



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(51) Int Cl⁷

(11) 316688

(13) B1

C 07 D 487/22 , A 61 K 31/555

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20003411	(86)	Innt.inng.dag og søknadsnr	1998.12.30 PCT/US98/27857
(22)	Inng.dag	2000.06.29	(85)	Videreføringsdag	2000.06.29
(24)	Løpedag	1998.12.30	(30)	Prioritet	1997.12.30, US, 581
(41)	Alm.tilgj	2000.08.14			
(45)	Meddelt	2004.04.05			
(71)	Søker	The University of Akron, 302 East Buchtel Avenue, Akron, OH 44325, USA			
(72)	Oppfinner	Joseph A Bauer, , Akron, OH, USA			
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, OSLO, 0104, Norge			
(54)	Benevnelse	Komplekser av metallocorrinoider og nitrogenoksid, fremstilling derav, anvendelse derav for fremstilling av medikament og sammensetning omfattende kompleksene			
(56)	Anførte publikasjoner	Ingen			
(57)	Sammendrag				

Et rensset kompleks av et metallocorrinoid, så som en vitamin B₁₂ forbindelse, og et farmakologisk middel, så som nitrogenoksid, som er i stand bi sete-spesifikk avlevering av det farmasøytiske middelet in vivo er beskrevet. Det farmakologiske middelet bindes til metallocorrinoidet i et ikke-donerende, oppløsningsmiddel. Komplekset resuspenderes deretter i et biokompatibelt medium og innføres i mottageren. Det farmakologiske middelet frigis så in vivo, spesielt under sure betingelser.

Foreliggende oppfinnelse omhandler fremgangsmåter for fremstilling av et metallkompleks av et metalloccorinoid og nitrogenoksid, anvendelse av et slikt kompleks, forbindelser med generell formel (I) og sammensetninger som omfatter slike komplekser.

Et behov for steds-spesifikk avlevering av farmakologiske midler er velkjent innen mange felter av medisin. Når det for eksempel anvendes kjemoterapeutiske midler er et hovedanliggende deres toksisitet overfor celler som ikke er målceller. Følgelig er en steds-spesifikk bærer påkrevet som vil avlevere et slikt kjemoterapeutisk middel som er i stand til å avlive målceller uten å avlive omgivende friske celler.

Nitrogenoksid (NO) er et godt kjemoterapeutisk middel fordi intracellulære konsentrasjoner av NO er vist å være nedbrytende for tumorceller. I tillegg har NO vist potensielle fordeler ved post-arteriosklerose behandling, sårheling, impotensbehandling, og andre behandlinger. Steds-spesifikk avlevering er imidlertid ofte medisinsk foretrukket fordi mange farmakologiske midler, så som NO, kan være toksiske.

Sårhelingsprosessen er en komplisert orkestrering av en serie av fysiologiske responser, innbefattende en inflammatorisk respons, angiogenese, utviklingen av fibrøst vev, og reepitelisering La Van et al., *Wound Healing*, 17 (3):463 (1990). NO er både direkte og indirekte involvert i hver av disse fysiologiske prosessene. Vitamin B₁₂ er også kjent for å fremme sårheling.

Vitamin B₁₂ forbindelser er naturlig forekommende, ikke-immunogene, ikke-toksiske vitaminer som er til stede i det menneskelige legemet. Vitamin B₁₂ forbindelser er kjent for å ha mange biologiske funksjoner. De er for eksempel påkrevet ved enzymet metionin syntase, som er innbefattet i produksjonen av DNA. Gravidt kvinner trenger økede mengder av B₁₂ som er innbefattet i produksjonen av røde blodceller. Det antas også at vitamin B₁₂ fremmer effekten av andre vitamin og næringsmidler ved vevsreparasjon.

I dag har polymere NONOater voksende popularitet som mulige NO donorer, fordi de er i stand til å opprettholde forhøyede nivåer av NO in vivo over forlengede tidsrom. Mange polymere NONOater kan imidlertid være toksiske. Etter nitrogenoksidfrigivelse nedbrytes disse polymerene, hvilket ofte forårsaker en inflammatorisk respons og andre negative vevsreaksjoner.

En annen ulempe ved konvensjonelle NO donorer er at de er begren-
sede med hensyn til tilstanden hvorunder de kan anvendes. Disse donorene
frigir generelt NO uten spesifisitet under fysiologiske betingelser; følgelig frigir
de NO så snart de trer inn i legemet. Det foreligger derfor et behov for steds-
5 spesifikke, biologisk kompatible donorer av NO som har mindre skadelige bi-
virkninger.

Metallcorrinoider er corrinringer med et metallatomsenter, så som Co,
Fe, Ni eller Mn. En corrinring er 4 reduserte pyrolringer sammenbundet som
vist i figur 1. En underklasse av naturlig forekommende metallcorrinoider som
10 finnes i det humane legemet er et kobalamin, dvs. en kobolt-sentrert corrin-
ring. Mange kobalaminer relatert til vitamin B₁₂ forbindelser er en underklasse
av kobalamin som omfatter hydroksokobalamin, cyanokobalamin, nitrokobal-
amin, metylkobalamin og 5'-deoksyadenokobalamin.

Det er generelt kjent at NO bindes til kobalamin. Hittil har det vært for-
15 søkt å anvende et kobalamin, så som hydroksokobalamin, som et rense-
middel for NO. For eksempel beskriver PCT søknad WO95/31204 (Greenburg et
al.) en prosess hvorved hydroksokobalamin adheres til et NO-rikt sete in vivo.
Hydroksokobalamin binder deretter NO, for derved å redusere konsentrasjo-
nen av potensielt skadelig NO ved stedet. Hittil har imidlertid nitrocylkobalamin
20 ikke blitt syntetisert, isolert, rensset eller anvendt for å avlevere NO.

Det er et formål ved foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe en frem-
gangsmåte for å syntetisere et metallcorrinoid-NO kompleks.

Det er nok et formål ved foreliggende oppfinnelse å tilveiebringe en an-
vendelse av metallcorrinoid-NO komplekset i fremstillingen av et medikament
25 for steds-spesifikk avlevering av NO.

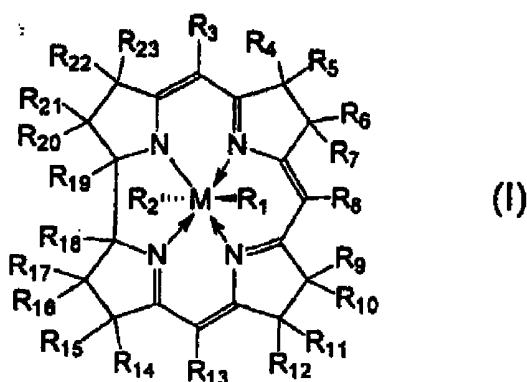
Det er ytterligere et formål ved foreliggende oppfinnelse å oppnå et
kompleks med den generelle formel (I).

Det er enda et ytterligere formål ved foreliggende oppfinnelse å oppnå
en sammensetning som omfatter metallocorrinoid-NO komplekset ifølge opp-
30 finnelsen og et oppløsningsmiddel.

Minst en eller flere av de ovenfornevnte hensiktene, sammen med for-
delene derav overfor den kjente teknikken vedrørende donorer av farmako-

logiske midler, som vil bli åpenbar fra beskrivelsen som følger, oppnås ved hjelp av oppfinnelsen som beskrevet og krevet i det følgende.

Generelt tilveiebringer foreliggende oppfinnelse et kompleks av et metallocorrinoide og nitrogenoksid som er i stand til steds-spesifikk avlevering av nitrogenoksidet in vivo, omfattende et kompleks som har den generelle formelen:



hvor M er et metallatom valgt fra gruppen bestående av Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu og Zn

- hvor R_1 - R_{23} er enheter uavhengig valgt fra gruppen bestående av, hydrogen, alifatiske grupper inneholdende fra 1 til 30 karbonatomer, heteroatomer, eller kombinasjoner derav, hvor minst en av R_1 og R_2 er en godt avspaltbar gruppe;

- oppløsning av metallocorrinoide i et oppløsningsmiddel og eksponering av nevnte oppløste metallocorrinoide mot nitrogenoksid slik at den godt avspaltbare gruppen fjernes og nitrogenoksid blir bundet til metallocorrinoide isteden for den godt avspaltbare gruppen;

- hvor nitrogenoksid ikke frigis fra metallocorrinoide under fysiologiske betingelser; og

- hvor nitrogenoksidet frigis fra metallocorrinoide under sure betingelser; og

- hvor trinnet med oppløsning av metallocorrinoide i et løsningsmiddel og eksponering av det oppløste metallocorrinoide mot nitrogenoksid utføres in vitro.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer videre en fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallcorrinoid og NO, omfattende trinnene med tilveiebringelse av metallcorrinoidet, NO, og et ikke-donor oppløsningsmiddel som fortrinnsvis også er apolart og aprotisk; det bevirkes kontakt mellom metallcorrinoidet, NO og oppløsningsmidler slik at NO blir utløsbart bundet til metallcorrinoidet; og eliminering av oppløsningsmiddelet, for eksempel ved fordampning. Som eksempel kan oppløsningsmiddel være metylenklorid, diklorethan, heksan, karbontetraklorid, benzen, kloroform eller kombinasjoner derav. Oppløsningsmiddelet kan fortrinnsvis være metylenklorid.

I en ytterligere utførelsesform omfatter foreliggende oppfinnelse en fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoid og et farmakologisk middel hvori R_3 , R_5 , R_6 , R_8 , R_9 , R_{10} , R_{12} , R_{13} , R_{14} , R_{16} , R_{18} , R_{19} , R_{20} og R_{22} uavhengig er valgt fra gruppen bestående av hydrogen og en alkylgruppe inneholdende fra 1 til 3 karbonatomer, R_4 , R_{11} , R_{17} og R_{21} er uavhengig valgt fra gruppen bestående av et amid eller en karboksylsyre inneholdende fra 1 til 4 karbonatomer, R_7 og R_{23} er uavhengig valgt fra gruppen bestående av et amid eller en karboksylsyre inneholdende fra 1 til 5 karbonatomer, og R_{15} er en ring bundet til R_2 slik at $R_{15} - R_2$ er 1- α -D ribofuranosyl-5,6-dimetylbenzoimidazol-3-fosfat.

R_1 kan være valgt fra gruppen bestående av metyl, cyano, hydroksyl, aqua og 5'-deoksyadenosyl.

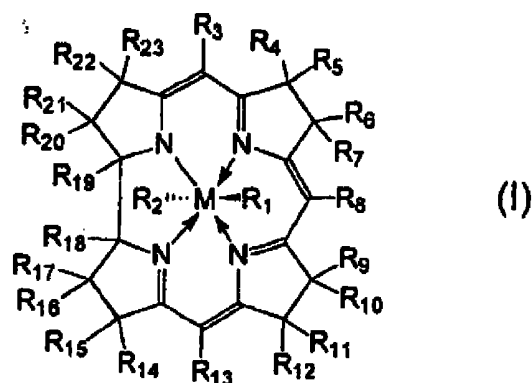
Den elektrondonerende gruppen kan velges fra gruppen bestående av forbindelser med minst en nukleofil enhet.

Fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen kan videre omfatte trinnet med eliminering av oppløsningsmiddelet.

I et ytterligere aspekt omhandler oppfinnelsen en anvendelse av et kompleks som kan oppnås ved fremgangsmåten ifølge oppfinnelsen, i fremstillingen av et medikament for steds-spesifikk avlevering av NO in vivo. Medikamentet kan anvendes for kjemoterapi, post-arteriosklerose terapi, sårhelbredelse eller impotensterapi.

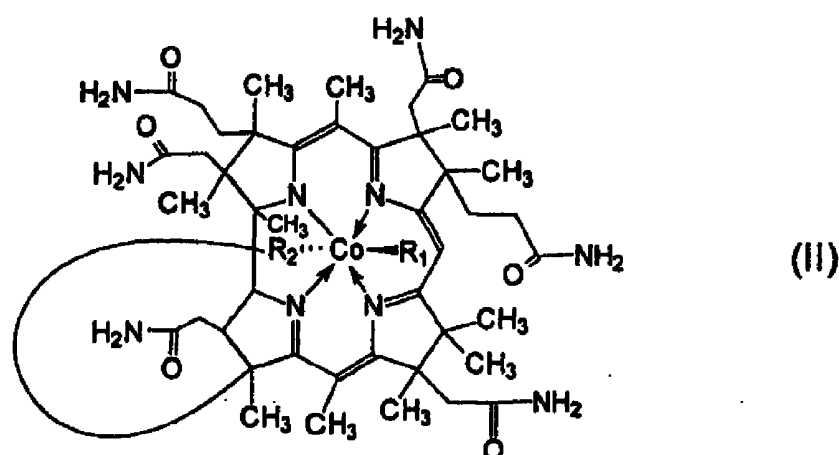
I enda et ytterligere aspekt omhandler oppfinnelsen en forbindelse, som omfatter:

et kompleks som har den generelle formelen (I):



- hvori M er et overgangsmetall valgt fra gruppen bestående av Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu og Zn;
- R_1 er nitrogenoksid bundet til M under fysiologiske betingelser, hvori R_2 er valgt fra gruppen bestående av en forbindelse som har en elektrondone-
 5 rende gruppe, hvori $R_3 - R_{23}$ hver uavhengig er valgt fra gruppen bestående av hydrogen, alifatiske grupper inneholdende fra 1 til ca. 30 karbonatomer, heteroatomer, eller kombinasjoner derav, aromatiske grupper inneholdende fra 1 til ca. 30 karbonatomer, heteroatomer, nitrogenoksid eller kombinasjoner
 10 derav.

I en utførelsesform er komplekset som har formel (I) videre definert ved den generelle formelen:



- hvori R_1 er nitrogenoksid bundet til kobolt ved hjelp av en elektrondone-
 15 rende gruppe under fysiologiske betingelser;
- hvori R_2 er en enhet valgt fra gruppen bestående av alifatiske grupper inneholdende 0 til 20 karbonatomer, heteroatomer eller kombinasjoner derav,

aromatiske grupper inneholdende 0 til 20 karbonatomer, heteroatomer eller kombinasjoner derav og nitrogenoksid (NO); og

- hvori R_2 har minst én elektrondonerende gruppe.

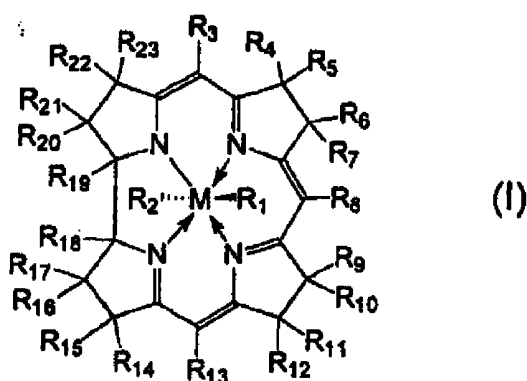
I en spesielt foretrukket utførelsesform er den forbindelsen med formel (II) kjennetegnet ved at R_2 er 1- α -D ribofuranosyl-5,6-dietelbenzimidazol-3-fosfat.

I et ytterligere aspekt omhandler av oppfinnelsen en sammensetning, som omfatter forbindelsen med formel (II) og et oppløsningsmiddel, hvori oppløsningsmiddelet er ikke-donerende. Oppløsningsmiddelet kan være metylenklorid.

Figur 1 er den generelle strukturen av en corrinring.

Figur 2 viser frigivelsesprofiler av NO fra et NO-kobalaminkompleks ved varierende pH og temperatur.

Det er nå funnet at et biologisk kompatibelt metallocorrinoid, som virker som en bærer, kan belegges med et farmakologisk middel in vitro, deretter innføres in vivo og frigis. Metallocorrinoider er forbindelser inneholdende en corrinring som har ett overgangsmetallsentrum, som vist i formel I:



Det antas at en metallocorrinoidbærer ifølge foreliggende oppfinnelse er mest biologisk kompatibel når R_3 - R_{23} er uavhengig valgt fra gruppen bestående av hydrogen eller organiske enheter bestående av alifatiske (lineære eller sykliske) eller aromatiske grupper inneholdende fra 1 til ca. 30 karbonatomer. De organiske enhetene kan inneholde heteroatomer, så som nitrogen, svovel, oksygen eller fosfor.

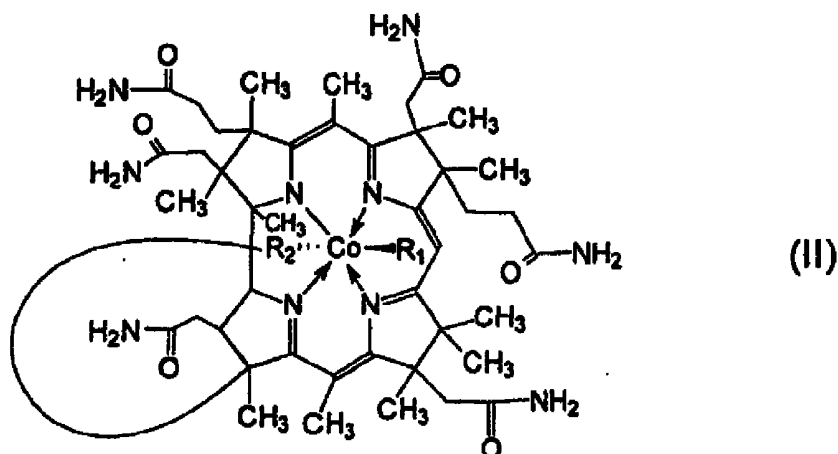
Fortrinnsvis er R_4 , R_7 , R_{11} , R_{17} , R_{21} og R_{23} amider inneholdende fra ett til ca. 7 karbonatomer. Mer foretrukket er R_4 , R_{11} , R_{17} og R_{21} terminale amider med fra 1 til ca. 4 karbonatomer, og R_7 og R_{23} er terminale amider med fra 1 til 5 karbonatomer. R_{15} er fortrinnsvis en analog av 1- α -D ribofuranosyl-5,6-dimetylbenzimidazoly-3-fosfat.

R_1 og R_2 er fortrinnsvis gode avspaltbare grupper, fordi disse setene er foretrukne lastesetere for den farmakologiske forbindelsen som skal bæres. Det antas at disse setene er foretrukne fordi det er mindre sterisk hindring og fordi metallbindingene er svakere enn bindingene til corrinringene. Mer foretrukket er minst R_1 en god avspaltbar gruppe fordi det er det mest foretrukne substitusjonssete. Med "god avspaltbar gruppe" menes at ved anvendelse av kjente teknikker og uten omfattende eksperimentering vil en gjennomsnittlig fagman kunne oppnå et høyt nivå av substitusjon for denne gruppen med en nukleofil.

M er et overgangsmetall valgt fra gruppen bestående av Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, og Zn. Fortrinnsvis er M valgt fra gruppen bestående av Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu og Zn, mer foretrukket er M Fe, Co, Ni eller Mn, og mest foretrukket er M Co.

R_1 og R_2 er vist i henholdsvis β og α posisjonene; R_1 strekker seg mot leseren, perpendikulært på den i det vesentlige plane ringen, og R_2 strekker seg bort fra leseren. R_1 og R_2 kan være identiske eller forskjellige enheter. Størrelsen og naturen av R_1 eller R_2 er begrenset bare av dens interferens i affiniteten mellom corrinringen og en reseptor av corrinringer eller ved dens effekt på biologisk kompatibilitet.

I en foretrukket utførelsesform er metallocorrinoidet ifølge foreliggende oppfinnelse et kobalamin. Kobalaminer kan generelt representeres ved formel II.



hvor R_1 er nitrogenoksid bundet til kobolt ved hjelp av en elektrondone-
rende gruppe under fysiologiske betingelser,

hvor R_2 er en enhet valgt fra gruppen bestående av alifatiske grupper
inneholdende fra 0 til 20 karbonatomer, heteroatomer eller kombinasjoner
derav, aromatiske grupper inneholdende fra 0 til 20 karbonatomer, heteroato-
mer eller kombinasjoner derav; og

hvor R_2 har minst en elektrondonerende gruppe.

I en utførelsesform av foreliggende oppfinnelse belegges NO på forbin-
delsen vist i formel I. "Belegging" som anvendt her, refererer til substitusjoner
av et farmakologisk middel for en eller flere av de kjemiske gruppene knyttet til
et metalloccorrinoid. Uten at man ønsker å være bundet til noen spesiell teori
antas det at NO fortrinnsvis vil substituere for R_1 , mindre ofte for R_2 , og langt
mindre ofte ved andre seter, så som terminale amider. Dersom metalloccorri-
noidet er et kobalamin så vil beleggingen av NO i R_1 stillingen, under dan-
nelse av nitrosylkobalamin, sannsynligvis finne sted.

Under sure betingelser in vivo, så som lysozymer eller endosymer, fri-
gis det farmakologiske middelet raskest fra metalloccorrinoidet, sannsynligvis
ved et oksiderende middel, så som en Lewis syre. Fortrinnsvis inneholder se-
tet for NO frigivelse celler med B_{12} reseptorer. Avhengig av den ønskede an-
vendelsen kan imidlertid affinitet til reseptorene være nødvendige.

Etter belegging av NO til en metalloccorrinoidbærer avleveres bæreren
til et sete in vivo, for eksempel ved injeksjon, topisk påføring eller ved hjelp av
implanterbare pumper. Avhengig av de fysiologiske betingelsene vil NO frigis

fra bæreren ved forskjellige hastigheter. Figur 2 viser frigivelsesprofilen for NO fra nitrosylkobalamin ved 32°C, pH 4,9 og ved 37°C (innsats), pH 7,4, 6,0 eller 5,0. Ved frigivelse av NO in vivo antas det at molekylet vist i formel II vender tilbake til hydroksokobalamin eller aquakobalamin eller forblir som et redusert kobalamin.

Anvendelse av et kompleks ifølge oppfinnelsen for fremstillingen av et medikament for sete-spesifikk avlevering av NO gir et medikament som kan anvendes for forskjellige behandlinger, innbefattende kjemoterapi, post-arterioskleroseterapi, sårheling og behandling av impotens. For eksempel kan et kompleks av vitamin B₁₂ og et kjemoterapeutisk middel, så som NO, være effektive ved behandlingen av visse typer kreft, spesielt de som bygger på vitamin B₁₂ i celler på celleproliferasjonsprosessen, ved å frigi toksiske doser av NO inne i cellen. Videre er foreliggende oppfinnelse spesielt velegnet for farmasøytisk avlevering til leukemiceller fordi lysozymer har en pH på ca. 5, og det er antatt at leukemiceller anvender en lysosomal-cellulær reseptorvei. Tilsvarende er foreliggende oppfinnelse spesielt velegnet for andre B₁₂ veier omfattende lysozymer, endosymer eller andre sure betingelser. Kjøttår har for eksempel typisk en pH som varierer fra ca. 4 til ca. 6.

Arteriosklerose er en tilstand hvorved et blodkar er i det minste delvis blokkert og blodstrømmen redusert. Følgelig er en implantert innretning som har en NO donor ifølge foreliggende oppfinnelse tilknyttet mer effektiv fordi frigivelsen av NO forårsaker vasodilatering, for derved å tilveiebringe en langvarig dilatert tilstand eller forhindre akkumuleringen av plakk eller gjeninntreden av blokkering. NO donoren ifølge foreliggende oppfinnelse er egnet for denne anvendelsen av denne ytterligere grunnen at den har en lang halveringstid, og derved tilveiebringer langvarig frigivelse. Nitrosylkobalamin har for eksempel en 210 timers halveringstid in vitro ved pH 5. In vivo halveringstiden kan justeres ved å endre pH eller ved å anvende andre salter av kobalaminene eller forskjellige substituenten, for derved å kontrollere NO frigivelse.

EKSPERIMENTELL DEL:

500mg prøver av hydroksokobalamin, et acetatsalt og et saltsyresalt oppnådd fra Sigma Chemical Co (St. Louis, MO), ble hver oppløst i 100ml

metylenklorid for å fremstille 5mg/ml oppløsninger. Prøvene av hydroksokobalamin ble eksponert mot NO gass i et mørkt lukket system ved romtemperatur i minst 10 dager ved 100 psig (790,9 kPa), som beskrevet av Shabani et al., *Wound Repair Regen.* 4(3):353 (1996), innbefattet heri som henvisning.

Systemet ble spylt daglig for NO gass ved å anvende nitrogen og prøvene ble igjen eksponert mot friskt NO gass i minst 1 time ved 100 psig (790,9 kPa). Systemet forble ved 100 psig (790,9 kPa) etter NO eksponering. Etter en observerbar fargeendring (10 dager) ble metylenkloridet fjernet ved å anvende rotasjonsfordampning og ca. 450mg av et fast produkt ble samlet og lagret ved -6°C .

Før NO eksponering var acetatsaltet mørkt rødt av farge og hydrokloridsaltet var fiolett. Ved fullførelse av reaksjonen med NO ble begge salter klart oransje, hvilket indikerer en reduksjon av Co^{3+} av det opprinnelige hydroksokobalaminet til Co^{2+} etter binding av NO, til kobolt, for å danne nitrosylkobalamin. Dette ble bekreftet ved UV/VIS spektroskopi og IR spektroskopi.

Oppløseligheten av acetatsaltet og hydrokloridsaltet av hydroksokobalamin etter NO eksponering var betydelig forskjellige. Acetatnitrosylkobalamin donoren var lett oppløselig i destillert vann, mens hydrokloridnitrosylkobalamin donoren var betydelig mindre oppløselig. Det ansees at det ved omhyggelige valg av et salt av nitrosylkobalaminet kan hastigheten for NO frigivelse justeres for å oppfylle behovene ved spesifikke biomedisinske anvendelser uten å endre den kjemiske oppbygningen av nitrosylkobalaminet.

Substitusjonen av hydroksylgruppen i β -stillingen, for eksempel, med en NO gruppe på hydroksokobalamin fører til dannelsen av nitrosylkobalamin. Tilsvarende kan nitrosylkobalamin dannes ved substitusjon av andre ligander i β -stillingen, så som cyano i cyanokobalamin.

Nitrogenoksidinnholdet og kinetisk frigivelsesprofil, vist i figur 2, av nitrosylkobalamin ble bestemt in vitro ved å anvende en analyseringsinnretning for nitrogenoksider (Monitor Labs Model 8448). Mengden av NO-"belegging" ble bestemt ved å undersøke den kumulative NO frigivelsen, karakterisert ved pH 4,9, 32°C , under et tidsrom på 675,5 timer. Det teoretiske NO frigitt var 4,610 nanomol NO, 38% belegging basert på det teoretiske maksimum på 11,890 nmol. De første 20 timene av NO frigivelse ble karakterisert i større

detalj, med dataavlesninger tatt hver 15 minutt i de første 8 timene og hver halvtime deretter, hvilket resulterte i produksjonen av 260 nmol NO. Den kumulative NO frigivelsesprofilen fulgte første ordens kinetikk ($R^2 = .9984$) med en beregnet halveringstid på 210 timer. pH avhengighet ble fastslått ved å sammenligne 5g prøver av nitrosylkobalamin ved pH 5,0, 6,0 og 7,4 (37°C) over et 86 timers tidsrom hvilket ga henholdsvis 95,09, 2,4 og 1,05 nmol NO. Ved pH 10,0 var NO frigivelse udetektert selv om prøvestørrelsen ble øket til 20,6mg.

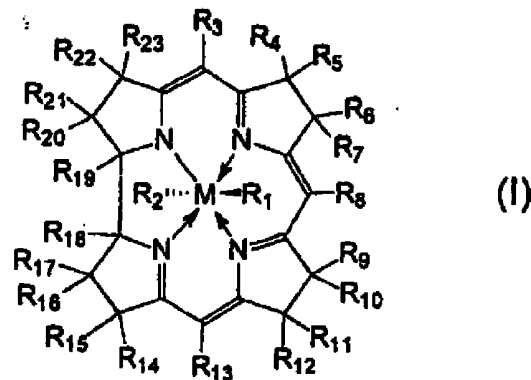
Basert på den foregående beskrivelsen bør det være klart at anvendelsen av sammensetningen og fremgangsmåten som her er beskrevet vil oppfylle formålene angitt ovenfor. Det vil også være åpenbart for fagmannen at fremgangsmåten ifølge foreliggende oppfinnelse kan utføres for å avlevere en farmakologisk forbindelse.

PATENTKRAV

1. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metalloccorinoid og nitrogenoksid,

karakterisert ved at den omfatter trinnene:

- tilvelebringelse av et metalloccorinoid, med formelen (I):



hvor M er et metallatom valgt fra gruppen bestående av Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, og Zn;

- hvor R_1 - R_{23} er enheter uavhengig valgt fra gruppen bestående av hydrogen, alifatiske grupper inneholdende fra 1 til 30 karbonatomer, heteroatomer, eller kombinasjoner derav, hvor minst en av R_1 og R_2 er en godt avspaltbar gruppe;

- oppløsning av metalloccorinoidet i et oppløsningsmiddel og eksponering av nevnte oppløste metalloccorinoid mot nitrogenoksid slik at den godt avspaltbare gruppen fjernes og nitrogenoksid blir bundet til metalloccorinoidet isteden for den godt avspaltbare gruppen:

- hvori nitrogenoksid ikke frigis fra metalloccorinoidet under fysiologiske betingelser; og
- hvori nitrogenoksidet frigis fra metalloccorinoidet under sure betingelser; og
- hvori trinnet med oppløsning av metalloccorinoidet i et løsningsmiddel og eksponering av det oppløste metalloccorinoidet mot nitrogenoksid utføres in vitro.

2. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoid og et farmakologisk middel ifølge krav 1,

karakterisert ved at $R_3, R_5, R_6, R_8, R_9, R_{10}, R_{12}, R_{13}, R_{14}, R_{16}, R_{18}, R_{19}, R_{20}$ og R_{22} uavhengig er valgt fra gruppen bestående av hydrogen og en alkylgruppe inneholdende fra 1 til 3 karbonatomer, R_4, R_{11}, R_{17} og R_{21} er uavhengig valgt fra gruppen bestående av et amid eller en karboksylsyre inneholdende fra 1 til 4 karbonatomer, R_7 og R_{23} er uavhengig valgt fra gruppen bestående av et amid eller en karboksylsyre inneholdende fra 1 til 5 karbonatomer, og R_{15} er en ring bundet til R_2 slik at $R_{15} - R_2$ er 1- α -D ribofuranosyl-5,6-dimetylbenzoimidazol-3-fosfat.

3. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoid og et nitrogenoksid ifølge krav 2,

karakterisert ved at R_1 er valgt fra gruppen bestående av metyl, cyano, hydroksyl, aqua og 5'-deoksyadenosyl.

4. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoid og nitrogenoksid ifølge krav 1,

karakterisert ved at oppløsningsmiddelet er ikke-donerende.

5. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoid og nitrogenoksid ifølge krav 1,

karakterisert ved at oppløsningsmiddelet kan velges fra gruppen bestående av metylenklorid, dikloreten, heksan, karbontetraklorid, benzen og kloroform.

6. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoid og nitrogenoksid ifølge krav 1,

karakterisert ved at oppløsningsmiddelet er metylenklorid.

7. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoid og nitrogenoksid ifølge krav 1,

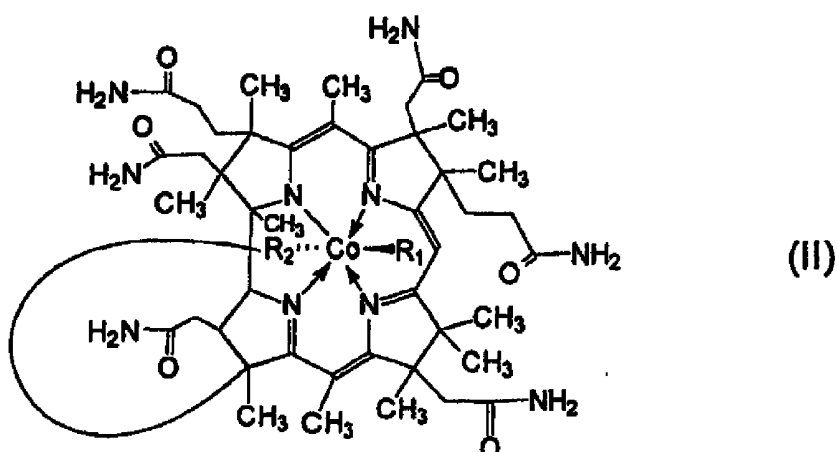
karakterisert ved at metallocorrinoide har et metallatom valgt fra gruppen bestående av Fe, Co, Ni og Mn.

8. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoide og nitrogenoksid ifølge krav 1,

karakterisert ved at metallocorrinoide har et Co atom.

9. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoide og nitrogenoksid ifølge krav 1,

karakterisert ved at metallocorrinoide har følgende struktur:



- hvori R_1 er nitrogenoksid bundet til kobolt ved hjelp av en elektrondonerende gruppe under fysiologiske betingelser;
- hvori R_2 er en enhet valgt fra gruppen bestående av alifatiske grupper inneholdende fra 0 til 20 karbonatomer, heteroatomer, eller kombinasjoner derav, aromatiske grupper inneholdende fra 0 til 20 karbonatomer, heteroatomer, eller kombinasjoner derav, og nitrogenoksid; og
- hvori R_2 har minst én elektrondonerende gruppe.

10. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metallocorrinoide og nitrogenoksid ifølge krav 9,

karakterisert ved at den elektrondonerende gruppen kan velges fra gruppen bestående av forbindelser med minst en nukleofil enhet.

11. Fremgangsmåte for fremstilling av et kompleks av et metalloccorrinoid og nitrogenoksid ifølge krav 9, karakterisert ved at den videre omfatter trinnet med eliminering av oppløsningsmiddelet.

5

12. Anvendelse av et kompleks som kan oppnås ved fremgangsmåten ifølge krav 1 i fremstillingen av et medikament for sete-spesifikk avlevering av nitrogenoksid in vivo.

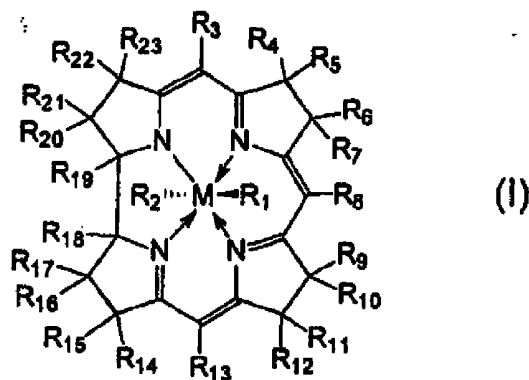
10

13. Anvendelse ifølge krav 12 i fremstillingen av et medikament for kjemoterapi, post-arteriosklerose terapi, sårhelbredelse eller impotensterapi.

14. Forbindelse, karakterisert ved at den omfatter:

15

et kompleks som har den generelle formelen (I):



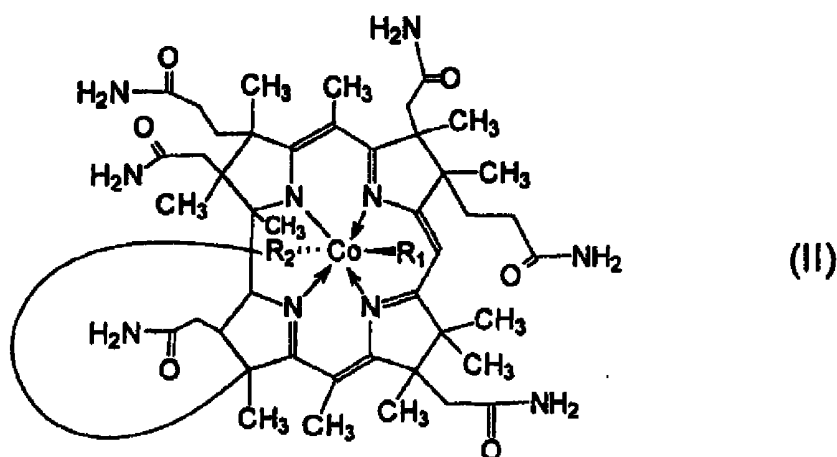
- hvori M er et overgangsmetall valgt fra gruppen bestående av Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu og Zn;

20

- R₁ er nitrogenoksid bundet til M under fysiologiske betingelser, hvori R₂ er valgt fra gruppen bestående av en forbindelse som har en elektrondone-
rende gruppe, hvori R₃ – R₂₃ hver uavhengig er valgt fra gruppen bestående av hydrogen, alifatiske grupper inneholdende fra 1 til ca. 30 karbonatomer, heteroatomer, eller kombinasjoner derav, aromatiske grupper inneholdende fra 1 til ca. 30 karbonatomer, heteroatomer, nitrogenoksid eller kombinasjoner derav.

25

15. Forbindelse ifølge krav 14,
 karakterisert ved at komplekset som har formel (I) videre er defi-
 nert ved den generelle formelen:



- hvori R_1 er nitrogenoksid bundet til kobolt ved hjelp av en elektrondone-
 rende gruppe under fysiologiske betingelser;
- hvori R_2 er en enhet valgt fra gruppen bestående av alifatiske grupper
 inneholdende 0 til 20 karbonatomer, heteroatomer eller kombinasjoner derav,
 10 aromatiske grupper inneholdende 0 til 20 karbonatomer, heteroatomer eller
 kombinasjoner derav og nitrogenoksid (NO); og
- hvori R_2 har minst én elektrondonerende gruppe.

16. Forbindelse ifølge krav 15,
 15 karakterisert ved at R_2 er 1- α -D ribofuranosyl-5,6-dietelbenzimidazoyl-3-fosfat.

17. Sammensetning,
 karakterisert ved at den omfatter forbindelsen ifølge krav 15 og et
 20 oppløsningsmiddel, hvori oppløsningsmiddelet er ikke-donerende.

18. Sammensetning ifølge krav 17,
 karakterisert ved at oppløsningsmiddelet er metylenklorid.

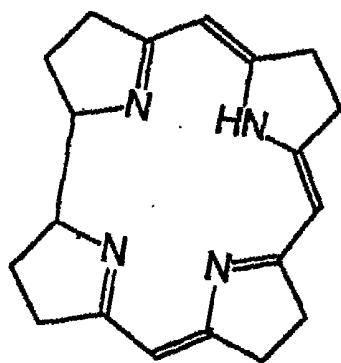
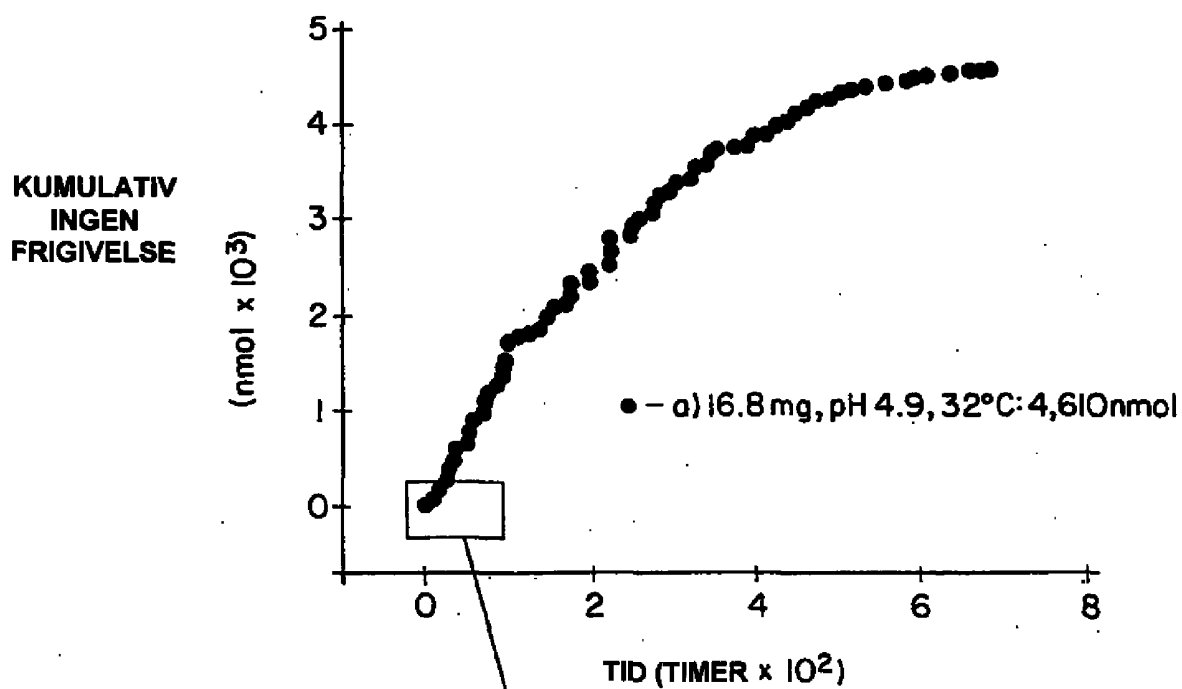


Fig. 1



KUMULATIV
INGEN
FRIGIVELSE
(nmol)

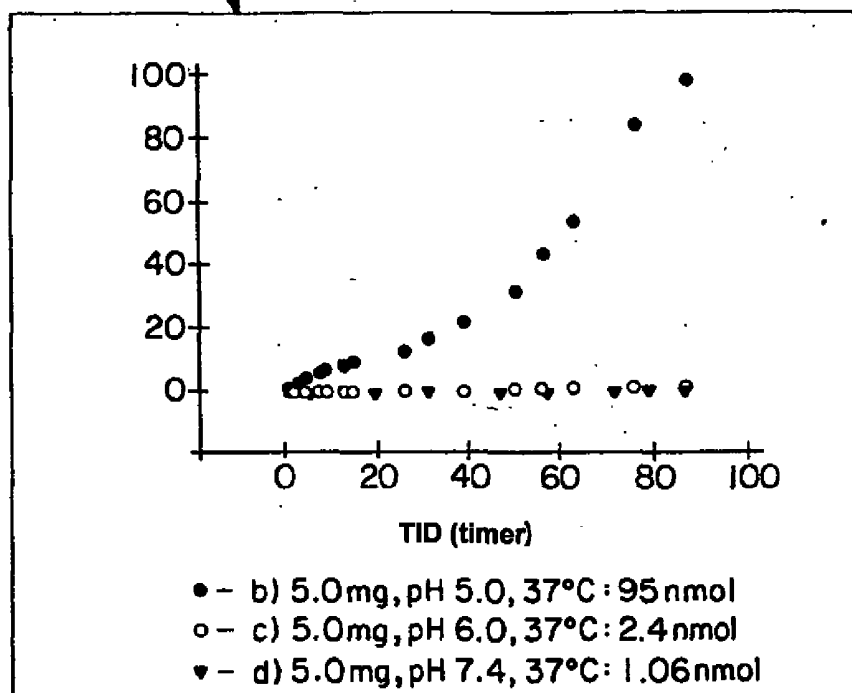


FIG.-2