosyl, 2,3-Dideoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-Dideoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-Didehydro-2,3-dideoxyribofuranosyl, Arabinofuranosyl, 3-Desoxy-3-fluorarabinofuranosyl, bzw. deren 5-0-Acetyl-, 5-0-Palmitoyl-, 5-0-Alkoxycarbonyl-Derivate, oder deren 5-Mono-, 5-Di- oder 5-Triphosphate, als freie Säuren oder Alkali-, Ammonium- oder Alkylammoniumsalze, bzw. andere Prekursorgruppen für die 5-Hydroxylgruppe bedeuten

mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern vermischt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindungen der allgemeinen Formel I für eine Verabreichung mittels Injektion anpaßt.
3. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindungen der allgemeinen Formel I für eine Verabreichung mittels Infusion anpaßt.
4. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindungen der allgemeinen Formel I für eine orale Verabreichung anpaßt.
5. Verfahren nach Ansprüchen 2–4, **dadurch gekennzeichnet**, daß man Verbindungen der allgemeinen Formel I in die Form eines Dragees, einer Tablette, einer Kapsel, in die Pulver- oder Granulatform überführt.
6. Verfahren nach Ansprüchen 1, 4 und 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß man gegebenenfalls ein Geschmacksmittel zusetzt.
7. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß man die Verbindungen der allgemeinen Formel I in die Form eines Zäpfchens überführt.
8. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-5-fluorcytidin eingesetzt wird.
9. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-5-methylcytidin eingesetzt wird.
10. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-5-hydroxy-methylcytidin eingesetzt wird.
11. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-5-fluorcytidin eingesetzt wird.
12. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-5-methylcytidin eingesetzt wird.
13. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-3'-fluor-5-hydroxymethylcytidin eingesetzt wird.
14. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-3'-chlor-5-methylcytidin eingesetzt wird.
15. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-3'-chlor-5-bromcytidin eingesetzt wird.
16. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-3'-chlor-5-chlorcytidin eingesetzt wird.
17. Verfahren nach Ansprüchen 1–7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Dideoxy-3'-azido-5-methylcytidin eingesetzt wird.

18. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-hydroxymethylcytidin eingesetzt wird.
19. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-bromcytidin eingesetzt wird.
20. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Didesoxy-3'-amino-5-methylcytidin eingesetzt wird.
21. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin eingesetzt wird.
22. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-fluorcytidin eingesetzt wird.
23. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I Arabinofuranosyl-5-methylcytosin eingesetzt wird.
24. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I Arabinofuranosyl-5-jodcytosin eingesetzt wird.
25. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 3'-Desoxy-3'-fluorarabino-furanosyl-5-methylcytosin eingesetzt wird.
26. Verfahren nach Ansprüchen 1-7, **dadurch gekennzeichnet**, daß als Verbindung der allgemeinen Formel I 3'-Desoxy-3'-fluorarabino-furanosyl-5-jodcytosin eingesetzt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines Mittels gegen Hepatitis-Infektionen bei Mensch und Tier. Anwendungsgebiet der Erfindung ist die Human- und Veterinärmedizin bzw. die pharmazeutische Industrie.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

Die Hepatitis B ist eine durch das Hepatitis B Virus (HBV) verursachte Infektionskrankheit, von der weltweit etwa 200 Millionen Menschen betroffen sind und deren chronische Form mit einem erhöhten Risiko für ein primäres Leber-Carcinom verbunden ist, das allein in China zu etwa einer Million Tumorneuerkrankungen pro Jahr führt.

Eine wirksame und verträgliche antivirale Therapie fehlt bisher. Angriffspunkt könnte u. a. die HBV-DNA Polymerase sein, ein Enzym, dessen Hemmung die weitere intrazelluläre Virusvermehrung verhindern und damit seine Ausbreitung stoppen könnte. Die ersten klinisch erprobten Hemmstoffe der HBV-Polymerase, wie z. B. Adeninarabinosid (araA) und Acyclovir (ACV), haben auch in Kombination mit Kortikosteroiden oder Interferon alpha nur teilweise oder vorübergehende Besserungen erbracht oder sind von Nebenwirkungen begleitet (Alexander et al., British Medical Journal 292, 915 [1986]), so daß die Notwendigkeit besteht, wirksamere und selektivere Arzneimittel zu entwickeln. In diese Richtung weisen das WO-Patent Nr. 88/00050, in dem 3'-Fluordesoxynucleoside von Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin als Mittel gegen Hepatitis B Infektionen beansprucht werden und das WO-Patent Nr. 89/01776, in dem die Wirksamkeit von 2'-Fluorarabinosyl-5-ethyluracil gegen Hepatitis-Infektionen (woodchuck hepatitis) belegt ist.

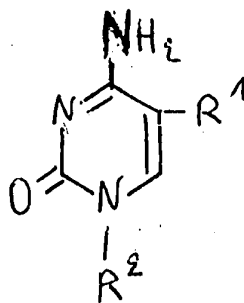
Ziel der Erfindung

Das Ziel der Erfindung besteht darin, Mittel zur Behandlung und Prophylaxe von Hepatitis-Infektionen bei Mensch und Tier bereitzustellen.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Herstellung eines neuen Mittels gegen Hepatitis Infektionen zu entwickeln, das wirksam und gut verträglich ist und eine geringe Toxizität aufweist.

Erfindungsgemäß werden neue und bekannte substituierte Nucleoside der allgemeinen Formel I



wobei

R¹: F, Cl, Br, I, CH₃, CH₂OH

R²: 2,3-Didesoxyribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-fluorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-chlorribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-azidoribofuranosyl, 2,3-Didesoxy-3-aminoribofuranosyl, 2,3-Didehydro-2,3-didesoxyribofuranosyl, Arabinofuranosyl, 3-Desoxy-3-fluorarabinofuranosyl bzw. deren 5-O-Acetyl-, 5-O-Palmitoyl-, 5-O-All.oxycarbonyl- Derivate, oder deren 5-Mono-, 5-Di- oder 5-Triphosphate (als freie Säuren oder Alkali-, Ammonium- oder Alkylammoniumsalze) bzw. andere Prekursorguppen für die 5-Hydroxylgruppe bedeuten,

mit pharmazeutisch annehmbaren Trägern vermischt zur Behandlung und Prophylaxe von Hepatitis-Infektionen, wie sie durch das Hepatitis B-Virus (HBV), das Hepatitis A-Virus (HAV) und den Erreger der Non A-, Non B-Hepatitis verursacht werden, eingesetzt.

Es handelt sich dabei bevorzugt um die neuen Verbindungen:

2',3'-Didesoxy-5-hydroxymethylcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-fluorcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-chlor-5-methylcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-chlor-5-bromcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-chlor-5-chlorcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-hydroxymethylcytidin
 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin
 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-fluorcytidin.

Weitere effektive Verbindungen sind:

2',3'-Didesoxy-5-methylcytidin
 2',3'-Didesoxy-5-bromcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-methylcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-azido-5-fluorcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-amino-5-methylcytidin
 2',3'-Didesoxy-3'-amino-5-jodcytidin
 Arabinofuranosyl-5-methylcytosin.

Verbindungen der Formel I stellen auch allein (ohne Träger) bereits wirksame Mittel gegen Hepatitis-Infektionen dar. Die erfindungsgemäßen Mittel enthalten eine oder mehrere Wirkkomponenten, entsprechend der allgemeinen Formel I zusammen mit einem oder mehreren verträglichen Trägern dafür und gegebenenfalls mit anderen therapeutischen Mitteln. Die Mittel werden als Einheitsdosis hergestellt oder so, daß ein Mehrfaches der Wirkkomponenten enthalten ist.

Jeder Träger muß verträglich sein, mit den anderen Bestandteilen der Mittel vereinbar und darf für den Patienten nicht schädlich sein. Die Mittel schließen solche ein, die für orale, rektale, nasale, topische, vaginale oder parenterale (einschließlich subkutane, intramuskuläre, intravenöse und intradermale) Verabreichung geeignet sind. Eine bzw. mehrere Wirkkomponenten werden mit dem Träger, der sich aus einem oder mehreren Begleitbestandteilen zusammensetzt, in Kontakt gebracht und, falls erforderlich, in eine entsprechende Form gebracht.

Die Mittel für eine orale Verabreichung werden in Form von Dragees, Tabletten, Kapseln, als Pulver oder Granulat so hergestellt, daß sie jeweils eine bestimmte Menge des aktiven Bestandteils enthalten. Ebenso können sie als Lösung oder als Suspension hergestellt werden. Gegebenenfalls werden Geschmacksmittel oder andere übliche Mittel zugesetzt.

Mittel für eine rektale Verabreichung werden als Zäpfchen mit einer geeigneten Base hergestellt.

Mittel für eine vaginale Verabreichung werden als Pessare, Tampons, Cremes, Gele, Pasten, Schäume oder Spray-Produkte hergestellt.

Die Mittel für die parentale Verabreichung können als Einheitsdosis der Wirkkomponente oder als Mehrfachdosis vorgesehen werden. Dafür können sie in Ampullen, Phiole oder in einem gefriergetrockneten Zustand gelagert sein. Unmittelbar zubereitete Injektionslösungen und Suspensionen können aus sterilen Pulvern, Granulat und Tabletten erhalten werden. Das erfolgt z. B. durch Lösen der Substanz in physiologischer Kochsalzlösung, Glukose oder anderen für die i. v. Injektion bzw. Infusion geeigneten Medien. Zur Behandlung von Patienten mit Hepatitis B-Infektionen wird z. B. aus physiologischer Kochsalzlösung und 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin die erforderliche Menge einer 0,3% Lösung hergestellt, die sterilisiert und den Patienten innerhalb einer Stunde intravenös infundiert wird. Die Infusion wird alle 4-8 Stunden wiederholt und mindestens 8-10 Tage fortgesetzt.

Die chemische Herstellung der Verbindungen der Formel I erfolgte durch die Behandlung der entsprechenden Anhydroverbindungen mit Nucleophilen gegebenenfalls unter Säurekatalyse analog dem von G. Etzold et al. (Tetrahedron 27, 2463 [1971]) beschriebenen Verfahren. In anderen Fällen wurde eine geeignete 3'-Sulfonyloxygruppe direkt nucleophil ausgetauscht (J. P. Horwitz et al., J. Org. Chem. 29, 2076 [1964]). Die 2',3'-Didesoxynucleoside wurden durch katalytische Reduktion der jeweiligen 3'-Jodverbindungen gemäß K. E. Pfitzner und J. G. Moffat (J. Org. Chem. 29, 1508 [1964]) erhalten, während die 2',3'-Didesoxy-2'-en-Verbindungen durch Eliminierung von geeigneten 3'-Sulfonyloxygruppen analog der von J. P. Horwitz et al. (Tetrahedron Lett 13, 1343 [1966]) angegebenen Methodik gewonnen wurden.

Weiterhin wurden die 5-halogenierten Pyrimidinverbindungen gemäß den von J. Duval und J. P. Ebel (Bull. Soc. Chim. Belg. 46, 1059 [1964]), bzw. K. Kikugawa et al. (Chem. Pharm. Bull. 23, 35 [1975]) beschriebenen Methoden dargestellt. Die Phosphorsäureester wurden aus den jeweiligen Nucleosiden mittels Phosphoroxchlorid in Trimethylphosphat als Lösungsmittel erhalten (M. Yoshikawa et al., Tetrahedron Lett. 5065 [1967]). Zur Umwandlung der Mono- in die jeweiligen Triphosphate wurde die von W. Feist und F. Cramer (in „Nucleic Acid Chemistry“, Part 2, edit. by L. B. Townsend und R. S. Tipson, John Wiley, New York, 1978, S. 827) erwähnte Darstellungsmethode genutzt.

Die weiterhin angewandten Methoden der Veresterung, Veretherung bzw. Halogenisierung, der selektiven Blockierung bzw. Aktivierung von OH- und anderen funktionellen Gruppen, sowie des Entfernens von eingesetzten Schutzgruppen entsprechen den in der Nucleosidchemie üblichen Verfahren.

Die Wirksamkeit einiger der erfindungsgemäßen Verbindungen wird wie folgt belegt:

a) Hemmung der Hepatitis B-Virus-Polymerase durch Desoxynucleosidtriphosphat-Analoga

Das Hepatitis B Virus (HBV) besitzt eine zirkuläre, partiell doppelsträngige DNA, welche nach Infektion einer Leberzelle durch eine viruseigene Polymerase repliziert wird. Dieser Vorgang setzt jedoch die Synthese einer RNA durch eine zelluläre RNA-Polymerase voraus. Nur diese RNA-Matrize – im Zusammenhang mit der Replikation auch als Prägenom bezeichnet – kann von der HBV-Polymerase für die Synthese zunächst eines RNA-DNA Hybrids und dann der doppelsträngigen DNA benutzt werden. Damit verfügt die HBV-Polymerase über eine enzymatische Aktivität, die der einer reversen Transcriptase ähnelt, Will et al. (J. Virology 61, 904 [1987]). Es wurde zunächst die Hemmbarkeit der HBV-assoziierten Polymerase durch die 5'-Triphosphate der erfindungsgemäßen Verbindungen untersucht. Dazu wurde die von Kaplan et al. (J. Virology 12, 995 [1973]) angegebene

Methode zur Bestimmung der HBV-Polymerase benutzt und die zu testenden Triphosphate den Ansätzen in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt. Die Hemmung der Enzymreaktion wurde nach 3stündiger Inkubation bei 37°C durch Vergleich mit einem Kontrollwert ermittelt. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse, die mit 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin-5'-triphosphat als einem typischen Vertreter der erfindungsgemäßen Verbindungen erhalten wurden.

Tabelle 1

Hemmung der HBV-Polymerase-Aktivität durch 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin-5'-triphosphat

Inhibitor Konzentration	% Hemmung
0,01 µM	28
0,03 µM	50
0,06 µM	62
0,28 µM	86
1,40 µM	95

Daraus ergibt sich die für eine 50%-Hemmung der HBV-Polymerase erforderliche Konzentration (ID_{50}) von 0,03 µM, womit 2',3'-Didesoxy-3'-Fluor-5-methylcytidin-5'-triphosphat zu den stärksten bisher bekannten Hemmstoffen der HBV-Polymerase gehört.

b) Wirkung der modifizierten Desoxynucleosidtriphosphate auf die zellulären DNA-Polymerasen alpha und beta
Um zu prüfen, inwieweit die beschriebene Wirkung auf die HBV-Polymerase selektiv ist, d. h. die zellulären DNA-Polymerasen von einer Hemmung durch die erfindungsgemäßen Desoxynucleosidtriphosphate ausgenommen sind, wurden die zellulären DNA-Polymerasen alpha und beta in die Untersuchungen einbezogen. Die Isolierung der Enzyme und deren Aktivitätsbestimmung erfolgte entsprechend der Methode von Matthes et al. (Biomed. Biochim. Acta 44, K63-K73 [1985]). Die Ergebnisse mit 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin-5'-triphosphat zeigen, daß die für die Replikation der zellulären DNA zuständige DNA-Polymerase alpha weitgehend unbeeinflusst bleibt. Eine 50% Hemmung dieses Enzyms wird auch bei 150 µM noch nicht erreicht, so daß die DNA-Polymerase alpha dieser Verbindung gegenüber als nahezu resistent anzusehen ist. Für die DNA-Polymerase beta, die als Reparaturenzym zellulärer DNA-Schäden angesehen wird, liegt der ID_{50} -Wert bei 4,8 µM/l. Damit besitzt die beschriebene Verbindung eine hohe Wirkungsspezifität.

c) Zytotoxizität der modifizierten Nucleoside

Unter dem Aspekt einer möglichen Anwendung der Verbindungen am Menschen wurden ihre antiproliferativen Wirkungen an menschlichen Zellkulturen, wie früher beschrieben, getestet, E. Matthes et al. (Biochem. Biophys. Res. Commun. 153, 825 [1988]). Dabei zeigte sich, daß z. B. 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin gegenüber der T-Zelllinie MT 4 eine ID_{50} von 150 µM aufweist. In einem weiteren Test, in dem eine mögliche Wachstumshemmung koloniebildender Zellen des Knochenmarks der Maus (CFU-GM) untersucht wurde, E. Matthes et al. (Biochem. Biophys. Res. Commun. [1989] in press), erwies sich diese Verbindung ebenfalls als kaum proliferationshemmend ($ID_{50} > 5 \times 10^{-4}$ M).

Ausführungsbeispiele

1. Beispiel

Injektionslösung

Aus 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin und physiologischer Kochsalzlösung bereitet man die erforderliche Menge einer 0,3%igen Lösung.

2. Beispiel

Tabletten oder Dragees

Pulverisiertes 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-methylcytidin wird mit einem oder mehreren der üblichen Trägerstoffe wie Stärke, Talk, Mg-stearat, K-stearat, Stearinsäure, Paraffin, Cetylalkohol, Pectin, Saccharose, Gummi arabicum, Dextrin zu Tabletten oder Dragees verarbeitet.

3. Beispiel

Darstellung von 2',3'-Didesoxy-3'-fluor-5-fluorcytidin

0,12 mMol 5'-O-Acetyl-2',3'-didesoxy-3',5-difluoruridin werden in 3 ml Pyridin gelöst, mit 34,5 mg (0,5 mMol) 1,2,4-Triazol und 86 mg (0,35 mMol) p-Chlorphenoxyphosphorsäuredichlorid versetzt. Die Reaktionslösung verbleibt eine Woche bei Raumtemperatur. Anschließend werden 15 ml Dioxan und 5 ml konzentrierte Ammoniaklösung hinzugefügt. Nach 20 Stunden wird das Lösungsmittel i. Vak. entfernt. Der verbleibende braune Rückstand wird in 3 ml Wasser gelöst und an einem Ionenaustauscher (5m DOWEX 50W x 8, H⁺-Form, 50-100 mesh) gereinigt. Zunächst wird mit Wasser (420 ml), anschließend mit Ammoniaklösung (3%, 400 ml) eluiert. Die ammoniakalkalische Lösung wird zur Trockne eingedunstet und der Rückstand an 10g Kieselgel 40 (0,063-0,2 mm, MERCK) säulenchromatographisch getrennt. Aus den entsprechenden Fraktionen werden 10 mg der Titelverbindung erhalten.

F. 219°C (Methanol).

UV (Wasser) pH 7 max 283 nm (8400);

pH 1 max 294 nm (9450);

MS: m/z 247 (M⁺, C₉H₁₁N₃O₃F₂);

129 (Base, C₄H₄N₃OF);

119 (Zuckerrest, C₅H₈O₂F).

4. Beispiel**Darstellung von 2',3'-Didesoxy-3'-chlor-5-methyl-cytidin**

6 mMol 5'-O-Acetyl-3'-chlor-3'-desoxy-thymidin werden in 100 ml Pyridin gelöst, mit 1,57 g (22,7 mMol) 1,2,4-Triazol und 4,4 g (17,9 mMol) p-Chlorphenoxyphosphorsäuredichlorid versetzt. Das Reaktionsgemisch verbleibt bei Raumtemperatur für eine Woche. Danach werden 50 ml Dioxan und 20 ml konzentrierte Ammoniaklösung addiert und die Reaktionslösung wird 24 Std. bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach dem Vertreiben des Lösungsmittels wird der Rückstand zunächst an 100 ml DOWEX 50W × 8 (H⁺-Form) und anschließend an 50 g Kieselgel 40 (MERCK) säulenchromatographisch getrennt. Aus den entsprechenden Fraktionen wird 2',3'-Didesoxy-3'-chlor-5-methyl-cytidin als Hydrochlorid erhalten.

F. 203–205°C (Methanol).

MS: m/z 259 (M⁺, C₁₀H₁₄N₃O₃Cl);
135 (Zuckerrest, C₅H₈O₂Cl);
125 (Base + H, C₆H₇N₃O).

UV (H₂O) pH 7 max 278,5 nm,
pH 1 max 287,0 nm.

5. Beispiel**Darstellung von 5-Brom-3'-chlor-2',3'-didesoxy-cytidin**

Aus 4 mMol 5'-O-Acetyl-5-brom-3'-chlor-2',3'-didesoxy-uridin wird analog der im 3. Beispiel angegebenen Verfahrensweise die Titelverbindung hergestellt und als Hydrochlorid isoliert. Ausbeute 185 mg (15%).

MS: m/z 324 (M⁺, C₉H₁₁N₃O₃BrCl);
148 (Base + H, C₄H₄OBr);
135 (Zuckerrest, C₅H₈O₂Cl).

6. Beispiel**Darstellung von 2',3'-Didehydro-2',3'-didesoxy-5-methylcytidin**

5,5 g (11,3 mMol) 4-N-Benoyl-2'-desoxy-3',5'-di-O-mesyl-cytidin werden in 350 ml Ethanol gelöst. Unter Rühren werden 37,5 ml 1 n NaOH und 87 ml Wasser hinzugefügt. Die Reaktionslösung wird 2 Std. zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird zur Trockne eingedunstet und der resultierende Rückstand mit heißem Aceton (5 × 50 ml) extrahiert. Das Lösungsmittel wird i. Vak. entfernt. Es verbleibt ein gelbes Öl, das in 30 ml DMSO gelöst und mit 1,2 g (10,8 mMol) Kalium-tert.-Butylat versetzt wird. Das Gemisch wird 20 Std. bei Raumtemperatur belassen. Anschließend wird das DMSO weitgehend abdestilliert, den Rückstand in Wasser gelöst und mit Essigsäure auf pH 8 bis pH 9 gebracht. Der nach dem Vertreiben des Lösungsmittels resultierende Rückstand wird säulenchromatographisch an Kieselgel 40 (MERCK) mit Chloroform (10% Methanol) als Elutionsmittel gereinigt.

UV (H₂O) pH 7 max 278 nm;
pH 1 max 289 nm.

MS: m/z 223 (M⁺, C₆H₇N₃O).