(19) DANMARK

(12) **PATENTSKRIFT** (11) **168323 B1**

Patentdirektoratet
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: **1699/91**
(22) Indleveringsdag: **04 okt 1991**
(24) Løbedag: **14 dec 1987**
(41) Alm. tilgængelig: **04 okt 1991**
(45) Patentets meddelelse bkg. den: **14 mar 1994**
(86) International ansøgning nr.: -
(62) Stamansøgning nr.: **6542/87**
(30) Prioritet: **15 dec 1986 GB 8629892**

(51) Int.Cl.5 **A 61 K 31/70**
C 07 H 19/06

(73) Patenthaver: **The *Wellcome Foundation Limited; 183-193 Euston Road; London NW1 2BP, GB**
(72) Opfinder: **Saad George *Rahim; GB, Dorothy Jane Martin *Purifoy; GB**

(74) Fuldmægtig: **Internationalt Patent-Bureau**

(54) **Anvendelse af visse pyrimidinnucleosider til fremstilling af et lægemiddel mod VZV-infektioner; hidtil ukendte pyrimidinnucleosider, sådanne forbindelser til anvendelse i human terapi samt fremgangsmåde til fremstilling af forbindelserne**

(56) Fremdragne publikationer

Andre publikationer: J. Med. Chem., 1983, vol. 26, no. 5, side 661-666

(57) Sammendrag:

1699-91

Visse 5-substituerede pyrimidinnukleosider og farmaceutisk acceptable derivater deraf og deres anvendelse ved behandling af og profylakse for infektioner med varicella zostervirus, cytomegalovirus og Epstein Barr virus. Forbindelserne fremstilles ved forskellige fremgangsmåder. De indgår i farmaceutiske præparater.

Opfindelsen angår anvendelse af visse pyrimidinnucleosider, samt farmaceutisk acceptable salte, estere og salte af sådanne estere deraf, til fremstilling af et lægemiddel til behandling af eller profylakse for infektioner med varicella zoster virus. Opfindelsen angår endvidere hidtil ukendte pyrimidinnucleosider samt farmaceutisk acceptable salte, estere og salte af sådanne estere deraf, disse forbindelser til anvendelse ved human terapi, anvendelse af forbindelserne til fremstilling af et lægemiddel til behandling af eller profylakse for infektioner med varicella zoster virus samt endelig en fremgangsmåde til fremstilling af forbindelserne.

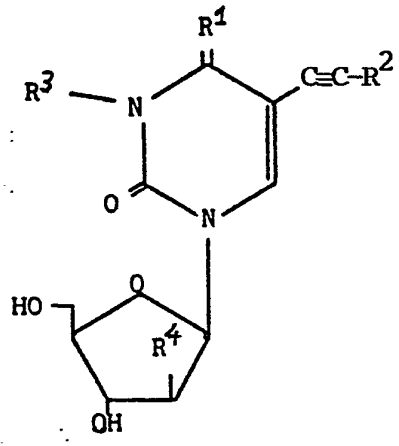
Blandt DNA vira er herpesgruppen kilden for de mest almindelige virale sygdomme hos mennesket. Gruppen består af herpes simplex virus (HSV), varicella zoster (VZV), cytomegalovirus (CMV) og Epstein-Barr virus (EBV).

Varicella zoster virus (VZV) er en herpesvirus, der medfører skoldkopper og helvedesild. Skoldkopper er den primære sygdom, forårsaget i en vært, der ikke har immunitet og er hos små børn sædvanligvis en mild sygdom, der er ejendommelig ved et blæret udslæt og feber. Helvedesild eller zoster er den tilbagevendende form for sygdommen, der forekommer hos voksne, der tidligere er blevet inficeret med varicella zoster virus. De kliniske tegn på helvedesild er især neuralgi og et blæreagtigt udslæt på huden, der er ensidigt, hvad angår fordelingen på huden. Hvis betændelsen spreder sig, kan det føre til paralyse eller kramper. Der kan forekomme coma, hvis hjernehinderne bliver påvirket. Hos patienter med defekt immunsystem kan VZV spredes med alvorlig eller endog dødelig udgang. Man må tage VZV alvorligt, når det drejer sig om patienter, der modtager immunundertrykkende medikamenter på grund af transplantationer eller til behandling af ondartet neoplasi, og det er en alvorlig komplikation hos AIDS-patienter på grund af deres svækkede immunsystem.

Fra DK patentansøgning nr. 3265/86 (almindeligt tilgængelig 11. januar 1989) kendes anvendelse af 2'-desoxy-5-ethynyluridin og dets farmaceutisk acceptable derivater ved behandling af eller profylakse for humane virusinfektioner, forårsaget af cytomegalovirus (CMV) eller varicella zoster virus (VZV).

Det er nu overraskende blevet fundet, at visse andre pyrimidinnucleosider med en umættet gruppe i 5-stillingen, er særligt værdifulde ved fremstilling af lægemidler til behandling af VZV infektioner. Disse forbindelser har foruden en god anti-VZV-aktivitet endvidere en lav toksicitet, som bestemt ved toksicitetseksperimenter på cellekulturer in vitro.

Opfindelsen angår derfor anvendelsen af pyrimidinnucleosider, som repræsenteres ved følgende almene formel (I):



(I)

hvori

R^1 betegner en oxo- eller iminogruppe;

R^2 betegner hydrogen eller en C_{1-2}alkylgruppe;

R^3 betegner hydrogen eller en benzoylgruppe, eventuelt substitueret med én eller flere halogen-, alkyl-, hydroxy- eller alkoxysubstituenter; og

R^4 betegner hydrogen eller en hydroxygruppe;

eller et farmaceutisk acceptabelt salt, ester, eller

salt af en sådan ester deraf, idet dog forbindelser undtages, hvor

(a) R^2, R^3 og R^4 hver for sig er hydrogen, og R^1 er en oxogruppe, samt hvor

(b) R^2 er methyl, R^3 er hydrogen, R^4 er hydroxy, og R^1 er en oxogruppe,

til fremstiling af et lægemiddel til behandling af eller profylakse for en infektion med varicella zoster virus.

Man bør bemærke, at forbindelser med formel (I) kan eksistere på tautomer form, når R^3 ikke betegner en acylgruppe.

De ovenfor nævnte pyrimidinnucleosider inkluderer som nævnt farmaceutisk acceptable derivater af sådanne forbindelser, dvs. et hvilket som helst farmaceutisk acceptabelt salt, ester eller salt af en sådan ester, heraf.

Fortrinsvis anvendes forbindelser, hvor

a) R^2 betegner hydrogen eller en methylgruppe;

b) R^3 er et hydrogenatom eller en benzoylgruppe; og/eller

c) R^4 betegner hydrogen, og R^2 betegner en methylgruppe, og især på grund af deres særlig kraftige anti-VZV-aktivitet

e) 2'-desoxy-5-ethynylcytidin

f) 2'-desoxy-5-(1-propynyl)uridin

g) 1-(β-D-arabinofuranosyl)-5-ethynyluracil

h) 1-(β-D-arabinofuranosyl)-5-ethynylcytosin;

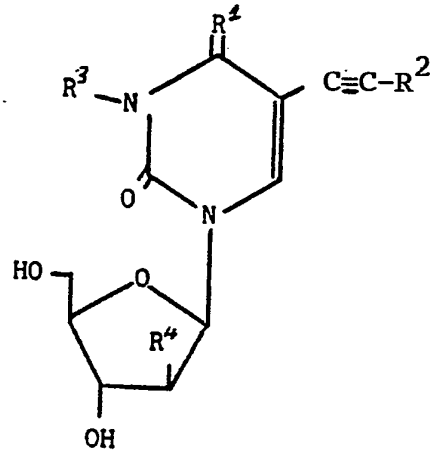
samt blandt derivater deraf, især diacetatet af forbindelse e).

Særlig foretrukne er forbindelserne f) og g) på basis af deres kraftige anti-VZV aktivitet.

Visse 5-substituerede nucleosider, især 2'-desoxy-5-ethynylcytidin, 2'-desoxy-5-(1-propynyl)uridin, 1-(β-D-arabinofuranosyl)-5-ethynyluracil, 1-(β-D-arabi-

nofuranosyl)-5-(1-propynyl)uracil og 1-(β-D-arabinofuranosyl)-5-ethynylcytosin, er tidligere blevet beskrevet i J. Med. Chem. (1983), 26(5), 661-6, J. Med. Chem. (1983), 26(9), 1262-7, Antimicrobial Agents Chemother, (1980), 17(6), 1030-1, Nucleic Acids Syms. Ser. (1981) 9, 103-6 og Biochem Pharmacol, (1983) (32(4), 726-9 med måledata for anden antiviral aktivitet af varierende styrke.

Imidlertid er en gruppe nu opdagede pyrimidinnucleosider med anti-VZV-aktivitet og lav toksicitet ikke nævnt i litteraturen, og disse hidtil ukendte pyrimidinnucleosider er ejendommelige ved, at de har den almene formel IB:



(I)B

hvori

R^1 betegner en oxo- eller iminogruppe;

R^2 betegner hydrogen eller en C_{1-2}alkylgruppe;

R^3 betegner hydrogen eller en benzoylgruppe, eventuelt substitueret med én eller flere halogen-, alkyl-, hydroxy- eller alkoxysubstituenter; og

R^4 betegner hydrogen eller en hydroxygruppe;

eller er et farmaceutisk acceptabelt salt, ester, eller salt af en sådan ester deraf, idet dog forbindelser undtages, hvor

(a) R^1 er imino, R^3 er hydrogen, og R^2 er hydrogen;

samt hvor

(b) R^1 er oxo og R^3 er hydrogen.

Af disse hidtil ukendte pyrimidinnucleosider foretrækkes ukendte nedennævnte forbindelser ifølge opfindelsen, især på grund af deres kraftige anti-VZV-aktivitet.

a) 3-N-benzoyl-2'-desoxy-5-ethynyluridin
b) 3-N-benzoyl-2'-desoxy-5-(1-propynyl)(1-uridin
c) 2'-desoxy-5-(1-propynyl)cytidin
d) 1-(β-D-arabinofuranosyl)-5-(1-propynyl)cytosin.

Særlig foretrukne forbindelser er b) og c), der har vist sig at have kraftig anti-VZV-aktivitet.

Yderligere hidtil ukendte forbindelser ifølge opfindelsen inkluderer:

i) 1-(β-D-arabinofuranosyl)-3-N-benzoyl-5-(1-propynyl)uracil
j) 1-(β-D-arabinofuranosyl)-3-N-benzoyl-5-ethynyluracil

Endvidere farmaceutisk acceptable salte og estere af sådanne forbindelser. De ovennævnte forbindelser har alle især høj aktivitet over for VZV. Det kan i øvrigt nævnes, at forbindelserne a) og e) også er højaktive over for CMV, og forbindelse g) især har høj aktivitet over for EBV.

Opfindelsen inkluderer yderligere:

a) de hidtil ukendte forbindelser ifølge opfindelsen til anvendelse ved human terapi og
b) anvendelse af en hidtil ukendt forbindelse ifølge opfindelsen til fremstilling af et lægemiddel til anvendelse ved behandling af eller profylakse for

en infektion med varicella zoster virus.

Foretrukne mono- og diestere ifølge opfindelsen inkluderer carboxylsyreestere, hvori ikke-carbonyldelen af estergruppen udvælges blandt ligekædede eller forgrenede alkyl, alkoxyalkyl (f.eks. methoxymethyl), carboxyalkyl (f.eks. carboxyethyl), aralkyl (f.eks. benzyl), aryloxyalkyl (f.eks. phenoxymethyl), aryl (f.eks. phenyl, eventuelt substitueret med halogen, C_{1-4} alkyl eller C_{1-4} alkoxy); sulfonatestere såsom alkyl- eller aralkylsulfonyl (f.eks. methansulfonyl); og mono-, di- eller triphosphatestere, der kan eller ikke kan være blokerede; aminosyreestere og nitratestere. Hvad angår de ovenfor beskrevne estere vil en hvilken som helst alkyldel, der er til stede i sådanne estere, medmindre andet nævnes, med fordel indeholde 1-18 carbonatomer, især 1 - 4 car-bonatomer. En hvilken som helst aryldel, der findes i sådanne estere, vil med fordel omfatte en phenylgruppe. En hvilken som helst referance til en hvilken som helst af de ovenfor nævnte forbindelser skal også inkludere en reference til et farmaceutisk acceptabelt salt deraf.

Salte ifølge opfindelsen, der med fordel kan anvendes terapeutisk, inkluderer fysiologisk acceptable basesalte, dvs. sådanne der er afledt fra en passende base, såsom et alkalimetal (f.eks. natrium), jordalkalimetal (f.eks. magnesiumsalte), ammonium og NX^+_4 (hvori X er C_{1-4} alkylsalte).

Forbindelserne ifølge opfindelsen kan indgives ad en hvilken som helst passende vej, afhængig af arten af sygdommen, der skal behandles, passende indgivelser inkluderer oral, rektal, nasal, topisk (deriblandt buccal og sublingual), vaginal og parenteral, (deriblandt subkutan, intramuskulær, intravenøs, intradermal, intrathecal og epidural). Man bør lægge mærke til, at den foretrukne indgivelsesmåde f.eks. kan variere med modtagerens almentilstand.

For hver af de ovenfor nævnte anvendelser og indikationer vil mængden af den nødvendige aktive ingrediens afhænge af en række faktorer, hvoriblandt alvoren af den sygdom, der skal behandles, og patientens karakteristika, og det må være lægen, der til slut bestemmer størrelsen af dosis. Almindeligvis vil imidlertid for hver af disse anvendelser og indikationer en passende og effektiv dosis ligge i området 0,1-250 mg pr. kg kropsvægt af modtageren pr. dag, foretrukken 1-100 mg pr. kg kropsvægt pr. dag, og mest foretrukket i området 5-30 mg pr. kg kropsvægt pr. dag. En optimumdosis er ca. 15 mg pr. kg kropsvægt pr. dag (medmindre andet angives, beregnes alle vægtangivelser for aktiv ingrediens ud fra udgangsforbindelsen; for salte og estere deraf må man forøge talværdien i forhold dertil). Den ønskede dosis kan eventuelt indgives som to, tre, fire eller flere underdoser, indgivet med passende intervaller i løbet af dagen. Disse kan indgives på enhedsdosisform, f.eks. med indhold af 10-1000 mg, foretrukken 20-500 mg, og mest foretrukket 100-400 mg aktiv ingrediens pr. enhedsdosis.

Selv om det er muligt at indgive forbindelserne som sådan, foretrækkes det at indgive dem som farmaceutiske præparater. Sådanne præparater omfatter i det mindste én aktiv ingrediens, som defineret ovenfor, sammen med én eller flere acceptable bærere derfor og eventuelt andre terapeutiske ingredienser. Bæreren eller bærerne må være acceptable, idet de må være forligelige med de andre ingredienser i præparatet og ikke være skadelige for modtageren.

Præparaterne inkluderer sådanne, der er egnede til oral, rektal, nasal, topisk (deriblandt buccal og sublingual), vaginal eller parenteral (deriblandt subkutan, intramuskulær, intravenøs, intradermal, intrathecal og epidural) indgivelse. Præparaterne foreligger bekvemt på enhedsdosisform og kan fremstilles ved en hvil-

ken som helst fremgangsmåde ifølge kendt farmaceutisk teknik. Sådanne fremgangsmåder inkluderer, at man bringer den aktive ingrediens i forbindelse med bæreren, der indeholder en eller flere hjælpeingredienser. Almindeligvis fremstiller man præparaterne, idet man ensartet og grundigt bringer den aktive ingrediens i kontakt med væskeformige bærere eller finopdelte faste bærere eller begge og derefter, om nødvendigt, formgiver produktet.

Præparater, der er egnede til oral indgivelse, kan foreligge som enkelte enheder, såsom kapsler, cachetter eller tabletter, der hver indeholder en forudbestemt mængde aktiv ingrediens; som et pulver eller granulat; som en opløsning eller suspension af en vandig væske eller en ikke vandig væske; eller som en olie-i-vand væskeemulsion eller en vand-i-olie væskeemulsion. Den aktive ingrediens kan også foreligge som en bolus, latværge eller pasta.

Man kan fremstille en tablet ved sammenpresning eller støbning, eventuelt sammen med en eller flere hjælpeingredienser. Pressede tabletter kan fremstilles, idet man i en passende maskine sammenpresser den aktive ingrediens på frit flydende form, såsom et pulver eller granulat, eventuelt blandet med et bindemiddel (f.eks. povidon, gelatine, hydroxypropylmethylcellulose), et smøremiddel, inert fortynder, præserverende middel, sønderdelende middel (f.eks. natriumstivelseglycolat, tværbundet povidon, tværbundet natriumcarboxymethylcellulose), overfladeaktivt eller dispergerende middel. Man kan fremstille støbte tabletter, idet man i en passende maskine bearbejder en blanding af den pulveriserede forbindelse, fugtet med en inert væskeformig fortynder. Man kan eventuelt overtrække tabletterne og forsyne dem med kærv, eller de kan fremstilles, så de tilvejebringer langsom eller kontrolleret frigivelse af den aktive ingrediens, idet man f.eks. anvender hydroxypropylmethylcellulose i varierende mængdeforhold til opnåelse af den ønskede frigivelsesprofil.

Til infektioner i øjet eller andre ydre væv, såsom munden eller huden, anbringer man fortrinsvis præparaterne lokalt som en salve eller en creme, der indeholder den aktive ingrediens i f.eks. en andel på 0,075 - 20% w/w, foretrukken 0,2-15% w/w og mest foretrukken 0,5-10% w/w. Når de aktive ingredienser indgår i en salve, kan man benytte enten en paraffinagtig eller en med vand blandbar salvebasis. Alternativt kan man lade de aktive ingredienser indgå i en creme med en olie-i-vand cremebasis.

Om ønsket kan den vandige fase i cremebasis inkludere f.eks. i det mindste 40% w/w af en polyvalent alkohol, dvs. en alkohol med to eller flere hydroxygrupper, såsom propylenglycol, butan-1,3-diol, mannitol, sorbitol, glycerol og polyethylenglycol og blandinger deraf. Formuleringer til lokal brug kan med fordel indeholde en forbindelse, der forstærker absorption eller gennemtrængning af den aktive ingrediens gennem huden eller andre påvirkede områder. Eksempler på sådanne midler, der forstærker gennemtrængning gennem huden, inkluderer dimethylsulfoxid og beslægtede analoge forbindelser.

Oliefasen i emulsionerne kan opbygges af kendte ingredienser ved kendt teknik. Selv om denne fase blot kan omfatte et emulsionsdannende middel (også kendt som en emulgator), omfatter den gerne en blanding af i det mindste én emulsionsdanner med et fedtstof eller en olie, eller både med et fedtstof og en olie. Det foretrækkes, at en hydrofil emulgator inkluderes sammen med en lipofil emulgator, der fungerer som stabilisator. Det foretrækkes også, at der både er olie og et fedtstof til stede. Sammen udgør emulgatoren el-ler emulgatorerne med eller uden stabilisator den såkaldte emulsifierende voks, og vokset sammen med olien eller fedtstoffet danner den såkaldte emulsionsdannende salvebasis, der danner den disperse oliefase i cremepræparaterne.

Emulgatorer og emulsionsstabilisatorer, der er egnet, inkluderer Tween® 60, Span® 80, cetostearylalkohol, myristylalkohol, monostearat og natriumlaurylsulfat.

Valget af egnede olier eller fedtstoffer til præparatet foretages på basis af opnåelse af passende kosmetiske egenskaber, siden opløseligheden af den aktive forbindelse i de fleste olier, der normalt anvendes i farmaceutiske emulsionspræparater, er meget lav. Cremen skal foretrukket være et ikke-fedtet, ikke-plettende og afvaskeligt produkt med passende konsistens, så den ikke lækker fra tuber eller andre beholdere. Man kan benytte ligekædede eller forgrenede mono- eller dibasiske alkylestere, såsom di-isoadipat, isocetylstearat, propylenglycol, diestere af fedtsyrer fra kokosnødolie, isopropylmyristat, decyloleat, isopropylpalmitat, butylstearat, 2-ethylpalmitat eller en blanding af forgrenede estere kendt som Crodamol CAP, de sidste tre er de foretrukne estere. Sådanne kan benyttes alene eller kombineret, afhængigt af de ønskede egenskaber. Man kan også anvende lipider med højt smeltepunkt, såsom hvid blød paraffin og/eller flydende paraffin eller andre mineralolier.

Præparater, egnede til topisk indgivelse til øjet, inkluderer også øjendråber, hvori den aktive ingrediens er opløst eller suspenderet i en passende bærer, især et vandigt opløsningsmiddel til den aktive ingrediens. I sådanne præparater er den aktive ingrediens foretrukket til stede med en koncentration på 0,5-20%, med fordel 0,5-10% og især ca. 1,5% w/w.

Præparater egent til topisk indgivelse i munden, inkluderer pastiller, hvor den aktive ingrediens findes i en aromatiseret basis, sædvanligvis sucrose og acacia eller tragant; pastiller med den aktive ingrediens i en inert basis, såsom gelatine og glycerin, eller sucrose og acacia; og mundskyllemidler, der indeholder den aktive ingrediens i en passende vandig bærer.

Præparater til rektal indgivelse kan foreligge som stikpiller med en passende basis, der f.eks. omfatter cacaosmør eller salicylat.

Præparater, der er egnet til indgivelse i næsen, hvori bæreren er på fast form, inkluderer et groft pulver med partikelstørrelse, f.eks. i området 20-500 mikron, der indgives på samme måde som snus, dvs. ved hurtig inhalation gennem næsen fra en beholder, der indeholder pulveret og holdes tæt op mod næsen. Passende præparater, hvori bæreren er på væskeform, f.eks. næsespray eller næsedråber, inkluderer vandige eller olieagtige opløsninger af den aktive ingrediens.

Præparater, der er egnede til vaginal indgivelse, kan foreligge som vagitorier, tamponer, cremer, geler, pastaer, skum eller spray, der foruden den aktive ingrediens indeholder sådanne bærere, der er egnede ifølge kendt teknik.

Præparater, der er egnede til parenteral indgivelse, inkluderer vandige og ikke-vandige sterile injektionsopløsninger, der kan indeholde antioxidanter, puffere, bakteriostatiske midler og opløste stoffer, der gør præparatet isotonisk med blodet hos modtageren, og vandige og ikke-vandige suspensioner, der kan inkludere suspenderende midler og fortykkende midler. Formuleringerne kan foreligge i enhedsdosis- eller mangedosis-beholdere, f.eks. i forseglede ampuller og småglas, og kan opbevares i frysetørret (lyofiliseret) tilstand, så man kun behøver at tilsætte steril væskeformig bærer, f. eks. vand til injektion umiddelbart før anvendelsen. Man kan fremstille injektionsopløsninger og suspensioner til pludselig nødvendig anvendelse ud fra sterile pulvere og granulater og tabletter af den tidligere nævnte type.

Foretrukne enhedsdosispræparater er sådanne, der indeholder en daglig dosis eller enhed, en daglig dosis som ovenfor beskrevet eller en passende brøkdel deraf af aktiv ingrediens.

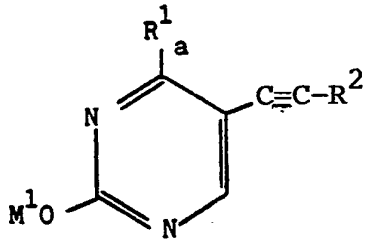
Man bør forstå, at foruden de ingredienser, der især er nævnt ovenfor, kan præparater inkludere andre midler, der er kendt i farmaceutisk teknik og er afhængig af typen af præparater, f.eks. kan præparater til oral indgivelse indeholder smagsstoffer.

Forbindelserne i følge opfindelsen kan fremstilles ved en hvilken som helst fremgangsmåde ifølge kendt teknik til fremstilling af lignende forbindelser, se f. eks. UK patentskrift nr. 1 601 020, eller Robens M.J., og Barr, P.J., J. Org. Chem. (1983), 48, 1854-1962, og især fremgangsmåderne, der beskrives i de nedenstående Eksempler.

Den foreliggende opfindelse tilvejebringer også en fremgangsmåde til fremstilling af en forbindelse ifølge opfindelsen, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved, at man;

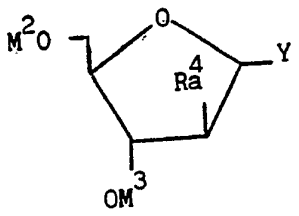
enten:

A) kondenserer en forbindelse med den almene formel (II)



(II)

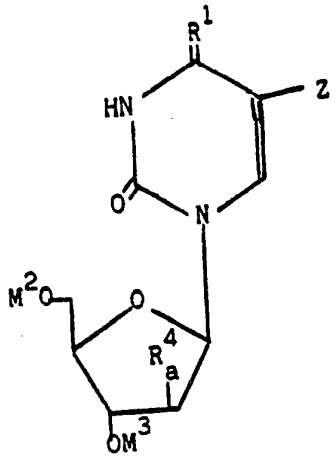
(hvori R^2 er som ovenfor defineret, $R^1{}_a$ er en beskyttet hydroxy- eller aminogruppe, og M^1 er en hydroxybeskyttende gruppe) med en forbindelse med den almene formel (III):



(III)

(hvori Y betegner halogen, M^2 og M^3 er hver for sig en hydroxybeskyttende gruppe, og R^4_a er hydrogen eller en beskyttet hydroxygruppe); eller

(B) lader en forbindelse med den almene formel (IV):

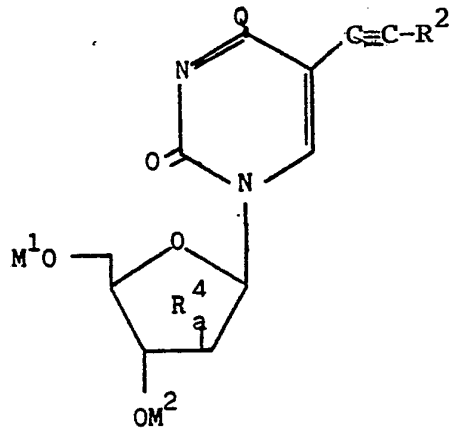


(IV)

hvori

R^1, M^2, M^3 og R^4_a er som ovenfor defineret, og Z er en fraspaltelig gruppe, reagere med en forbindelse, der er i stand til at tilvejebringe den nødvendige $-C{=}C-R^2$ gruppe (hvori R^2 er som ovenfor defineret) til opnåelse af en forbindelse med formel (I), hvori R^3 er hydrogen; eller

(C) lader en forbindelse med formel (V):



(V)

(hvori Q er en passende fraspaltelig gruppe, og R^2, M^1, M^2 og $R^4{}_a$ er som ovenfor defineret) reagere med et middel til ombytning af Q med en aminogruppe; til dannelse af en forbindelse, hvori R^3 er hydrogen;

og eventuelt senere, eller samtidig hermed, udfører den ene eller begge af følgende operationer, i vilkårlig orden:

i) fjerner eventuelt tilbageværende beskyttende grupper;

ii) når den dannede forbindelse er en forbindelse med formel (I)B, omdanner den til et farmaceutisk acceptabelt derivat (defineret som et salt, en ester eller et salt af en sådan ester) deraf, eller, når den dannede forbindelse er et farmaceutisk acceptabelt derivat, omdanner den til et andet farmaceutisk acceptabelt derivat, eller til en forbindelse med formel (I)B.

Hvad angår fremgangsmåde A) kan man beskytte udgangsmaterialerne med passende beskyttende grupper, såsom acylgrupper, f.eks. alkanoyl eller aroylgrupper, såsom p-toluoyl, eller trialkylsilylgrupper, såsom trimethylsilylgruppen, idet de grupper, der beskytter M^1 og $R^1{}_a$, almindeligvis er silylbeskyttende grupper. Halogenet Y i sukkerresiduen (formel (III) er normalt chlor, og man foretager reaktionen under tilstedeværelse af en

Lewis-syrekatalysator, f.eks. stannichlorid, i et passende opløsningsmiddel, såsom 1,2-dichlorethan. Man kan derefter opnå udgangsforbindelsen efter anomer adskillelse ved behandling med en alkoholisk base, såsom natriummethoxid i methanol. Denne fremgangsmåde beskrives også af Barr et al., i J. Chem. Soc. Perkin Trans 1 (1978), 1263 ff.

Man kan derefter fjerne de beskyttende grupper ved sur eller basisk hydrolyse, idet acylgrupper med fordel fjernes ved basisk hydrolyse og silylgrupper ved sur hydrolyse.

Hvad angår fremgangsmåde B) gives der eksempler på denne i Robins, M.J., og Barr, P.J., i J. Org. Chem. (1983), 48, 1854 ff. Man kan underkaste et 5-halogeneret nucleosid, såsom 2'-desoxy-5-ioduridin på passende beskyttet form, f.eks. med de ovenfor nævnte beskyttende grupper, en katalyseret koblingsreaktion, f.eks. med en palladiumkatalysator, med en passende beskyttet acetylen, såsom trimethylsilylacetylen under tilstedeværelse af en organisk base, såsom triethylamin, og en anden metalkatalysator, f.eks. et kobber(I)salt, ved en forhøjet temperatur som 50°C, til opnåelse af det beskyttede acetylenholdige nucleosid. En foretrukken palladiumkatalysator er bis(triphenylphosphin)palladiumchlorid og en foretrukken kobberkatalysator er cuproiodid. Udgangsforbindelsen kan uden videre opnås ved fjernelse af alle beskyttende grupper, f.eks. ved behandling med alkoholisk base såsom natriummethoxid i methanol.

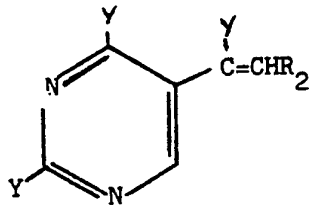
I fremgangsmåde C) er den fraspaltelige gruppe Q med fordel en passende heterocyklisk gruppe, især en 1,2,4-triazol-1-ylgruppe eller et halogen, f.eks. chlor, og man fjerner passende gruppen Q ved behandling af forbindelsen med formel (V) med ammoniak.

Forbindelsen med formel (V) kan fremstilles f. eks. ved behandling af den tilsvarende 4-oxoforbindelse med et passende funktionaliserende middel, der indfører

den fraspaltelige gruppe Q, f.eks. ved behandling med 1,2,4-triazol, med fordel under tilstedeværelse af et kondenserende middel, såsom 4-chlorphenylphosphodichloridat, f.eks. i et basisk opløsningsmiddel, med fordel pyridin, eller ved behandling af 4-oxoforbindelsen med thionylchlorid i dimethylformamid.

De ovenfor nævnte udgangsmaterialer kan fremstilles på konventionel måde ud fra kendte forbindelser, ved kendt teknik f.eks. som beskrevet i Nucleic Acid Chemistry: Improved New Synthetic Procedures, Methods and Techniques. Ed. L.B. Townsend og R.S. Tipson, Wiley Interscience (1978) og Nucleoside Analogues: Chemistry, Biology and Medical Applications, Ed. R.T. Walter, E de Clercq og F. Eckstein, NATO Advanced Study Institute, Plenum Press (1979). Eksempler på fremgangsmåder til fremstilling af udgangsmaterialer beskrives nedenfor.

I fremgangsmåde A) kan man f.eks. fremstille forbindelsen med formel (II), hvori R^2 betegner hydrogen, ved halogenering af 5-acetyluracil med et passende halogenerende middel, såsom phosphorylchlorid, under tilstedeværelse af en base til opnåelse af en forbindelse med formel (VI)



(VI)

hvori Y betegner halogen. Man kan derefter viderebehandle forbindelsen med formel (VI) med en uorganisk base, såsom vandig kaliumhydroxid, og derefter foretage en beskyttelse til opnåelse af en forbindelse med formel (II).

I fremgangsmåde B) kan man f.eks. fremstille forbindelsen med formel (IV), især når Z er halogen, så-

som iod, og R^4_a er en beskyttet hydroxygruppe, ved fremgangsmåder analoge til sådanne, der beskrives af Schinazi et al., Med. Chem. 1979, 22 (20) 1273.

Forbindelserne med formel (I) eller (I)B, hvori R^3 betegner en acylgruppe, kan fremstilles ud fra tilsvarende forbindelser, hvori R^3 betegner hydrogen, f.eks. ved selektiv beskyttelse af hydroxygrupper i sukkerresten, f.eks. under anvendelse af trialkylsilylgrupper, og en påfølgende acylering af den beskyttede forbindelse, idet man f.eks. anvender et passende syrechlorid eller anhydrid, med fordel under tilstedeværelse af en base, såsom pyridin eller triethylamin, der også kan benyttes som opløsningsmiddel til reaktionen. Den resulterende acylforbindelse med formel (I) eller (I)B kan opnås ved afbeskyttelse, f.eks. ved fjernelse af trialkylsilylgrupper ved f. eks. behandling med en syre, såsom eddikesyre.

Estere ifølge opfindelsen kan fremstilles på konventionel måde, f.eks. ved behandling af udgangsforbindelsen med formel (I) eller (I)B eller en ester deraf (eventuelt beskyttet) med et passende esterdannende eller transesterdannende middel, f.eks. ved behandling af 2'-desoxy-5-ethynyluridin med et passende syrehalogenid, (f. eks. chlorid) eller anhydrid under tilstedeværelse af en base, bekvemt pyridin, der også kan benyttes som opløsningsmiddel, idet eventuelt tilbageblivende beskyttende grupper derefter fjernes.

Salte ifølge opfindelsen kan også fremstilles på konventionel måde, f.eks. ved reaktion af udgangsforbindelsen, med en passende base til dannelse af det tilsvarende basesalt. Andre derivater ifølge opfindelsen kan også fremstilles på konventionel måde.

De følgende Eksempler illustrerer opfindelsen.

Eksempel 1

2'-Desoxy-5-(1-propynyl)uridin

a) 2'-Desoxy-3',5'-di-O-p-toluoyl-5-(1-propynyl)uridin

Man holdt 3',5'-di-O-p-toluoyl-2'-desoxy-5-iod-uridin (Can. J. Chem., 1982, 60, side 554) (1,11g, 2.0 mmol), 30 mg cuproiodid, 30 mg bis-(triphenylphosphin)palladium(II)chlorid og 80 ml vandfri triethylamin under omrøring under vandfri N_2 og boblede propyngas gennem blandingen i 15 minutter. Derefter omrørte man blandingen ved 50°C i tre timer. Efter afkøling frafiltrerede man et fast hvidt bundfald, som man optog i dichlormethan. Opløsningen blev vasket med 2 x 50 ml portioner af 2% dinatriumethylendiamintetraeddikesyre, tørret ($MgSO_4$) og bortfordampet. Man omkrystalliserede remanensen fra dichlormethan/ethanol (1:2) til opnåelse af 0,63 g (63%) af titelforbindelsen som hvide krystaller med smp. 238 - 241°C.

b) 2'-Desoxy-5-(1-propynyl)uridin,hemihydrat

Man holdt en opløsning af produktet fra trin a) (0,6 g, 1,2 mmol) i 18 ml 0,2 M natriummethoxid i methanol (frisk fremstillet af natrium og methanol) under omrøring ved stuetemperatur i to timer, hvorefter man gjorde opløsningen sur til pH 4-5 ved portionsvis tilsætning af Dowex® 50(H) ionbytterharpiks. Man frafiltrerede harpiksen og vaskede med methanol. Filtratet blev inddampet, og man fordelte remanensen mellem vand og ether. Man vaskede det vandige lag med ether og inddam-

pede det. Remanensen blev udrevet med ethanol, og den dannede faste stof frafiltreret og vasket med ether til opnåelse af 0,18 g (55%) af titelforbindelsen med smp. 194-196°C.

Analyse:

Beregnet:	C	52,36	H	5,49	N 10,23
Fundet:		52,35		5,13	10,23.

Eksempel 2

3',5'-di-O-Acetyl-2'-desoxy-5-ethynylcytidin

a) 3',5'-di-O-Acetyl-5-ethynyluridin

Man holdt 5-ethynyl-2'-desoxyuridin (J. Med. Chem., 26(5), 661-6 (1983)) (1,26g, 5,0 mmol), 10 ml vandfri pyridin og 1,22 g eddikesyreanhydrid (12,0 mmol) under omrøring ved stuetemperatur i 20 timer, hvorefter man inddampede den dannede klare opløsning til opnåelse af en sirupagtig remanens, der ved fornyet inddampning med ethanol gav et hvidt fast stof. Omkrystallisering fra ethanol gav 1,49 g (92%) af titelforbindelsen som hvide krystaller med smp. 152-154°C.

b) 1-(2'-Desoxy-3',5'-di'O'acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-ethynyl-4-(1,2,4-triazol-1-yl)pyrimidin-2(1H)-on

Man holdt 304 mg af produktet fra trin a) (304 mg, 1 mmol), 207 mg 1,2,4-triazol (3 mmol), 3,0 ml vandfri pyridin og 352 mg p-chlorphenylphosphodichloridat (1,5 mmol) under omrøring ved stuetemperatur i syv dage. Man inddampede den dannede mørke opløsning og optog den brune olieagtige remanens i dichlormethan. Opløsningen

blev vasket to gange med vand, tørret ($MgSO_4$) og inddampet til opnåelse af 380 mg (98%) af titelforbindelsen som et bleggult skum, der blev benyttet på råform i næste syntesetrin.

c) 2'-Desoxy-3',5'-di-O-acetyl-5-ethynylcytidin, hydrochlorid, hemihydrat

Man holdt en opløsning af produktet fra trin b) (380 mg, 0,98 mmol) i 10 ml dioxan/880 ammoniak (3:1) under omrøring ved stuetemperatur i to timer, hvorved man inddampede til opnåelse af en gummiagtig remanens. Denne blev optaget i varm methanol og gjort sur med en mættet opløsning af hydrogenchlorid i 2-propanol. Efter afkøling filtrerede man det hvide krystallinske hydrochlorid fra, vaskede med ethanol og ether og tørrede under vakuum over phosphorpentaoxid til opnåelse af 130 mg (35%) af titelforbindelsen, der undergik sønderdeling ved 160-162°C.

Analyse:

Beregnet:	C	47,31	H	5,03	N 11,03
Fundet:		47,50		4,79	11,04.

Eksempel 3

2'-Desoxy-5-ethynylcytidin

Man holdt en opløsning af forbindelsen fra Eksempel 2(c) (250 mg, 0,66 mmol) i 3,0 ml dioxan/880 ammoniak/vand (3:2:1) under omrøring ved stuetemperatur i 24 timer, hvorefter man tilsatte yderligere 1,0 ml 880 ammoniak og fortsatte omrøringen i fire timer. Man inddampede opløsningen og inddampede remanensen sammen med ethanol. Den nye remanens blev udrevet med ethanol, og man

frafiltrerede det dannede faste stof og vaskede det med ether til opnåelse af 120 mg (72%) af titelforbindelsen, der smeltede ved 162-165°C. Omkrystallisering fra ethanol gav en analytisk ren prøve med smp. 190-193°C.

Analyse:

Beregnet:	C	52,58	H	5,22	N 16,73
Fundet:		52,80		5,20	16,38.

Eksempel 4

3-N-Benzoyl-2'-desoxy-5-ethynyluridin

Til en omrørt opslæmning af 2'-desoxy-5-ethynyluridin (J. Med. Chem., 26(5), 661-6, (1983)) (0,3 g, 1,19 mmol) i vandfri acetonitril (8 ml) og chlortrimethylsilan (0,5 ml) satte man under isafkøling triethylamin (0,85 ml, 6,1 mmol), og man holdt hele blandingen under omrøring ved stuetemperatur i to timer. Man tilsatte benzoylchlorid (0,18 ml, 1,54 mmol) og holdt blandingen under omrøring i yderligere 1½ time, hvorefter man filtrerede. Man indkoncentrerede filtratet, opløste remanensen i ethanol (10 ml) og tilsatte iseddikesyre (0,4 g). Efter omrøring i en halv time bortfordampede man opløsningsmidlerne og rensede remanensen ved søjlechromatografi på silicagel med methylenchlorid/methanol (19:1) som elueringsmiddel til opnåelse af titelforbindelsen 0,2 g (47%) med smp. 156-157°C.

Analyse:

Beregnet:	C	60,70	H	4,49	N 7,86
Fundet:		60,44		4,33	7,69.

Eksempel 5

1-(β-D-Arabinofuranosyl)-5-ethynyluracil

a) O^2,2'-Anhydrouridin

Man opløste uridin (10 g, 0,04 mmol) i 20 ml varm vandfri dimethylformamid og tilsatte 11,4 g diphenylcarbonat (0,06 m) og 0,2 g natriumbicarbonat. Opløsningen blev holdt under omrøring og opvarmning til 150°C indtil efter ca. 30 minutter udvikling af carbondioxid ophørte. Derefter afkølede man opløsningen og udhældte den i 200 ml ether under hurtig omrøring. Det dannede stof blev frafiltreret, vasket med ether og omkrystalliseret fra methanol til opnåelse af 7,2 g (80%) af titelforbindelsen som hvide krystaller med smp. 235-240°C.

b) 1-(β-D-Arabinofuranosyl)uracil

Man opløste produktet fra trin a) (7,0 g, 0,03 mol) i 585 ml ethanol/vand (1:1) og tilsatte 41 ml 1 M natriumhydroxid. Efter omrøring i to timer ved stuetemperatur gjorde man opløsningen sur til pH 4-5 ved portionsvis tilsætning af Dowex® 50(H) ionbytterharpiks. Man frafiltrerede harpiksen og vaskede med 100 ml ethanol/vand. Filtratet blev inddampet til tørhed, og man omkrystalliserede remanensen fra ethanol til opnåelse af 5,51 g (75%) af titelforbindelsen som hvide krystaller med smp. 220-223°C.

c) 1-(β-D-Arabinofuranosyl)-5-ioduracil

Man holdt produktet fra trin b) (3,0 g, 12,3 mmol), 3,0 g iod (11,8 mmol), 15 ml chloroform og 30 ml 1 M salpetersyre under kraftig omrøring og tilbagesvaling i to timer. Efter afkøling dannedes et krystallinsk fast stof, som blev frafiltreret og vasket grundigt med ether til fjernelse af overskydende iod. Man omkrystalliserede det faste stof fra vand til opnåelse til 2,55 g (56%) af titelforbindelsen som hvide krystaller med smp. 191-193°C (sonderdeling).

d) 5-Iod-1-(2'.3',5' -tri-O-p-toluoyl-β-D-arabinofuranosyl)uracil

Man satte en opløsning af p-toluoylchlorid (2,76 g, 17,85 mmol) i 5,0 ml dichlormethan dråbevis ved 0°C og omrøring under vandfri N_2 til 2,0 g af produktet fra trin c) (5,4 mmol) i 20 ml vandfri pyridin. Opløsningen blev holdt under omrøring ved stuetemperatur i fem timer, hvorefter man inddampede til tørhed. Remanensen blev udrevet med methanol, og det dannede hvide stof frafiltreret og vasket med ether til opnåelse af 2,61 g (67%) af titelforbindelsen med smp. 214 - 216°C.

e) 5-Trimethylsilylethynyl-1-(2',3',5'-tri-O-p-toluoyl-β-D-arabinofuranosyl)uracil

Man holdt produktet fra trin d) (1,45 g, 2 mmol), 30 mg cuproiodid, 30 mg bis(triphenylphosphin)palladium(II)chlorid, 80 ml vandfri triethylamin og 0,6 g trimethylsilylacetylen (6 mmol) under omrøring ved 50°C under en vandfri N_2 at-

mosfære i tre timer. Den afkølede suspension blev inddampet til tørhed, og man optog den mørke remanens i dichlormethan. Man vaskede opløsningen i rækkefølge med 2 x 50 ml portioner af 2% vandig dinatriumethylendiamintetraeddikesyre og 50 ml vand. Man tørrede opløsningen ($MgSO_4$) og inddampede, hvorefter man omkrystalliserede remanensen fra ethanol. Titelforbindelsen blev opnået som hvide krystaller, 1,03 g (82%) med smp. 197-199°C.

f) 1-(β-D-Arabinofuranosyl)-5-ethynyluracil

Man holdt en opløsning af produktet fra trin e) (1,0 g, 1,59 mmol) i 30 ml 0,2 M natriummethoxid i methanol (frisk fremstillet ud fra natrium og methanol) under omrøring ved stuetemperatur i tre timer, hvorefter man gjorde sur til pH 4-5 ved portionsvis tilsætning af Dowex® 50(H) ionbytterharpiks. Man frafiltrerede harpiksen og vaskede grundigt med methanol, hvorefter man inddampede filtratet til tørhed og fordelte remanensen mellem vand og ether. Det vandige lag blev vasket med ether, hvorefter det blev inddampet til tørhed. Man inddampede remanensen med to portioner ethanol, hvorefter man udrev med ethanol.
Man frafiltrerede det dannede faste stof og vaskede med ether til opnåelse af 0,30 g (70%) af titelforbindelsen, der sønderdeltes over 200°C.
Analyse:

Beregnet:	C	49,25	H	4,51	N	10,45
Fundet:		49,40		4,71		10,29.

Eksempel 6

5-Ethynyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-arabinofuranosyl)-uracil

Man holdt produktet fra Eksempel 5(f) (0,35 g, 1,3 mmol), 2,0 ml vandfri pyridin og 0,48 g eddikesyreanhydrid (4,7 mmol) under omrøring sammen ved stuetemperatur i 16 timer, hvorefter man inddampede den dannede klare opløsning til tørhed og inddampede remanensen sammen med ethanol. Omkrystallisering fra ethanol gav 0,4 g (89%) af titelfiorbindelsen som bleggule kubiske krystaller med smp. 174-176°C.

Analyse:

Beregnet:	C	51,78	H	4,60	N 7,10
Fundet:		52,06		4,43	7,05.

Eksempel 7

2'-Desoxy-5-(1-propynyl)cytidin

a) 2'-Desoxy-3',5'-di-O-acetyl-5-(1-propynyl)uridin

Man satte 0,8 ml eddikesyreanhydrid til en opløsning af 2'-desoxy-5-(1-propynyl)uridin fra Eksempel 1(b) (1 g, 3,76 mmol) i 10 ml vandfri pyridin. Blandingen blev holdt under omrøring ved stuetemperatur i 16 timer, hvorefter man inddampede til tørhed til opnåelse af et skumagtigt fast stof. Omkrystallisering fra ethanol gav 0,98 g (75%) af titelforbindelsen med smp. 148-149°C.

Analyse:

Beregnet:	C	54,86	H	5,143	N 8,00
Fundet:		54,82		5,114	7,805.

b) 1-(2-Desoxy-3,5-di-O-acetyl-β-D-ribofuranosyl)-5-(1-propynyl)-4-(1,2,4-triazol-1-yl)pyrimidin-2(1H)-on

Man satte p-Chlorphenylphosphodichloridat (0,76 g, 3,10 mmol) til en opløsning af produktet fra trin a) (0,7 g, 2 mmol) og 0,45 g 1,2,4-triazol (6,5 mmol) i 20 ml vandfri pyridin. Opløsningen blev holdt under omrøring under vandfri N_2 ved stuetemperatur i to dage, hvorefter den blev inddampet til tørhed. Den dannede olie blev elueret på en silicagelsøjle med ethylacetat til opnåelse af 0,33 g udgangsmateriale og 0,2 g (44% baseret på 0,4 g udgangsmateriale) af titelforbindelsen, der yderligere nedbrydes ved henstand ved stuetemperatur. Man foretog ikke yderligere rensning men benyttede den i næste trin.

c) 2'-Desoxy-5-(1-propynyl)cytidin

Man opløste råproduktet fra trin b) (0,2 g, 0,5 mmol) i 5 ml Dioxan/880NH_3/H_2O (3:2:1) og lod blandingen henstå ved stuetemperatur i 16 timer, hvorefter man inddampede den til tørhed og inddampede remanensen sammen med ethanol. Det dannede hvide faste stof blev omkrystalliseret fra ethanol til opnåelse af 0,04 g (30%) af rent produkt ved sønderdeling ved 195-200°C.

Analyse:

Beregnet:	C	54,34	H	5,60	N	15,85
Fundet:		54,19		5,550		15,33.

Eksempel 8

1(β-D-Arabinofuranosyl)-5-(1-propynyl)cytosin

a) 5-Iod-1-(2,3,5-tri-O-acetyl-β-D-arabinofuranosyl) uracil

Man satte eddikesyreanhydrid (1,04 ml, 11 mmol) til en opløsning af 1 g 1-(β-D-arabinofuranosyl) -5-ioduracil fra Eksempel 5(c) (2,7 mmol) i 10 ml vandfri pyridin. Efter omrøring i tre timer ved stuetemperatur bortfordampede man opløsningsmidlet og inddampede remanensen sammen med CH_2Cl_2 adskillige gange. Remanensen blev udrevet med ethanol, det faste stof blev frafiltreret og tørret til opnåelse af 1,25 g (93%) af titelforbindelsen med smp. 175-179°C.

b) 5-(1-Propynyl)-1-(2,3,5-tri-O-acetyl-β-D-arabinofuranosyl)uracil

Man holdt en suspension af produktet fra trin a) (1,16 g, 2,3 mmol), 35 mg cuproiodid og 35 mg bis (triphenylphosphin)palladium(II)chlorid i 95 ml vandfri triethylamin under omrøring under vandfri N_2 i 15 minutter. Derefter gennemboblede man blandingen med propyngas i 15 minutter, og blandingen blev omrørt under en atmosfære af N_2 ved 50°C i en time. Man filtrerede opløsningen og inddampede filtratet til tørhed, hvorefter man optog remanensen i CH_2Cl_2 (30 ml), vaskede med 2 x 25 ml portioner af 2% vandig dinatriumethylendiamintetraeddikesyre og 50 ml vand. Man tørrede den organiske opløsning (Na_2SO_4) og inddampede, hvorefter omkrystallisering af remanensen fra ethanol gav 0,38 g (40%) af titelforbindelsen med smp. 150-157°C.

Analyse:

Beregnet:	C	52,94	H	4,902	N 6,863
Fundet:		52,86		4,827	6,784.

c) 5-(1-Propynyl)-1-(2,3,5-tri-O-acetyl-β-D-arabinofuranosyl)-4-(1,2,4-triazol-1-yl)pyrimidin-2(1H)-on

Man satte p-Chlorphenylphosphodichloridat (10,5 ml) til en opløsning af produktet fra trin b) (0,5 g, 1,2 mmol) og 0,4 g 1,2,4-triazol i 10 ml vandfri pyridin. Man holdt opløsningen under omrøring ved stuetemperatur under en atmosfære af vandfri nitrogen i seks dage, hvorefter man inddampede til tørhed og fordelte remanensen mellem dichlormethan (30 ml) og vand (30 ml). Man vaskede det organiske lag med 25 ml vand, tørrede (Na_2SO_4) og inddampede til opnåelse af 0,65 g råprodukt, der blev benyttet i næste syntesetrin.

d) 1-(β-D-Arabinofuranosyl)-5-(1-propynyl)cytosin

Man opløste råproduktet fra trin c) (0,65 g, 1,39 mmol) i 30 ml dioxan/880 NH_3/H_2O (3:2:1) og lod opløsningen henstå ved stuetemperatur natten over, hvorefter man inddampede den til tørhed til opnåelse af en gul olie, der blev udrevet med ethanol til opnåelse af det rene produkt (0,22 g) med smp. 241-243°C (sønderdeling).

Beregnet for $C_{12}H_{15}N_3O_5$, 0,7 H_2O

Beregnet:	C	49,05	H	5,586	N 14,30%
Fundet:		49,28		5,32	13,95.

Eksempel 9

3 N-Benzoyl-2'-desoxy-5-(1-propynyl)uridin

Man satte vandfri triethylamin (1,1 ml) ved 0°C til en omrørt opslæmning af 2'-desoxy-5-(1-propynyl)uridin fra Eksempel 1 (b) (0,4 g, 1,5 mmol) og 0,54 g trimethylsilylchlorid (4,97 mmol) i 10 ml vandfri acetonitril. Blandingen blev holdt under omrøring ved stuetemperatur i 2½ time, hvorefter man tilsatte 0,3 ml benzoylchlorid og holdt opløsningen under yderligere omrøring i fem timer. Man frafiltrerede fast stof, inddampede filtratet til tørhed, optog remanensen i ethanol og tilsatte 0,4 g eddikesyre, hvorefter man holdt blandingen under omrøring ved stuetemperatur i en halv time. Man inddampede blandingen til tørhed og eluerede remanensen på silicagelsøjle med CH_2Cl_2/MeOH (9:1). Adskillige omkrystalliseringer fra vandig ethanol gav 0,14 g (25%) af produktet med smp. 137-40°C.

Beregnet for $C_{19}H_{18}N_2O_6$, 0,2 H_2O

Beregnet:	C	60,96	H	4,920	N 7,489%
Fundet:		60,69		4,681	7,478%.

Eksempel 10

a) 5-Ethynyl-1-(2,3,5-tri-O-acetyl-β-D-arabinofuranosyl)-4-(1,2,4-triazol-1-yl)pyrimidin-2(1H)-on

Man holdt 5-Ethynyl-1-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-D-arabinofuranosyl)uracil fra Eksempel 6 (0,6 g, 1,5 mmol), 1,2,4-triazol (0,33 g, 4,8 mmol) og p-chlorphenylphosphodichloridat (0,8 ml, 4,8 mmol) under omrøring sammen i vandfri pyridin (20 ml) i 72 timer. Man inddampede den dannede mørke opløsning til tørhed og rensede remanensen ved søjlekromatografi på silica, idet man eluerede

med ethylacetat/hexan (9:1) til opnåelse af et tilsynelandende ustabilt produkt (0,44 g), der blev benyttet på rå form i næste syntesetrin.

b) 1-(β-D-arabinofuranosyl)-5-ethynylcytosin

Man holdt en opløsning af produktet fra trin a) (0,44 g, 0,9 mmol) i dioxan/880 ammoniak/vand (3:2:1) (12 ml) under omrøring ved stuetemperatur i 48 timer, hvorefter man inddampede til opnåelse af en olie, der blev renset ved søjlekromatografi på silicagel, idet man eluerede med methanol/methylenchlorid (1:4). Kombination af fraktioner, der indeholdt produktet, og inddampning gav et fast stof, der blev omkrystalliseret fra ethanol til opnåelse af titelforbindelsen (0,03 g) med sønderdeling ved 223°C.

Analyse for $C_{11}H_{13}N_3O_5$, 0,3 H_2O

Beregnet:	C	48,46	H	4,993	N 15,42%
Fundet:		48,22		4,889	14,99%.

Eksempel 11

2'-Desoxy-5-ethynyl-3-N-(p-toluoyl)uridin

Til en omrørt suspension af 2'-desoxy-5-ethynyluridin (J. Med. Chem. 26(5), 661-6. (1983)) (0,4 g, 1,6 mmol) i vandfri acetonitril (15 ml) og chlortrimethylsilan (0,7 ml, 5,6 mmol) satte man under isafkøling triethylamin (1,13 ml, 8,1 mmol), og man opretholdt omrøringen ved stuetemperatur i 2½ time. Toluoylchlorid (0,3 ml, 2,1 mmol) blev derefter tilsat, og blandingen blev filtreret efter yderligere syv timers omrøring, man inddampede filtratet til tørhed og opløste remanensen i ethanol (20 ml). Man tilsatte iseddikesyre og holdt blandingen under omrøring i en halv time ved stuetem-

peratur, hvorefter man bortfordampede opløsningsmidlet og fjernede rester af eddikesyre ved fælles fordampning med ethanol. Rensning af produktet ved tyktlags-silicakromatografi under eluering med methanol/methylenchlorid (1:24) fulgt af omkrystallisering fra methanol tilvejebragte titelforbindelsen (0,03 g) med smp. 176-179°C.

Analyse for $C_{19}H_{18}N_2O_6$, 0,2 EtOH:

Beregnet:	C	61,37	H	5,08	N 7,36%
Fundet:		60,92		4,87	7,40%.

De følgende Eksempler illustrerer farmaceutiske præparater, hvori den aktive ingrediens er en forbindelse med formel (I) eller (I)B.

Eksempel A

Tablet

Aktiv ingrediens	100 mg
Lactose	200 mg
Stivelse	50 mg
Polyvinylpyrrolidon	5 mg
Magnesiumstearat	4 mg
	359 mg

Man fremstiller tabletter fra de ovennævnte ingredienser ved vådgranulering og sammenpresning.

Eksempel B

Ophthalmisk opløsning

Aktiv ingrediens	0,5	
Natriumchlorid, analytisk	0,9	g
Thiomersal	0,001	g
Renset vand til	100	ml
pH tilpasset til	7,5	

Eksempel C

Tabletpræparater

De følgende præparater A og B blev fremstillet ved vådgranulering af ingredienserne med en opløsning af povidon, hvorefter man tilsatte magnesiumstearat og pressede.

Formulering A

		mg/Tablet	mg/Tablet
(a)	Aktiv ingrediens	250	250
(b)	Lactose B.P.	210	26
(c)	Povidon B.P.	15	9
(d)	Natriumstivelsesglycollat	20	12
(e)	Magnesiumstearat	5	3
		500	300

Formulering B

		mg/Tablet	mg/Tablet
(a)	Aktiv ingrediens	250	250
(b)	Lactose	150	-
(c)	Avicel® PH 101	60	26
(d)	Povidon B.P.	15	9
(e)	Natriumstivelsesglycollat	20	12
(f)	Magnesiumstearat	5	3
		500	500

Formulering C

	mg/Tablet
Aktiv ingrediens	100
Lactose	200
Stivelse	50
Povidon	5
Magnesiumstearat	4
	359

De følgende præparater, D og E, blev fremstillet ved direkte sammenpresning af de sammenblandede ingredienser. Lactosen i præparat E er af direkte kompressionstype.

Formulering D

	mg/Kapsel
Aktiv ingrediens	250
Prægelatineret stivelse NF15	150
	400

Formulering E

	mg/Kapsel
Aktiv ingrediens	250
Lactose	150
Avicel®	100
	500

Formulering F

(Kontrolleret frigivelse)

Præparatet fremstilles ved vådgranulering af de nedenfor givne ingredienser med en opløsning af povidon, hvorefter man tilsætter magnesiumstearat og presser.

		mg/Tablet
(a)	Aktiv ingrediens	500
(b)	Hydroxypropylmethyl-cellulose (Methocel® K4M Premium)	112
(c)	Lactose B.P.	53
(d)	Povidon B.P.C.	28
(e)	Magnesiumstearat	7
		700

Frigivelse af medikament finder sted over ca. 6-8 timer og var fuldstændig efter 12 timer.

Eksempel D

Kapselformuleringer

Formulering A

En kapselformulering fremstilles, idet man sammenblander ingredienserne fra formulering D i Eksempel C ovenfor og fylder dem i en todelt kapsel af hård gelatine. Formulering B (nedenfor) fremstilles på lignende måde.

		mg/Kapsel
(a)	Aktiv ingrediens	250
(b)	Lactose B.P.	143
(c)	Natriumstivelsesglycollat	25
(d)	Magnesiumstearat	2
		420

Formulering B

		mg/Kapsel
(a)	Aktiv ingrediens	250
(b)	Lactose B.P.	143
(c)	Natriumstivelsesglycollat	25
(d)	Magnesiumstearat	2
		420

Formulering C

		mg/Kapsel
(a)	Aktiv ingrediens	250
(b)	Macrogol 4000 BP	350
		600

Man fremstiller disse kapsler ved at smelte Macrogol 4000 BP, dispergere den aktive ingrediens i smelten og fylde smelten i todelte kapsler af hård gelatine.

Formulering D

	mg/Kapsel
Aktiv ingrediens	250
Lecithin	100
Arachisolie	100
	450

Man fremstiller kapslerne ved at dispergere den aktive ingrediens i lecithin og arachisolie og fylde dispersionen i bløde, elastiske gelatinekapsler.

Formulering E

(Kapsel til kontrolleret frigivelse)

Man fremstiller den følgende formulering til kontrolleret frigivelse fra kapsler, idet man ekstruderer ingredienserne a, b og c på en ekstruder, hvorefter man afrunder og tørrer ekstrudatet. Derefter overtrækker man de tørrede småpartikler med en membran til

kontrolleret frigivelse (d) og fylder dem i todelte kapsler af hård gelatine.

		mg/Kapsel
(a)	Aktiv ingrediens	250
(b)	Mikrokrystallinsk cellulose	125
(c)	Lactose BP	125
(d)	Ethylcellulose	13
		513

Eksempel E

Formulering til injektion

Aktiv ingrediens 0,200 g

Steril, pyrogenfri phosphatpuffer (pH 7,0) 10 ml.

Man opløser den aktive ingrediens i det meste af phosphatpufferen (35-40°C), fylder op og filtrerer gennem et sterilt mikroporefilter i en steril 10 ml beholder af ravfarvet glas (type 1), som man forsegler sterilt med segl og oversegl.

Eksempel F

Intramuskulær injektion

Aktiv ingrediens	0,20 g
Benzylalkohol	0,10 g
Glycofurol 75	1,45 g
Vand til injektion q.s. til	3,00 ml.

Man opløser den aktive ingrediens i glycofurol. Benzylalkohol tilsættes og opløses, og vand tilsættes

til 3 ml. Blandingen filtreres derpå gennem et sterilt mikroporefilter og forsegles i sterile 3 ml glasbeholdere. (type 1).

Eksempel G

Sirupsuspension

Aktiv ingrediens	0.2500 g
Sorbitolopløsning	1.5000 g
Glycerol	2.0000 g
Dispersibel cellulose	0,0750 g
Natriumbenzoat	0,0050 g
Aroma, fersken 17.42.3169	0,0125 ml
Renset vand q.s. til	5.0000 ml.

Man opløser natriumbenzoat i en del af det rensede vand og tilsætter sorbitolopløsningen. Den aktive ingrediens tilsættes og dispergeres. I glycerolen dispergeres fortykningsmidlet (dispersibel cellulsose). De to dispersioner blandes og der fyldes op til det nødvendige rumfang med renset vand. Man opnår en yderligere fortykning ved yderligere omrøring af suspensionen.

Eksempel H

Stikpiller

	mg/Stikpille
Aktiv ingrediens (63µm)[x]	250
Hårdfedt, BP (Witepsol® H15 - Dynamit NoBel)	1770
	2020

[x] Den aktive ingrediens benyttes som et

pulver, hvori i det mindste 90% af partiklerne er på 63 µm diameter eller mindre.

Man smelter en femtedel af Witepsol® H15 i en beholder med dampopvarmning ved højst 45°C. Man sigter den aktive ingrediens gennem en 200 µm sigte og sætter den til den smeltede base under sammenblanding, idet man benytter en silverson med et skærehoved, indtil man opnår en ensartet dispersion. Idet man opretholder blandingen ved en temperatur på 45°C, sætter man resten af Witepsol H15 til suspensionen og blander til opnåelse af en homogen blanding. Hele suspensionen sigtes gennem en 250 µm sigte af rustfrit stål, og man lader den under stadig omrøring afkøle til 40°C. Ved en temperatur på 38-40°C fylder man 2,02 g af blandingen i passende plast forme. Man lader stikpillerne afkøle heri til stuetemperatur.

Eksempel I

Vagitorier

	mg/vagitorie
Aktiv ingrediens 63 µm	250
Anhydrat dextrose	380
Kartoffelstivelse	363
Magnesiumstearat	7
	1000

Man sammenblander de ovennævnte ingredienser direkte og fremstiller vagitorier ved direkte sammenpresning af den opnåede blanding.

Antiviral afprøvning og prøvning for toksicitet

Man analyserer human cytomegalovirus (HCMV) i enkeltlag af enten MRC5-celler, (human embryolungeceller eller Detroit 532 celler (humane forhudsfibroblaster) i mangebrøndeplader. Man bestemmer aktiviteten af forbindelser ved plakreduktionsassay, hvori man inficerer et monolag af celler med en suspension af HCMV, hvorefter man overtrækker med nærende agarose som en gel til sikring af, at der ikke spredes virus gennem kulturen. Man inkorporerede en række koncentrationer af forbindelser med kendt koncentration i agaroselaget. Man udtrykte plaktallet ved hver koncentration som procentværdi i forhold til kontrollen og tegnede en dosis-responskurve. Fra denne kurve bestemmes koncentrationen med 50% inhibering (IC_{50}).

Varicella zoster virus (VZV) analyseres på MRC5 celler ved en tilsvarende fremgangsmåde som ved HCMV, idet man udelader agaroseoverlaget.

Man udfører et assay, hvorved virusproducerende celler (P3HR-1) udsættes for medikament i 14 dage, hvorefter man bestemmer genomkopierne af EBV pr. celle ved EBV specifik c-RNA-DNA hybridisering. Man analyserer Epstein Barr virus ved fremgangsmåden ifølge Nonoyama & Pagano, beskrevet i Nature: New Biology Vol. 233,s. 103-104 (1971). IC_{50} værdien i resultaterne er den koncentration, der er nødvendig for at inhibere EBV genomet antal/celle med 50%.

Man bestemmer cellegiftigheden ved et inhiberingsassay for cellevækst. Man udsætter subkonfluente kulturer af Veroceller, dyrket på 96-brønd mikrotiterplader for forskellige fortyndinger af medikament og bestemmer overlevelsen af celler dagligt på par af kulturer, idet man benytter optagelse af et tetrazoliumfarvestof (MTT). Koncentrationen, der er nødvendig til en 50% inhibering af celleoverlevelse efter 96 timer, betegnes $CCID_{50}$.

Resultaterne ses i den følgende Tabel I.

T A B E L

Eksempel	IC_{50} (µM) VZV	IC_{50}(µM) HCMV	IC_{50}(µM) EBV	$CCID_{50}$(µM) efter 96 timer
1	1,0	>16	<50	>500
2	0,3/1,2	3/7	-	>500
5	1,5	>20	< 0,1	>300
7	3,3	>20	-	>300
9	2,2	28,5	-	>500

Aktiviteten mod VZV blev for yderligere to omhandlede forbindelser, nemlig

(12) 2'-desoxy-3-(4-fluorbenzoyl)-5-prop-1-ynyluridin, og

(13) 2'-desoxy-3-(4-methoxybenzoyl)-5-prop-1-ynyluridin,

bestemt som ovenfor beskrevet og sammenlignet med tilsvarende værdier for forbindelsen 2'-desoxy-5-ethynyluridin (EYdU), hvis virkning er beskrevet i dansk patentansøgning nr. 3265/86. Resultaterne ses i følgende Tabel II.

Tabel II

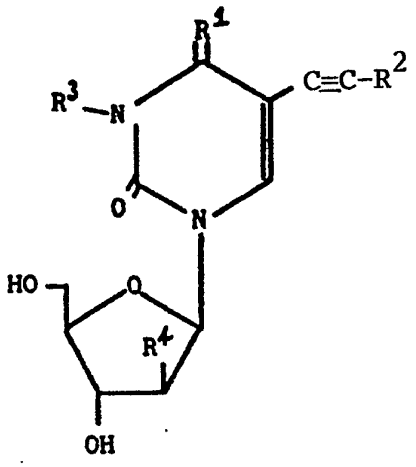
Forbindelse	IC_{50} (µM) VZV	$CCID_{50}$ (µM) efter 96 timer
12	1,44	>100
13	4,8-12	>100
*EYdU	0,02	1,6

Den langt lavere toksicitet for de omhandlede forbindelser ses tydeligt af denne Tabel.

* Data fra Antiviral Chemistry & Chemotherapy 3 (1992), tabel 1, side 294.

P A T E N T K R A V

1. Anvendelse af et pyrimidinnucleosid med formlen (I):



(I)

hvori

R^1 betegner en oxo- eller iminogruppe;

R^2 betegner hydrogen eller en C_{1-2}alkylgruppe;

R^3 betegner hydrogen eller en benzoylgruppe, eventuelt substitueret med én eller flere halogen-, alkyl-, hydroxy- eller alkoxysubstituenter; og

R^4 betegner hydrogen eller en hydroxygruppe;

eller et farmaceutisk acceptabelt salt, ester, eller salt af en sådan ester deraf, idet dog forbindelser undtages, hvor

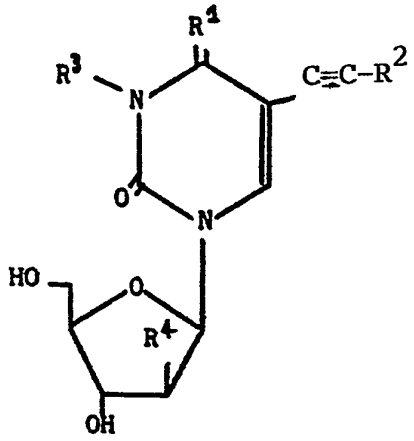
(a) R^2, R^3 og R^4 hver for sig er hydrogen, og R_1 er en oxogruppe, samt hvor

(b) R^2 er methyl, R^3 er hydrogen, R^4 er hydroxy, og R^1 er en oxogruppe,

til fremstilling af et lægemiddel til behandling af eller profylakse for en infektion med varicella zoster virus.

2. Anvendelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at R^2 betegner hydrogen eller methyl.

3. Pyrimidinnucleosid, k e n d e t e g n e t ved, at det har formlen (I)B



(I)B

hvori

R^1 betegner en oxo- eller iminogruppe;

R^2 betegner hydrogen eller en C_{1-2}alkylgruppe;

R^3 betegner hydrogen eller en benzoylgruppe, eventuelt substitueret med én eller flere halogen-, alkyl-, hydroxy- eller alkoxysubstituenter; og

R^4 betegner hydrogen eller en hydroxygruppe;

eller er et farmaceutisk acceptabelt salt, ester, eller salt af en sådan ester deraf, idet dog forbindelser undtages, hvor

(a) R^1 er imino, R^3 er hydrogen, og R^2 er hydrogen; samt hvor

(b) R^1 er oxo, og R^3 er hydrogen.

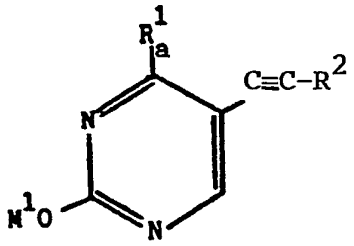
4. Pyrimidinnucleosid ifølge krav 3, k e n d e t e g n e t ved, at R^3 er hydrogen eller en benzoylgruppe.

5. Pyrimidinnucleosid ifølge krav 3 eller 4 til anvendelse ved human terapi.

6. Anvendelse af et pyrimidinnucleosid ifølge krav 3 til fremstilling af et lægemiddel til behandling af eller profylakse for en infektion med varicella zoster virus.

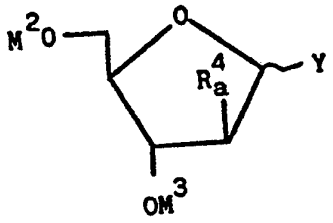
7. Fremgangsmåde til fremstilling af et pyrimidinnucleosid ifølge krav 3, k e n d e t e g n e t ved, at man enten:

A) kondenserer en forbindelse med den almene formel (II)



(II)

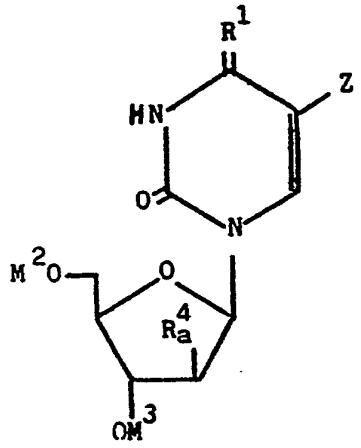
(hvori R^2 er som ovenfor defineret, $R^1{}_a$ er en beskyttet hydroxy- eller aminogruppe, og M^1 er en hydroxybeskyttende gruppe) med en forbindelse med den almene formel (III):



(III)

(hvori Y betegner halogen, M^2 og M^3 er hver for sig en hydroxybeskyttende gruppe, og $R^4{}_a$ er hydrogen eller en beskyttet hydroxygruppe); eller

(B) lader en forbindelse med den almene formel (IV):

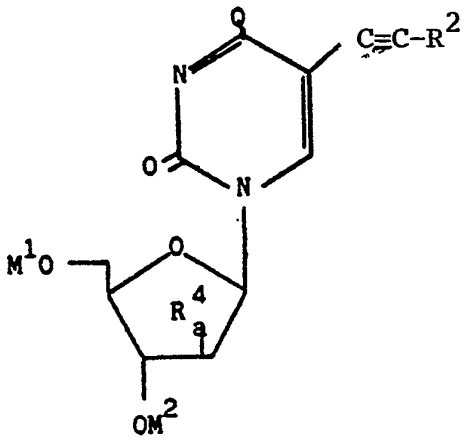


(IV)

hvori

R^1, M^2, M^3 og R^4_a er som ovenfor defineret, og Z er en fraspaltelig gruppe, reagere med en forbindelse, der er i stand til at tilvejebringe den nødvendige $-C{=}C-R^2$ gruppe (hvori R^2 er som ovenfor defineret) til opnåelse af en forbindelse med formel (I), hvori R^3 er hydrogen; eller

(C) lader en forbindelse med formel (V):



(V)

(hvori Q er en passende fraspaltelig gruppe, og R^2, M^1, M^2 og R^4_a er som ovenfor defineret) reagere med et middel til ombytning af Q med en aminogruppe; til dannelse af en forbindelse, hvori R^3 er hydrogen;

og eventuelt senere, eller samtidig hermed, udfører den

ene eller begge af følgende operationer, i vilkårlig orden:

i) fjerner eventuelt tilbageværende beskyttende grupper;

ii) når den dannede forbindelse er en forbindelse med formel (I)B, omdanner den til et farmaceutisk acceptabelt derivat (defineret som et salt, en ester eller et salt af en sådan ester) deraf, eller, når den dannede forbindelse er et farmaceutisk acceptabelt derivat, omdanner den til et andet farmaceutisk acceptabelt derivat, eller til en forbindelse med formel (I)B.