(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 695 35 476 T2** 2008.01.03

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 1 473 294 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **695 35 476.0**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **04 018 075.4**
(96) Europäischer Anmeldetag: **19.04.1995**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **03.11.2004**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **18.04.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **03.01.2008**

(51) Int Cl.[8]: ***C07D 411/04*** (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
230317 **20.04.1994** **US**

(73) Patentinhaber:
Shire BioChem Inc., Ville St-Laurent, Quebec, CA

(74) Vertreter:
Zounek, Plate, Schweitzer Patentanwaltskanzlei, 65203 Wiesbaden

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(72) Erfinder:
Mansour, Tarek S., New-City NN 10956, US; Jin, Haolun, Foster City CA 94404, US

(54) Bezeichnung: **Substituierte 1,3-Oxathiolane mit antviralen Eigenschaften**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

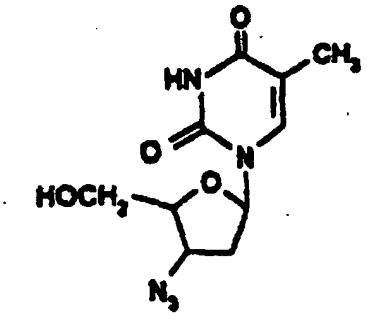
Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft neue substituierte 1,3-Oxathiolanverbindungen mit pharmakologischer Wirkung, pharmazeutische Zusammensetzungen, die diese Verbindungen enthalten, und die Verwendung dieser Verbindungen zur antiviralen Behandlung von Säugetieren.

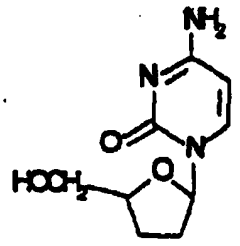
[0002] Retrovirale Infektionen sind ernstzunehmende Krankheitsursachen, besonders herausragend ist das Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). Das Human Immunodeficiency Virus (HIV) wurde als der Organismus identifiziert, der AIDS auslöst. Es wird derzeit aktiv nach Verbindungen gesucht, die eine hemmende Wirkung auf die HIV-Multiplikation haben oder auf andere Weise in der Therapie von retroviralen Infektionen Wirkung zeigen.

[0003] In "3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): An antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, S. 7096–7100 (1985), weisen H. Mitsuya et al. auf 3'-Azido-3'-desoxythymidin der Formel (A) hin, das allgemein als AZT bezeichnet wird. Diese Verbindung soll AIDS-Trägern einen gewissen Schutz gegen die zytopathogenischen Effekte des Immunodeficiency Virus (HIV) gewähren.



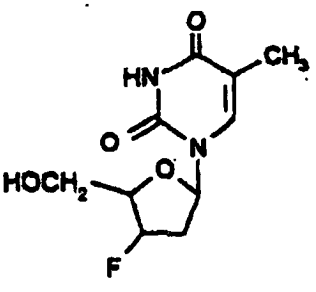
(A)

[0004] In "Inhibition of the in vitro infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotrophic virus type III/lymphadenopathy-associated virus (HTLV-III/LAV) by 2',3'-dideoxynucleosides", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, S. 1911–15 (1986), weisen H. Mitsuya und S. Broder auch auf eine Gruppe von in Formel (B) gezeigten 2',3'-Didesoxynukleosiden hin, die eine Schutzwirkung gegen HIV-induzierte Zytopathogenität aufweisen sollen.

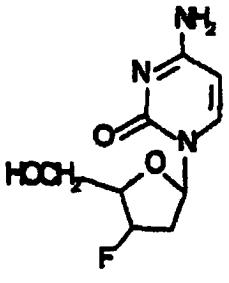


(B)

[0005] In "3'-Substituted 2',3'-dideoxynucleoside analogues as potential anti-HIV(HTLV-III/LAV) agents", J. Med. Chem., 30, S. 1270–1278 (1987), beschreiben P. Herdewijn et al. die anti-HIV-Wirkung einer Reihe von 3'-substituierten Nukleosidanaloga. Während gefunden wurde, daß 3'-Fluoranaloga von 3'-Desoxythymidin und 2',3'-Didesoxycytidin, die in Formel (C) und (D) gezeigt sind, eine starke antiretrovirale Aktivität aufweisen, führten über eine Thio- oder Sauerstoffbrücke mit dem 3'-Kohlenstoff verbundene Substituenten nicht zu aktiven Produkten.



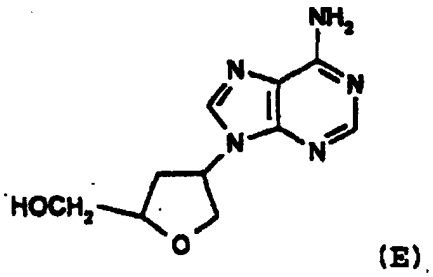
(C)



(D)

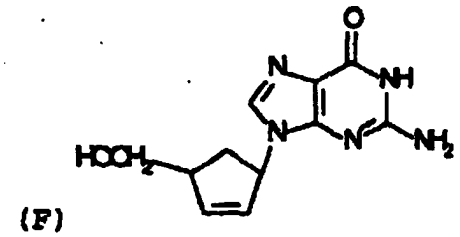
[0006] Eine Analyse der Untersuchung zur molekularen Konformation in P. Van Roey et al., "Correlation between preferred sugar ring conformation and activity of nucleoside analogues against human immunodeficiency virus", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86(10), S. 3929–3933 (1989), deutet darauf hin, daß wirksame anti-HIV-Nukleosidanaloga auf der der Base gegenüberliegenden Seite 3'-Kohlenstoffkonformationen aufweisen.

[0007] In "Synthesis of iso-ddA, member of a novel class of Anti-HIV agents", Tetrahedron Lett., 30(46), S. 6259–6262 (1989), verweisen D. Huryn et al. auf das Isonukleosidanalogon der Formel (E) als stabilen Inhibitor der HIV-Replikation.

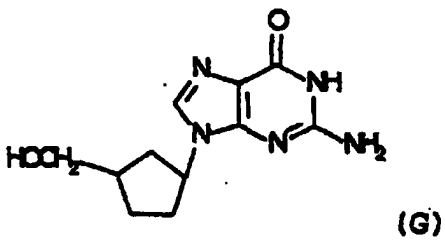


(E)

[0008] R. Vince und M. Hua beschreiben in "Synthesis and Anti-HIV activity of carbocyclic 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy 2,6-disubstituted purine nucleosides", J. Med. Chem., 33(1), S. 17–21 (1990), die in Formel (F) und (G) gezeigten Analoga mit anti-HIV-Aktivität. Das ungesättigte Analogon (F) zeigt als Inhibitor der HIV-Replikation größere Selektivität und Wirksamkeit als das gesättigte Analogon (G).

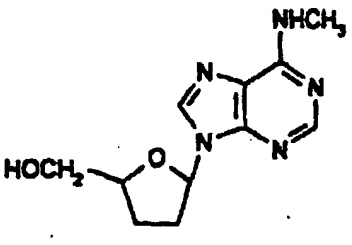


(F)



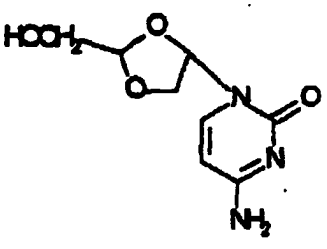
(G)

[0009] In "Synthesis and structure-activity relationships of 6-substituted 2',3'-dideoxypurine nucleosides as potential antihuman immunodeficiency virus agents", J. Med. Chem., 33(6), S. 1553–1561 (1990), beschreiben C. Chu et al. das in Formel (H) gezeigte N_6-Methylderivat, das eine stärkere Wirkung gegen HIV als nicht methyliertes 2',3'-Didesoxyadenosin haben soll.

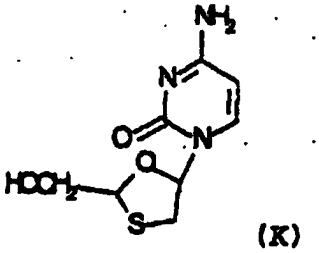


(H)

[0010] Schließlich verweisen B. Belleau et al., "Design and activity of a novel class of nucleoside analogues effective against HIV-1", Abstracts of papers, Fifth International Conference an AIDS, Montreal, T.C.O. 1, S. 515 (1989), auf Dioxolane und Oxathiolane der Formel (J) bzw. (K), die starke anti-HIV-Wirkung zeigen sollen.



(J)



(K)

[0011] Es wurde gefunden, daß das cis-Isomer der Formel (K) gegen HIV und HBV wirkt und sein unnatürliches Enantiomer ((2R,5S cis), das als "das (–)-Enantiomer" bezeichnet wird) eine überraschend niedrige To-

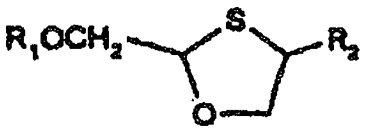
xizität aufweist. Mittlerweile als Lamivudin bzw. "3TC™" bezeichnet, ist dieses neue antivirale Arzneimittel auf dem Weg, die Behandlung der Wahl für die Kombinationstherapie von AIDS-Patienten und für die Einzeltherapie von HBV-Patienten zu werden.

[0012] Obwohl sich Lamivudin (3TC™) in der Klinik als eine äußerst interessante Verbindung erwies, besteht stets die Möglichkeit, daß sich nach einer längeren Behandlungszeit Virenstämme im Patienten entwickeln, die gegenüber dem Medikament resistent sind. Es ist daher weiterhin erforderlich, antivirale Mittel zu entwickeln, die gegen nukleosidresistente Virenstämme, insbesondere gegen 3TC™-resistente Virenstämme, wirksam sind.

KURZE DARSTELLUNG DER ERFINDUNG

[0013] Es wurde gefunden, daß als 2-substituierte 4-substituierte 1,3-Oxathiolane bekannte Verbindungsklassen eine starke antivirale Aktivität aufweisen. Insbesondere haben sich diese Verbindungen als wirksame Inhibitoren der HIV-1-Replikation in T-Lymphozyten erwiesen, die eine langfristige Wirkung und weniger zytotoxische Nebenwirkungen als die vom Stand der Technik bekannten Verbindungen haben. Es wurde weiterhin gefunden, daß diese Verbindungen auch gegen 3TC-resistente HIV-Stämme aktiv sind. Die Verbindungen eignen sich darüber hinaus zur Prophylaxe und Behandlung von Infektionen mit dem Hepatitis-B-Virus.

[0014] Demgemäß stellt diese Erfindung in einem ersten Aspekt ein einzelnes Enantiomer von Verbindungen der Formel (I) in der cis-Konfiguration



(I)

in der
R_1 für Wasserstoff steht,
R_2 für Cytosin oder 5-Fluorcytosin steht, und pharmazeutisch unbedenkliche Salze und Ester davon, bereit.

[0015] Der hier verwendete Ausdruck "pharmazeutisch unbedenkliches Salz oder Ester oder Salz eines solchen Esters der Verbindung der Formel (I)" steht für ein Salz, einen Ester, ein Salz eines solchen Esters oder eine andere Verbindung, die nach Verabreichung an den Empfänger die Verbindung der Formel (I) oder einen antiviral wirksamen Metaboliten oder Rest davon (direkt oder indirekt) bereitstellen kann.

[0016] Zu den pharmazeutisch unbedenklichen Salzen der Verbindungen der Formel (I) gehören die von pharmazeutisch verträglichen anorganischen und organischen Säuren und Basen abgeleiteten Salze. Geeignete Säuren sind beispielsweise Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Perchlorsäure, Fumarsäure, Maleinsäure, Phosphorsäure, Glykolsäure, Milchsäure, Salicylsäure, Bernsteinsäure, p-Toluolsulfonsäure, Weinsäure, Essigsäure, Zitronensäure, Methansulfonsäure, Ameisensäure, Benzoesäure, Malonsäure, Naphthalin-2-sulfonsäure und Benzolsulfonsäure. Andere Säuren, wie z.B. Oxalsäure, die selbst nicht pharmazeutisch unbedenklich sind, können sich zur Herstellung von Salzen eignen, die geeignete Zwischenprodukte bei der Darstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen und ihrer pharmazeutisch unbedenklichen Säureadditionssalze sind.

[0017] Zu den von den entsprechenden Basen abgeleiteten Salzen gehören Alkali- (z.B. Natrium-), Erdalkali- (z.B. Magnesium-), Ammonium- und N- $(C_{1-4}\text{-Alkyl})_4^+$-Salze.

[0018] Es versteht sich für den Fachmann, daß man die Verbindungen der Formel (I) so modifizieren kann, daß man pharmazeutisch unbedenkliche Salze und Ester davon erhält, sowohl an funktionellen Gruppen in der Cytosin-Einheit als auch an der Hydroxymethylgruppe des Oxathiolanrings. Modifikationen an allen diesen funktionellen Gruppen fallen mit in den Schutzbereich der Erfindung. Von besonderem Interesse sind jedoch pharmazeutisch unbedenkliche Salze und Ester (z.B. Ester oder Ester von Aminosäuren), die durch Modifikation der 2-Hydroxymethylgruppe des Oxathiolanrings erhalten werden.

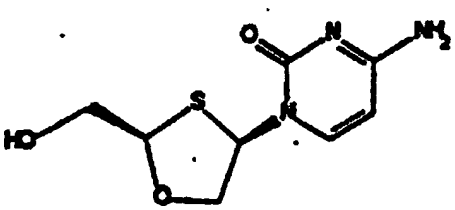
[0019] Zu den bevorzugten Estern der Verbindungen der Formel (I) gehören die Verbindungen, in denen R_1 durch eine Carboxylfunktion R-(CO) ersetzt ist, wobei die nicht-Carbonyleinheit R der Estergruppe aus Wasserstoff, geradkettigem oder verzweigtem Alkyl (z.B. Methyl, Ethyl, n-Propyl, tert.-Butyl, n-Butyl), Alkoxyalkyl (z.B. Methoxymethyl), Aralkyl (z.B. Benzyl), Aryloxyalkyl (z.B. Phenoxymethyl), Aryl (z.B. Phenyl, gegebenenfalls substituiert durch Halogen, C_{1-4}-Alkyl oder C_{1-4}-Alkoxy); substituiertem Dihydropyridinyl (z.B. N-Methyldi-

hydropyridinyl); Sulfonsäureestern wie z.B. Alkyl- oder Aralkylsulfonyl (z.B. Methansulfonyl); Schwefelsäureestern; Aminosäureestern (z.B. L-Valyl oder L-Isoleucyl) und Mono-, Di- oder Triphosphatestern ausgewählt ist.

[0020] Unter diese Ester fallen auch Ester, die von polyfunktionellen Säuren abgeleitet sind, wie z.B. Carbonsäuren, die mehr als eine Carboxylgruppe enthalten, beispielsweise Dicarbonsäuren $HO_2C(CH_2)_nCO_2H$, wobei n für eine ganze Zahl von 1 bis 10 steht (zum Beispiel Bernsteinsäure), oder Phosphorsäuren. Verfahren zur Herstellung solcher Ester sind wohlbekannt; siehe beispielsweise E. Hahn et al., "Nucleotide dimers as anti-human immunodeficiency virus agents", Nucleotide Analogues as Antiviral Agents, J.C. Martin, (Hrsg.), Symposium Series Nr. 401, American Chemical Society, S. 156–159 (1989) und M. Busso et al., "Nucleotide dimers suppress HIV expression in vitro", AIDS Research and Human Retroviruses, 4(6), S. 449–455 (1988).

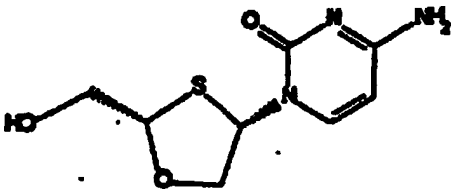
[0021] Zu den spezifischen Verbindungen der Formel I zählen:

Verbindung Nr. 1:



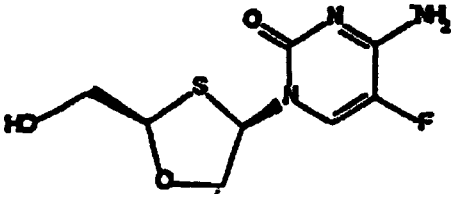
2R-Hydroxymethyl-4R-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;

Verbindung Nr. 2:



2S-Hydroxymethyl-4S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;

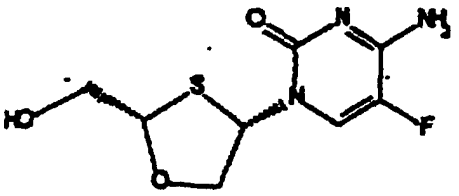
Verbindung Nr. 3:



2R-Hydroxymethyl-4R-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;

und

Verbindung Nr. 4:



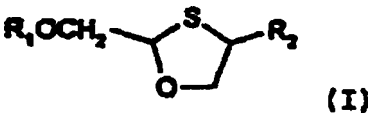
2S-Hydroxymethyl-4S-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;

und deren pharmazeutisch unbedenkliche Salze und Ester.

[0022] Bei den Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen werden die folgenden Definitionen verwendet:
R_2 steht für Cytosin oder 5-Fluorcytosin;
R_w steht für Wasserstoff, trisubstituiertes Silyl, C_{1-6}-Alkyl, Aralkyl wie z.B. Benzyl oder Trityl, C_{1-16}-Acyl, vorzugsweise Benzoyl oder einen Benzoyl-Rest, der in einer beliebigen Position durch wenigstens ein Halogen (Brom, Chlor, Fluor oder Iod), C_{16}-Alkyl, C_{1-6}-Alkoxy, Nitro oder eine Trifluormethylgruppe substituiert ist;
R_x steht für C_{1-6}-Alkyl; und
L steht für eine "Abgangsgruppe", d.h. ein Atom oder eine Gruppe, das/die durch Umsetzung mit einer geeigneten Base mit oder ohne Lewis-Säure ersetzt werden kann. Geeignete Abgangsgruppen sind beispielsweise Acyloxygruppen, Alkoxygruppen, Alkoxycarbonylgruppen, wie z.B. Ethoxycarbonyl; Halogene wie z.B. Iod, Brom, Chlor oder Fluor; Amido; Azido; Isocyanato; gegebenenfalls substituierte gesättigte oder ungesättigte Thiolate, wie z.B. Thiomethyl oder Thiophenyl; gegebenenfalls substituierte gesättigte oder ungesättigte Seleno- oder Seleninoverbindungen, wie z.B. Phenylselenid oder Alkylselenid; und gegebenenfalls substituierte gesättigte oder ungesättigte aliphatische oder aromatische Ketone wie z.B. Dimethylketon.

[0023] Eine weitere geeignete Abgangsgruppe kann auch -OR sein, wobei R für eine gegebenenfalls substituierte gesättigte oder ungesättigte Alkylgruppe, z.B. eine C_{1-6}-Alkyl- oder -Alkenylgruppe; eine gegebenenfalls substituierte aliphatische oder aromatische Acylgruppe, z.B. eine aliphatische C_{1-6}-Acylgruppe wie z.B. Acetyl oder eine aromatische Acylgruppe wie z.B. Benzoyl; eine gegebenenfalls substituierte gesättigte oder ungesättigte Alkoxy- oder Aryloxycarbonylgruppe, wie z.B. Methylcarbonat und Phenylcarbonat; ein gegebenenfalls substituiertes Sulfonsäureimidazolid; eine gegebenenfalls substituierte aliphatische oder aromatische Aminocarbonylgruppe wie z.B. Phenylcarbamat; eine gegebenenfalls substituierte Alkylimidatgruppe wie z.B. Trichloracetamidat; eine gegebenenfalls substituierte gesättigte oder ungesättigte Phosphonatgruppe wie z.B. Diethylphosphonat; eine gegebenenfalls substituierte aliphatische oder aromatische Sulfonylgruppe wie z.B. Tosylat; oder Wasserstoff steht.

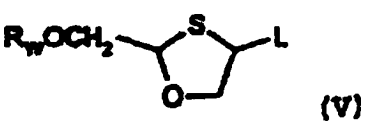
[0024] Oxathiolanverbindungen der Formel (I)



(I)

und pharmazeutisch verträgliche Salze und Ester können gemäß der hier diskutierten Verfahren oder durch eine beliebige aus dem Stand der Technik bekannte Methode zur Herstellung von Verbindungen analoger Struktur dargestellt werden. Die erfindungsgemäße Verbindung kann durch die von Mansour et al. in "Anti-Human Immunodeficiency Virus and Anti-Hepatitis-B Virus Activities and Toxicities of the Enantiomers of 2'-Deoxy-3'-oxa-4'-thiacytidine and Their 5-Fluoro Analogues in vitro", J. Med. Chem., 1995, Band 38, Nr. 1, S. 1–4, beschriebenen Methoden dargestellt werden, wobei der Inhalt des vorstehend genannten Dokuments durch Verweis ausdrücklich Bestandteil der vorliegenden Offenbarung ist.

[0025] Bei einem solchen Verfahren zur Darstellung von erfindungsgemäßen Oxathiolanen setzt man eine Verbindung der Formel (V)

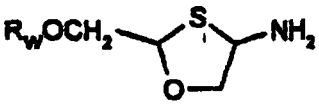


(V)

in welcher R_w für Wasserstoff oder eine Schutzgruppe für Hydroxyl und L für ein ersetzbares Atom bzw. eine

ersetzbare Gruppe, d.h. eine Abgangsgruppe, steht, mit einer geeigneten Base um.

[0026] Gemäß einem zweiten Verfahren zur Darstellung von erfindungsgemäßen Oxathiolanen kann man eine Verbindung der Formel (VI)



(VI)

durch Umwandlung der anomeren NH_2-Gruppe in die erforderliche Base durch aus der Nukleosidchemie gut bekannte Methoden in eine Verbindung der Formel (I) umwandeln.

[0027] Die 1,3-Oxathiolane der Formel (I) lassen sich auch beispielsweise durch Umsetzung eines Aldehyds der Formel (VII)

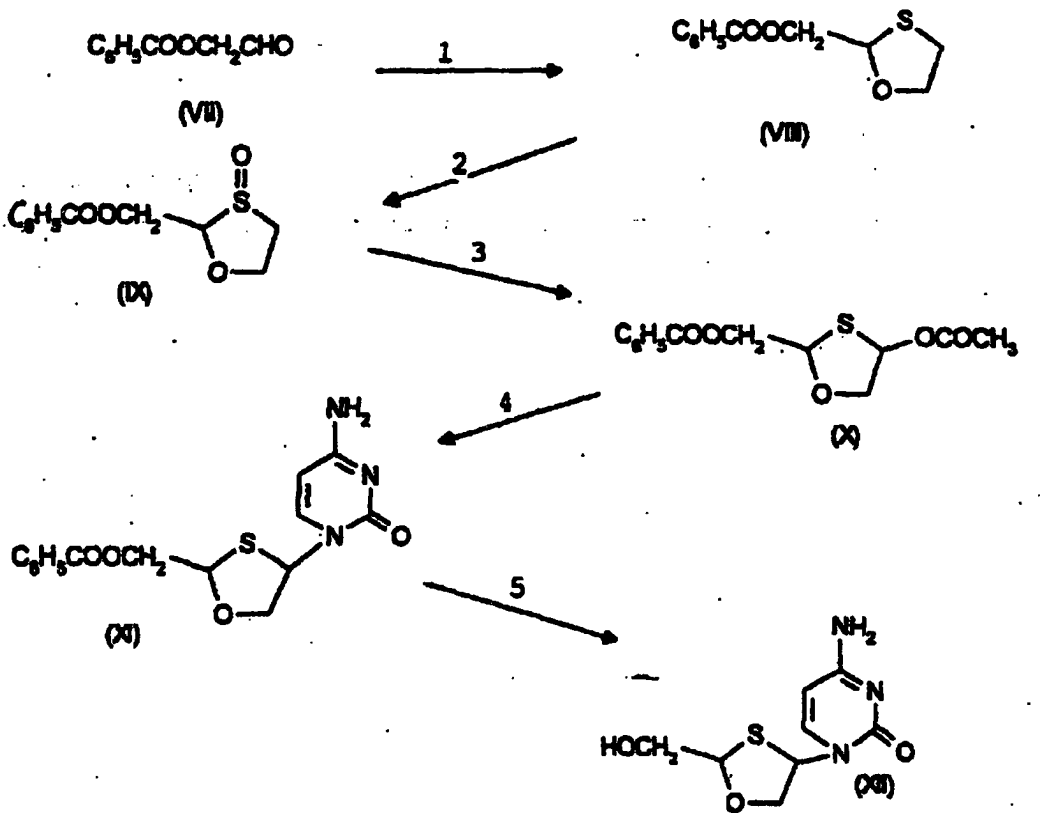
$C_6H_5COOCH_2CHO$ (VII)

mit 2-Mercaptoethanol in einem kompatiblen organischen Lösungsmittel und anschließender Pummerer-Umlagerung, die aus dem Stand der Technik bekannt ist (T. Durst, "Dimethylsulfoxide in Organic Synthesis", Adv. Org. Chem., E.C. Taylor und B. Wynberg, (Hrsg.), 6, S. 356–365 (1969)), zu 1,3-Oxathiolanen der Formel (V), die mittels aus der Nukleosidchemie bekannten Methoden in die 1,3-Oxathiolane der Formel (I) umgewandelt werden, darstellen.

[0028] Ein weiteres Verfahren zur Darstellung der 1,3-Oxathiolane der Formel (I) ist in SCHEMA 1 gezeigt.

[0029] Die verschiedenen an der Synthese von 1,3-Oxathiolanen der Formel (I) beteiligten Schritte, wie in SCHEMA 1 gezeigt, können kurz wie folgt beschrieben werden:

SCHEMA 1



[0030] Schritt 1: Benzoyloxyacetaldehyd der Formel (VII) oder ein beliebiges Aldehyd der Formel R_wOCH_2CHO (C.D. Hurd und E.M. Filiachione, "A new approach to the synthesis of aldehyde sugars", J. Am. Chem. Soc., 61, S. 1156–1159 (1939)), wird mit einem Mercaptoalkohol wie 2-Mercaptoethanol in einem kompatiblen organischen Lösungsmittel wie z.B. Toluol, das eine katalytische Menge einer starken Säure enthält,

zu dem in Formel (VIII) gezeigten Zwischenprodukt kondensiert.

[0031] Schritt 2: Das 1,3-Oxathiolan der Formel (VIII) wird dann mit einer Persäure wie z.B. Magnesium-monoperoxyphthalsäure in einem kompatiblen organischen Lösungsmittel wie z.B. Methylenchlorid, das ein Salz wie z.B. Tetrabutylammonium-bromid enthält, zum in Formel (IX) gezeigten Sulfoxid-Zwischenprodukt oxidiert.

[0032] Schritt 3: Das in Formel (IX) gezeigte Sulfoxid-Zwischenprodukt wird mit einem Säureanhydrid wie z.B. Essigsäureanhydrid oder einem beliebigen anderen Anhydrid der Formel $(R_xCO)_2O$ in Gegenwart eines Puffers wie z.B. Tetra-n-butylammonium-acetat behandelt, wodurch man das 2,4-disubstituierte 1,3-Oxathiolan der Formel (X) erhält (T. Durst, Adv. Org. Chem., 6, S. 356–365 (1969)).

[0033] Schritt 4: Das 1,3-Oxathiolan der Formel (X) wird dann mit einer Pyrimidinbase oder einem Analogon davon (z.B. Cytosin), das zuvor beispielsweise mit Hexamethyldisilazan in einem kompatiblen Lösungsmittel unter Verwendung einer Lewis-Säure oder Trimethylsilyltriflat silyliert wurde, umgesetzt, wodurch man das Zwischenprodukt der Formel (XI) als cis- und trans-Isomere erhält. Die Isomere lassen sich vorzugsweise chromatographisch trennen, wodurch man reines cis- (XI) und reines trans- (XI) erhält.

[0034] Schritt 5: Die Benzoatfunktion der Verbindung der Formel (XI) (cis- oder trans-Isomer) wird unter der Verwendung einer Base wie z.B. methanolischem Ammoniak hydrolysiert, wodurch sich die Verbindung aus Formel (XII) als cis- oder trans-Isomer ergibt.

[0035] Viele der Reaktionen in den oben beschriebenen Verfahren sind im Zusammenhang mit Pyrimidinnukleosidsynthesen, beispielsweise in L.B. Townsend, "Synthesis and reaction of pyrimidine nucleoside", Chemistry of Nucleosides and Nucleotides, Band 1, Hrsg., Plenum Press, New York (1989) auf den Seiten 1–95, dessen Inhalt ausdrücklich Bestandteil der vorliegenden Offenbarung ist, eingehend behandelt worden.

[0036] In dem oben beschriebenen Verfahren werden die Verbindungen der Formel (I) im allgemeinen als eine Mischung von cis- und trans-Isomeren erhalten.

[0037] Die cis- und trans-Isomere lassen sich trennen, beispielsweise durch Acetylierung, z.B. mit Essigsäureanhydrid, und anschließende Trennung mit physikalischen Mitteln, z.B. Kieselgelchromatographie, und Deacetylierung, z.B. mit methanolischem Ammoniak, oder durch fraktionierte Kristallisation.

[0038] Eine Spaltung des Endprodukts oder eines Zwischenprodukts oder Ausgangsmaterials davon kann also durch jede geeignete, aus dem Stand der Technik bekannte Methode durchgeführt werden: siehe beispielsweise Stereochemistry of Carbon Compounds, von E.L. Eliel (McGraw Hill, 1962) und Tables of Resolving Agents, von S.H. Wilen.

[0039] Will man die Verbindung der Formel (I) als einzelne Enantiomere erhalten, so läßt sich diese entweder durch Spaltung der Mischung der beiden cis-Enantiomeren (durch chirale HPLC) oder durch stereospezifische Synthese aus isometralen reinen Ausgangsmaterialien oder einem geeigneten Zwischenprodukt gewinnen. So kann man die Verbindung der Formel (I) oder ein geeignetes Zwischenprodukt durch chirale HPLC unter Verwendung einer geeigneten stationären Phase, beispielsweise acetyliertem β-Cyclodextrin oder Cellulosetriacetat, und eines geeigneten Lösungsmittels, beispielsweise einem Alkohol wie Ethanol oder einer wäßrigen Lösung wie Triethylammoniumacetat, erhalten. Alternativ dazu kann man die Verbindung der Formel (I) oder ein geeignetes Zwischenprodukt durch enantioselektiven enzymatischen Abbau mit einem geeigneten Enzym wie z.B. Cytidindeaminase oder selektiven enzymatischen Abbau eines geeigneten Derivats unter Verwendung von 5'-Nukleotidase spalten, siehe zum Beispiel Storer et al., "The resolution and Absolute Stereochemistry of the Enantiomers of cis-1[2 (Hydroxomethyl)-1,3-Oxathiolan-5-yl)Cytosine (BCH-189): Equipotent Anti-HIV Agents", Nucleosides & Nucleotides, 12(2), 225–236 (1993). Wird die Spaltung enzymatisch durchgeführt, so kann man das Enzym entweder in Lösung oder in immobilisierter Form einsetzen. Enzyme in immobilisierter Form sind aus dem Stand der Technik bekannt, sie können beispielsweise durch Adsorption an einem Harz wie Eupergit erhalten werden.

[0040] Es versteht sich, daß für die Umsetzungen in den oben beschriebenen Verfahren die Verwendung von Ausgangsmaterialien mit geschützten funktionellen Gruppen erforderlich sein kann bzw. diese Verfahren vorteilhaft mit solchen Ausgangsmaterialien durchgeführt werden, und daß deshalb in einem Zwischenschritt bzw. dem abschließenden Schritt eine Entschützung zu den gewünschten Verbindungen erforderlich sein könnte. Schützen und Entschützen von funktionellen Gruppen kann auf herkömmliche Weise durchgeführt werden. So kann man beispielsweise Aminogruppen mit einer aus Aralkyl (z.B. Benzyl), Acyl oder Aryl (z.B. 2,4-Dinitro-

phenyl) ausgewählten Gruppe schützen; wobei die anschließende Abspaltung der Schutzgruppe zum gewünschten Zeitpunkt unter Anwendung von Hydrolyse bzw. Hydrogenolyse unter Standardbedingungen durchgeführt wird. Hydroxylgruppen lassen sich durch herkömmliche Schutzgruppen für Hydroxyl, wie beispielsweise in "Protective Groups in Organic Chemistry", Hrsg. J.F.W. McOmie (Plenum Press, 1973) oder "Protective Groups in Organic Synthesis" von Theodors W. Greene (John Wiley and Sons, 1981), die durch Verweis ausdrücklich Bestandteil der vorliegenden Offenbarung sind, beschrieben, schützen. Geeignete Schutzgruppen für Hydroxyl sind beispielsweise Gruppen ausgewählt aus Alkyl (z.B. Methyl, tert.-Butyl oder Methoxymethyl), Aralkyl (z.B. Benzyl, Diphenylmethyl oder Triphenylmethyl), heterocyclische Gruppen wie z.B. Tetrahydropyranyl, Acyl (z.B. Acetyl oder Benzoyl) und Silylgruppen wie Trialkylsilyl (z.B. tert.-Butyldimethylsilyl). Die Schutzgruppen für Hydroxyl lassen sich durch herkömmliche Methoden abspalten. So kann man beispielsweise Alkyl-, Silyl-, Acyl- und Heterocyclylgruppen solvolytisch, z.B. durch Hydrolyse unter sauren oder basischen Bedingungen, abspalten. Aralkylgruppen wie z.B. Triphenylmethyl lassen sich ähnlich durch Solvolyse entfernen, z.B. durch Hydrolyse unter sauren Bedingungen. Aralkylgruppen wie Benzyl kann man zum Beispiel durch Behandlung mit BF_3/Etherat und Essigsäureanhydrid und anschließende Entfernung der in einer geeigneten Stufe der Synthese so gebildeten Acetatgruppen spalten. Silylgruppen lassen sich auch vorteilhaft unter Verwendung einer Fluoridionenquelle wie z.B. Tetra-n-butylammoniumfluorid abspalten.

[0041] Pharmazeutisch verträgliche Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen lassen sich wie in US-Patent Nr. 4,383,114, dessen Inhalt durch Verweis ausdrücklich Bestandteil der vorliegenden Offenbarung ist, beschrieben, darstellen. Will man zum Beispiel ein Säureadditionssalz einer Verbindung der Formel (I) darstellen, so kann man das Produkt einer der obengenannten Vorschriften in ein Salz umwandeln, indem man die so erhaltene freie Base unter Anwendung herkömmlicher Methoden mit einer geeigneten Säure behandelt. Pharmazeutisch verträgliche Säureadditionssalze können dargestellt werden, indem man die freie Base mit einer geeigneten Säure umsetzt, gegebenenfalls in Gegenwart eines geeigneten Lösungsmittels wie einem Ester (z.B. Essigsäureethylester) oder einem Alkohol (z.B. Methanol, Ethanol oder Isopropanol). Anorganische basische Salze lassen sich darstellen, indem man die freie Base mit einer geeigneten Base wie einem Alkoholat (z.B. Natriummethanolat) umsetzt, gegebenenfalls in Gegenwart eines Lösungsmittels wie einem Alkohol (z.B. Methanol). Pharmazeutisch verträgliche Salze können auch unter Anwendung herkömmlicher Methoden aus anderen Salzen der Verbindungen der Formel (I) dargestellt werden, einschließlich anderer pharmazeutisch verträglicher Salze.

[0042] Durch Umsetzung mit einem Phosphorylierungsmittel wie z.B. $POCl_3$ oder einem geeigneten Veresterungsmittel wie z.B. einem Säurehalogenid bzw. -anhydrid läßt sich eine Verbindung der Formel (I) in ein pharmazeutisch verträgliches Phosphat oder einen anderen Ester umwandeln. Ein Ester oder ein Salz einer Verbindung der Formel (I) läßt sich beispielsweise durch Hydrolyse in die Stammverbindung umwandeln.

[0043] Die erfindungsgemäßen Verbindungen haben antivirale Wirkung. Die Verbindungen eignen sich insbesondere zur Hemmung der Replikation von Hepatitis-B-Virus und Retroviren einschließlich humaner Retroviren wie Human Immunodeficiency Viruses (HIV's), dem AIDS-Erreger.

[0044] Die Erfindung betrifft also auch in einem weiteren Aspekt eine Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch akzeptables Derivat davon zur Verwendung als therapeutischer Wirkstoff insbesondere als ein antivirales Mittel, beispielsweise bei der Behandlung von Hepatitis-B-viralen und retroviralen Infektionen wie HIV-Infektion.

[0045] Die Erfindung betrifft ferner in einem weiteren oder alternativen Aspekt die Verwendung einer Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch akzeptablen Derivats davon zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung einer viralen Infektion.

[0046] Bei derartigen viralen Infektionen kann es sich insbesondere um HIV- und HBV-Infektionen handeln.

[0047] Die Erfindung betrifft weiterhin in einem weiteren oder alternativen Aspekt ein Verfahren zur Behandlung einer viralen Infektion, insbesondere einer Infektion aufgrund von Hepatitis-B-Virus oder eines Retrovirus wie HIV in einem Säugetier, einschließlich der Menschen, bei dem man eine wirksame Menge einer antiviralen Verbindung der Formel (I) oder eines pharmazeutisch akzeptablen Derivats davon verabreicht.

[0048] Die Verbindungen der Formel (I) eignen sich auch zur Behandlung von mit AIDS in Zusammenhang stehenden Zuständen, wie z.B. dem AIDS-Related Complex (ARC), persistierender generalisierter Lymphadenopathie (PGL), mit AIDS in Zusammenhang stehenden neurologischen Zuständen (wie Demenz), anti-HIV-Antikörperpositiven und HIV-positiven Befunde, Kaposi-Sarkom, thrombozytopenischer Purpura und op-

portunistischen Infektionen.

[0049] Die erfindungsgemäßen Verbindungen eignen sich weiterhin dazu, bei anti-HIV-Antikörper- oder HIV-Antigen-positiven Individuen einen Ausbruch von klinischen Symptomen zu verhindern, und zur Prophylaxe nach HIV-Exposition.

[0050] Die erfindungsgemäßen Verbindungen und deren pharmazeutisch verträgliche Salze und Ester können darüber hinaus verwendet werden, um einer viralen Kontaminierung von biologischen Flüssigkeiten wie z.B. Blut oder Samen in vitro vorzubeugen.

[0051] Es versteht sich für den Fachmann, daß hier Verweise auf Behandlungen neben der Behandlung auch die Prophylaxe von etablierten Infektionen bzw. Symptomen umfassen.

[0052] Es versteht sich weiterhin, daß die für eine Behandlung erforderliche Menge einer erfindungsgemäßen Verbindung Verwendung nicht nur von der betreffenden Verbindung abhängt, die ausgewählt wurde, sondern auch von dem Verabreichungsweg, der Art des behandelten Zustands und dem Alter sowie dem Zustand des Patienten, und letztendlich vom behandelnden Arzt bzw. Veterinärmediziner entschieden wird. Im allgemeinen liegen geeignete Dosierungen jedoch im Bereich von etwa 1 bis etwa 750 mg/kg Körpergewicht pro Tag, wie z.B. von 3 bis etwa 120 mg pro Kilogramm Körpergewicht des Empfängers pro Tag, vorzugsweise im Bereich von 6 bis 90 mg/kg/Tag, ganz besonders bevorzugt im Bereich von 15 bis 60 mg/kg/Tag.

[0053] Die gewünschte Dosis kann vorteilhaft als einzelne Dosis verabreicht werden, oder in Teildosen, die in geeigneten Abständen verabreicht werden, beispielsweise als zwei, drei, vier oder mehr Teildosen pro Tag.

[0054] Die Verbindung wird vorteilhaft in Einzeldosisform verabreicht, wobei die einzelne Einzeldosisform beispielsweise 10 bis 1500 mg, vorteilhaft 20 bis 1000 mg, ganz besonders vorteilhaft 50 bis 700 mg Wirkstoff enthält.

[0055] Idealerweise sollte der Wirkstoff so verabreicht werden, daß Wirkstoff-Spitzenplasmakonzentrationen von etwa 1 bis 75 µM, vorzugsweise von etwa 2 bis 50 µM, ganz besonders bevorzugt von etwa 3 bis etwa 30 µM erzielt werden. Dies läßt sich beispielsweise durch intravenöse Injektion einer 0,1 bis 5%igen Wirkstofflösung, gegebenenfalls in Kochsalzlösung, oder durch Verabreichung als Bolus mit von etwa 0,1 bis etwa 110 mg/kg Wirkstoff erreichen. Die gewünschten Konzentrationen im Blut können durch kontinuierliche Infusion, bei der von etwa 0,01 bis etwa 5,0 mg/kg/Stunde zugeführt werden, oder durch periodische Infusionen mit etwa 0,4 bis etwa 15 mg/kg Wirkstoff, aufrechterhalten werden.

[0056] Bei der therapeutischen Verwendung ist es möglich, eine erfindungsgemäße Verbindung als reine Chemikalie zu verabreichen; der Wirkstoff wird jedoch vorzugsweise als pharmazeutische Formulierung dargereicht.

[0057] Die Erfindung stellt somit weiterhin eine pharmazeutische Formulierung bereit, die eine Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch verträgliches Derivat davon zusammen mit einem oder mehreren pharmazeutisch verträglichen Trägerstoffen und gegebenenfalls anderen therapeutischen und/oder prophylaktischen Bestandteilen enthält. Der Trägerstoff/die Trägerstoffe muß/müssen in dem Sinne "verträglich" sein, daß sie mit den anderen Bestandteilen der Formulierung kompatibel sind und dem Empfänger der Formulierung nicht schaden.

[0058] Zu den pharmazeutischen Formulierungen gehören die für eine orale, rektale, nasale, topische (einschließlich bukkale und sublinguale), vaginale oder parenterale (einschließlich intramuskuläre, subkutane und intravenöse) Verabreichung geeigneten und diejenigen in einer Form, die sich für eine Verabreichung durch Inhalation oder Insufflation eignet. Die Formulierungen können gegebenenfalls vorteilhaft in einzelnen Dosierungseinheiten dargereicht und durch eine der in der Pharmazie gut bekannten Methoden dargestellt werden. Alle Methoden umfassen einen Schritt, bei dem der Wirkstoff in Verbindung mit flüssigen Trägerstoffen oder feinteiligen festen Trägerstoffen oder beiden gebracht wird und dann, falls erforderlich, das Produkt zur gewünschten Formulierung geformt wird.

[0059] Zur oralen Verabreichung geeignete pharmazeutische Formulierungen können vorteilhaft als diskrete Einheiten wie z.B. Kapseln, Cachets oder Tabletten, die jeweils eine festgelegte Menge an Wirkstoff enthalten; als ein Pulver oder Granulat; als eine Lösung; als eine Suspension; oder als eine Emulsion dargereicht werden. Der Wirkstoff kann auch als Bolus, Elektuarium oder Paste dargereicht werden. Tabletten und Kapseln zur ora-

len Verabreichung können herkömmliche Hilfsstoffe wie z.B. Bindemittel, Füllstoffe, Gleitmittel, Auflösemittel oder Netzmittel enthalten. Die Tabletten können nach im Stand der Technik gut bekannten Methoden beschichtet werden. Flüssige orale Zubereitungen können beispielsweise in Form von wäßrigen oder öligen Suspensionen, Lösungen, Emulsionen, Sirupen oder Elixieren vorliegen, oder als Trockenprodukt zum Einsatz mit Wasser oder einem anderen geeigneten Vehikel vorgelegt werden. Solche flüssigen Zubereitungen können herkömmliche Zusatzstoffe wie z.B. Suspensionsmittel, Emulgatoren, nicht-wäßrige Vehikel (zu denen auch eßbare Öle gehören können) oder Konservierungsstoffe enthalten.

[0060] Es ist auch möglich, die erfindungsgemäßen Verbindungen für eine parenterale Verabreichung (z.B. durch Injektion, beispielsweise Bolusinjektion oder kontinuierliche Infusion) zu formulieren, und sie in Einzeldosisform in Ampullen, vorgefüllte Spritzen, Infusionen mit geringem Volumen oder in Behältnissen zur Mehrfachdosierung mit einem zugegebenen Konservierungsmittel vorzulegen. Die Zusammensetzungen können in Form von Suspensionen, Lösungen oder Emulsionen in öligen oder wäßrigen Vehikeln vorliegen und Formulierungsmittel wie Suspensionsmittel, Stabilisatoren und/oder Dispergiermittel enthalten. Alternativ dazu kann der Wirkstoff in Pulverform, die durch aseptische Isolierung des sterilen Feststoffs oder durch Lyophilisierung aus einer Lösung erhalten wird, vorliegen, wobei der Wirkstoff dann vor Verwendung mit einem geeigneten Vehikel, z.B. sterilem Pyrogen-freiem Wasser, zubereitet wird.

[0061] Zur topischen Verabreichung auf die Epidermis können die erfindungsgemäßen Verbindungen als Salben, Cremen oder Lotionen oder als transdermales Pflaster formuliert werden. Salben und Cremen können beispielsweise auf wäßriger oder öliger Grundlage formuliert werden, wobei geeignete Verdickungs- und/oder Geliermittel zugegeben werden. Lotionen können auf wäßriger oder öliger Grundlage formuliert werden und enthalten im allgemeinen außerdem einen oder mehrere Emulgatoren, Stabilisatoren, Dispergiermittel, Suspensionsmittel, Verdickungsmittel oder Farbstoffe.

[0062] Zu den für eine topische Verabreichung im Mund geeigneten Formulierungen gehören Lutschtabletten, die den Wirkstoff in einer Geschmacksstoffbasis, gewöhnlich Saccharose und Gummi arabicum oder Tragant, enthalten; Pastillen, die den Wirkstoff in einer inerten Grundlage wie z.B. Gelatine und Glycerin oder Saccharose und Gummi arabicum enthalten; und Mundwässer, die den Wirkstoff in einem geeigneten flüssigen Trägerstoff enthalten.

[0063] Pharmazeutische Formulierungen, die sich für eine rektale Verabreichung eignen, bei denen der Trägerstoff ein Feststoff ist, werden besonders bevorzugt als Einzeldosiszäpfchen dargestellt. Zu den geeigneten Trägerstoffen gehören Kakaobutter und andere gewöhnlich im Stand der Technik verwendete Materialien, und die Zäpfchen können vorteilhaft durch Vermischen des Wirkstoffs mit dem aufgeweichten oder geschmolzenen Trägerstoff bzw. den aufgeweichten oder geschmolzenen Trägerstoffen und anschließendes Abkühlen und Formen in Gußformen gebildet werden.

[0064] Formulierungen, die sich für eine vaginale Verabreichung eignen, können als Pessare, Tampons, Cremen, Gele, Pasten, Schäume oder Sprays, die zusätzlich zum Wirkstoff Träger enthalten, von denen aus dem Stand der Technik bekannt ist, daß sie geeignet sind, dargereicht werden.

[0065] Zur intranasalen Verabreichung können die erfindungsgemäßen Verbindungen als flüssiges Spray oder dispergierbares Pulver oder in Form von Tropfen verwendet werden.

[0066] Tropfen können auf wäßriger oder nicht-wäßriger Grundlage formuliert werden, die auch ein oder mehrere Dispergiermittel, Lösungsmittel oder Suspensionsmittel enthalten kann. Flüssige Sprays werden vorteilhaft aus unter Druck stehenden Packungen verabreicht.

[0067] Zur Verabreichung durch Inhalation werden die erfindungsgemäßen Verbindungen vorteilhaft aus einem Insufflator, Vernebler oder einer unter Druck stehenden Packung oder durch ein anderes vorteilhaftes Mittel zur Verabreichung eines Aerosolsprays verabreicht. Unter Druck stehende Packungen können ein geeignetes Treibmittel enthalten, wie z.B. Dichlordifluormethan, Trichlorfluormethan, Dichlortetrafluorethan, Kohlenstoffdioxid oder ein anderes geeignetes Gas. Bei einem unter Druck stehenden Aerosol kann man die Dosiseinheit festlegen, indem man ein Ventil zur Abgabe einer abgemessenen Menge bereitstellt.

[0068] Alternativ dazu können bei Verabreichung durch Inhalation oder Insufflation die erfindungsgemäßen Verbindungen in Form einer Trockenpulverzusammensetzung, beispielsweise als Pulvermischung der Verbindung und einer geeigneten Pulverbasis wie z.B. Lactose oder Stärke vorliegen. Die Pulverzusammensetzungen können in Einzeldosisform beispielsweise in Kapseln oder Kartuschen oder z.B. Gelatine- oder Durch-

drückpackungen, aus denen das Pulver mit Hilfe eines Inhalationsgeräts oder eines Insufflators verabreicht wird, dargereicht werden.

[0069] Gewünschtenfalls können die oben beschriebenen Formulierungen in einer Form eingesetzt werden, bei der der Wirkstoff retardiert abgegeben wird.

[0070] Die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen können auch andere Wirkstoffe wie z.B. antimikrobielle Mittel oder Konservierungsstoffe enthalten.

[0071] Die erfindungsgemäßen Verbindungen können zur Vermeidung des Entstehens von resistenten Virenstämmen auch in einer Kombinationstherapie eingesetzt werden.

[0072] Insbesondere können die erfindungsgemäßen Verbindungen auch in Kombination mit anderen therapeutischen Mitteln, beispielsweise anderen Antiinfektionsmitteln, angewendet werden. Die erfindungsgemäßen Verbindungen können insbesondere zusammen mit bekannten antiviralen Mitteln eingesetzt werden.

[0073] Gemäß einem weiteren Aspekt stellt die Erfindung somit eine Kombination, enthaltend eine Verbindung der Formel (I) oder ein physiologisch verträgliches Derivat davon zusammen mit einem anderen therapeutisch wirksamen Mittel, insbesondere einem antiviralen Mittel, bereit.

[0074] Zu den therapeutischen Mitteln, die sich zur Verwendung in einer solchen Kombination eignen, gehören Nukleosid-Analoga, wie z.B. 3TC™, 3'-Azido-3'desoxythymidin (AZT), 2',3'-Didesoxycytidin (ddC), 2',3'-Didesoxyadenosin, 2',3'-Didesoxyinosin (ddI), 3'-Desoxythymidin, 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrothymidin und 2',3'-Didesoxy-2',3'-didehydrocytidin und Ribavirin; acyclische Nukleoside wie Acyclovir, Ganciclovir, Interferone wie alpha-, beta- und gamma-Interferon; Glukuronisierungsinhibitoren wie Probenecid; Hemmer des Nukleosidtransports wie Dipyridamol; Immunmodulatoren wie Interleukin-II (IL2) und Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF), Erythropoietin, Ampligen, Thymomodulin, Thymopentin, Foscarnet, Glykosylierungsinhibitoren wie 2-Desoxy-D-Glukose, Castanospermin, 1-Desoxynojirimycin; und Stoffe, die die Bindung von HIV an CD4-Rezeptoren hemmen, wie z.B. lösliches CD4, CD4-Fragmente, CD4-Hybridmoleküle und HIV-Aspartylproteasehemmer wie L-735,524.

[0075] Weitere zur Verwendung in solchen Kombinationen geeignete therapeutische Mittel sind auch beispielsweise nicht-nukleosidische Reverse-Transcriptase-Inhibitoren wie Revirapin, TIBO, HEPT, BHAP, MKC-422, α-APA, TSAO, Kalanolide und L-697,661.

[0076] Das weitere therapeutische Mittel ist vorzugsweise aus 3TC™, AZT, ddC und ddI ausgewählt.

[0077] Die einzelnen Komponenten solcher Kombinationen können entweder nacheinander oder gleichzeitig verabreicht werden, in getrennten oder kombinierten pharmazeutischen Formulierungen.

[0078] Die oben angesprochenen Kombinationen können zur Anwendung vorteilhaft in Form von pharmazeutischen Formulierungen dargereicht werden, und pharmazeutische Formulierungen, die eine wie oben definierte Kombination zusammen mit einem pharmazeutisch verträglichen Trägerstoff dafür umfassen, stellen somit einen weiteren Aspekt der Erfindung dar.

[0079] Wird die Verbindung der Formel (I) oder ein pharmazeutisch verträgliches Derivat davon in Kombination mit einem zweiten therapeutischen Mittel, das gegen dasselbe Virus wirkt, verwendet, so kann die Dosis der einzelnen Verbindungen die gleiche sein wie wenn die Verbindung alleine angewendet wird, oder davon abweichen. Der Fachmann wird leicht dazu in der Lage sein, die entsprechenden Dosen zu bestimmen.

[0080] Es versteht sich weiterhin, daß die Menge einer erfindungsgemäßen Verbindung und die Menge des weiteren therapeutischen Mittels, das zur Verwendung in der Behandlung erforderlich ist, nicht nur von der entsprechenden erfindungsgemäßen Verbindung und dem ausgewählten weiteren therapeutischen Mittel abhängt, sondern auch von der Verabreichungsroute, der Art der behandelten Erkrankung und dem Alter sowie dem Zustand des Patienten, und daß die Dosierung letztendlich die Entscheidung des behandelnden Arztes bzw. Tierarztes ist. Im allgemeinen wird eine geeignete Dosis der erfindungsgemäßen Verbindung jedoch im Bereich von etwa 1 bis etwa 750 mg pro kilogram Körpergewicht pro Tag, z.B. 3 bis etwa 120 mg pro Kilogramm Körpergewicht des Empfängers pro Tag, vorzugsweise im Bereich von 6 bis 90 mg/kg/Tag, besonders bevorzugt im Bereich von 15 bis 60 mg/kg/Tag, liegen. Die geeignete Dosis für das weitere therapeutische Mittel liegt im Bereich von etwa 1 bis etwa 750 mg/kg Körpergewicht pro Tag, wie 3 bis etwa 120 mg/kg Körpergewicht

des Empfängers pro Tag, vorzugsweise im Bereich von 6 bis 90 mg/kg/Tag, besonders bevorzugt im Bereich von 15 bis 60 mg/kg/Tag.

[0081] Die gewünschte Dosis kann vorteilhaft als einzelne Dosis verabreicht werden, oder in Teildosen, die in geeigneten Abständen verabreicht werden, beispielsweise als zwei, drei, vier oder mehr Teildosen pro Tag.

[0082] Die Erfindung wird durch die folgenden Beispiele, die die Erfindung in keiner Weise einschränken sollen, eingehender beschrieben. Alle Temperaturen sind in Grad Celsius.

BEISPIELE

Beispiel 1

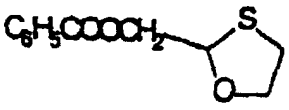
BENZOYLOXYACETALDEHYD

$C_6H_5COOCH_2CHO$ (VII)

[0083] Dieses bekannte Zwischenprodukt wurde durch portionsweise Zugabe von $NaIO_4$ (80 g) zu einer Mischung von 1-Benzoylglycerin (50 g), CH_2Cl_2 (500 ml) und H_2O (25 ml) unter kräftigem Rühren bei Raumtemperatur dargestellt. Die so erhaltene Lösung wurde 2 Stunden lang gerührt, mit $MgSO_4$ (100 g) versetzt und weitere 30 Minuten lang gerührt. Die Mischung wurde filtriert, das Filtrat im Vakuum eingedampft und der Rückstand im Vakuum destilliert, wodurch man 26 g reines Produkt erhielt.
Sdp. 92–94°/0,25 mm
^{1}H-NMR (200 MHz; TMS als interne Referenz):
δ (ppm in $CDCl_3$)
9,71 (s, 1H; -C<u>H</u>O)
8,11 (d, 2H; aromatisch)
7,60 (m, 1H; aromatisch)
7,46 (m, 2H; aromatisch)
4,88 (s, 2H; -C<u>H</u>$_2$CHO)

Beispiel 2

2-BENZOYLOXYMETHYL-1,3-OXATHIOLAN

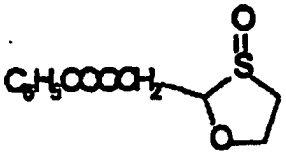


(VIII)

[0084] Eine Mischung von Benzoyloxyacetaldehyd (Beispiel 1) (6,21 g), 2-Mercaptoethanol (3 ml) und para-Toluolsulfonsäure (0,2 g) in Toluol (150 ml) wurde 3 Stunden lang unter Rückfluß erhitzt, wobei Wasser mit einem Wasserabscheider entfernt wurde. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur abgekühlt, zunächst mit wäßriger $NaHCO_3$-Lösung (1 × 50 ml) und dann mit Wasser (2,5 ml) gewaschen und über $MgSO_4$ getrocknet. Die Lösung wurde filtriert und das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde über Kieselgel unter Verwendung von Hexan:Essigsäureethylester (9:1) als Laufmittel gereinigt. Dies ergab 7,63 g (90%) reines Produkt, das durch ^{1}H- und ^{13}C-NMR charakterisiert wurde.
R_f: 0,39 (Hexan:Essigsäureethylester)
^{1}H-NMR: δ (ppm in $CDCl_3$)
8,03 (m, 2H, aromatisch)
7,53 (m, 1H, aromatisch)
7,39 (m, 2H, aromatisch)
5,41 (dd, 1H, C_2-H)
4,43 (m, 2H, C_2-$CH_2OCC_6H_5$)
4,21 (m, 1H, C_5-H)
3,96 (m, 1H, C_5-H)
2,98 (m, 2H, C_4-H)
^{13}C-NMR: δ(ppm in $CDCl_3$)
166,82, 133,74, 130,35, 128,97, 83,58, 71,87,
66,62 und 32,74

Beispiel 3

2-BENZOYLOXYMETHYL-3-OXO-1,3-OXATHIOLAN

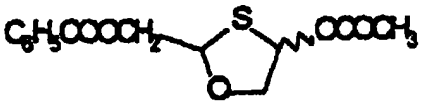


(IX)

[0085] Unter kräftigem Rühren wurde das Magnesiumsalz von Monoperoxyphthalsäure (MMPP, 28 g) portionsweise zu einer Mischung von 2-Benzoyloxymethyl-1,3-oxathiolan (Beispiel 2) (20 g) und Tetrabutylammoniumbromid (0,4 g) in Methylenchlorid (200 ml) und Wasser (200 ml) gegeben. Die Mischung wurde 30 Minuten lang bei Raumtemperatur gerührt und die organische Phase wurde abgenommen. Die wäßrige Phase wurde mit Methylenchlorid (3 × 75 ml) extrahiert, und die vereinigten organischen Phasen wurden zunächst mit Wasser (2 × 100 ml) und dann mit Kochsalzlösung (100 ml) gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und der Rückstand durch Kieselgelchromatographie unter Verwendung von Essigsäureethylester als Laufmittel gereinigt, wodurch man 18,5 g (86%) reines Produkt als Mischung von cis- und trans-Isomeren in einem Verhältnis von 1:2 erhielt.
Schmp.: 70–72°
^{1}H-NMR: δ(ppm in $CDCl_3$)
8,05 (m, 2H, aromatisch, cis-Isomer)
7,95 (m, 2H, aromatisch, trans-Isomer)
7,56 (m, aromatisch)
7,23 (m, aromatisch)
4,77 (m, 4H, C_2-H, C_5-H und C_2-$CH_2OOCC_6H_5$)
4,43 (m, 1H, C_5-H, trans-Isomer)
4,09 (m, 1H, C_5-H, cis-Isomer)
3,11 (m, 2H, C_4-H, trans-Isomer)
2,75 (m, 2H, C_4-H, cis-Isomer)
^{13}C-NMR: δ (ppm in $CDCl_3$)
cis-Isomer:
166,64, 134,02, 130,42, 129,88, 129,06, 96,16,
68,83, 59,47 und 54,30
trans-Isomer:
166,36, 134,12, 130,29, 129,68, 129,15, 108,07,
70,09, 61,83 und 53,47

Beispiel 4

2-BENZOYLOXYMETHYL-4-ACETOXY-1,3-OXATHIOLAN



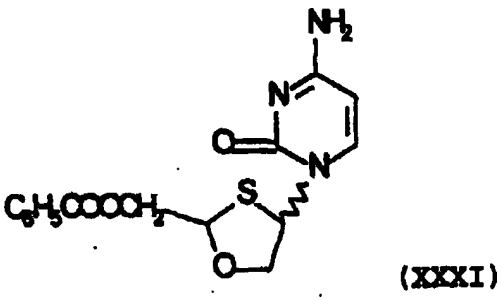
(X)

[0086] Eine Mischung von 2-Benzoyloxymethyl-3-oxo-1,3-oxathiolan (Beispiel 3) (10,5 g) und Tetra-n-butylammoniumacetat (17 g) in Essigsäureanhydrid (250 ml) wurde unter Argon 14 Stunden lang auf 110–120°C erhitzt und dann auf Raumtemperatur abgekühlt. Überschüssiges Essigsäureanhydrid wurde im Vakuum abgezogen. Der Rückstand wurde in Methylenchlorid (500 ml) gelöst und zunächst mit gesättigter wäßriger $NaHCO_3$-Lösung (2 × 200 ml) und dann mit Kochsalzlösung (200 ml) gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelchromatographie unter Verwendung von Hexan:Essigsäureethylester (8:1) als Laufmittel gereinigt, wodurch man 7,4 g (60% Ausbeute) des gewünschten Produkts als eine Mischung von cis- und trans-Isomeren erhielt. Eine kleine Menge der jeweiligen Isomeren wurde isoliert und durch ^{1}H- und ^{13}C-NMR charakterisiert.
cis-Isomer:
R_f: 0,43 (Hexan:EtOAc)
^{1}H-NMR: δ (ppm in $CDCl_3$)
8,05 (m, 2H, aromatisch)
7,58 (m, 1H, aromatisch)

7,45 (m, 2H, aromatisch)
6,24 (d, 1H, C_4-H)
5,50 (t, 1H, C_2-H)
4,61 (d, 1H, C_2-$CH_2OOCC_6H_5$)
4,53 (d, 2H, C_5-H)
3,94 (dd, 1H, C_5-H)
2,05 (s, 3H, CH_3)
trans-Isomer:
R_f: 0,43 (Hexan:EtOAc 7:3)
^{1}H-NMR: (ppm in $CDCl_3$)
8,04 (m, 2H, aromatisch)
7,58 (m, 1H, aromatisch)
7,45 (m, 2H, aromatisch)
6,27 (dd, 1H, C_4-H)
5,73 (dd, 1H, C_2-H)
4,53 (dd, 1H, C_2-$CH_2OOCC_6H_5$)
4,34 (dd, 1H, C_5-H)
4,26 (dd, 1H, C_2-$CH_2OCC_6H_5$)
4,20 (dd, 1H, C_5-H)
2,09 (s, 3H, CH_3)
^{13}C-NMR: δ(ppm in $CDCl_3$)
177,66, 166,37, 133,46, 129,93, 128,60, 83,76,
81,22, 74,33, 64,65 und 20,79

Beispiel 5

CIS- UND TRANS-2-BENZOYLOXYMETHYL-4-(CYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN

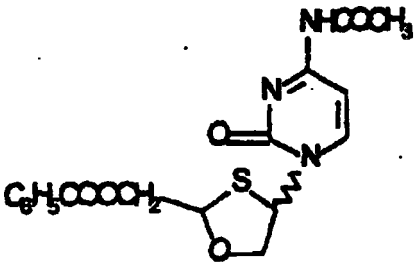


(XXXI)

[0087] Eine Mischung von Cytosin (206 g), Ammoniumsulfat (10 mg) und Hexamethyldisilazan (HMDS, 10 ml) wurde unter Argon auf Rückfluß erhitzt, bis eine klare Lösung erhalten wurde. Überschüssige Reagentien wurden im Vakuum abgedampft, und noch verbliebene flüchtige Komponenten wurden im Hochvakuum entfernt (15 Minuten). Der feste Rückstand wurde in trockenem Methylenchlorid (20 ml) gelöst und unter Argon mit einer Lösung von 2-Benzoyloxymethyl-4-acetoxy-1,3-oxathiolan (Beispiel 4) (350 mg) in trockenem Methylenchlorid (20 ml) und anschließend bei 0°C mit einer Lösung von Zinn(IV)-chlorid ($SnCl_4$, 124 ml) in Methylenchlorid (20 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde unter Argon über Nacht bei Raumtemperatur gerührt und dann 3 Stunden lang auf Rückfluß erhitzt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Mischung wurde mit Methylenchlorid (100 ml) verdünnt und unter Rühren in gesättigte wäßrige $NaHCO_3$-Lösung gegossen. Die organische Phase wurde durch Filtrieren über Celite abgetrennt, zunächst mit Wasser (2 × 75 ml) und dann mit Kochsalzlösung (100 ml) gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und filtriert. Der Rückstand wurde durch Kieselgelchromatographie unter Verwendung von Essigsäureethylester:CH_3OH als Laufmittel gereinigt, wodurch man 140 mg (35%) des gewünschten Produkts als eine Mischung von cis- und trans-Isomeren in einem durch ^{1}H-NMR bestimmten Verhältnis von 1:1 erhielt. Diese Isomere wurden im nächsten Beispiel als N-Acetylderivate getrennt.

Beispiel 6

CIS- UND TRANS-2-BENZOYLOXYMETHYL-4-(N4'-ACETYLCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN



(XXXII)

[0088] Eine Lösung der cis- und trans-Mischung von 2-Benzoyloxymethyl-4-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 5) (135 mg), 4-Dimethylaminopyridin (DMAP, 15 mg) und Essigsäureanhydrid (44 ml) in trockenem Pyridin (10 ml) wurde über Nacht (16 Stunden lang) bei Raumtemperatur gerührt und dann in kaltes Wasser (100 ml) gegossen und anschließend mit Methylenchlorid (3 × 50 ml) extrahiert. Der Extrakt wurde mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit Toluol versetzt und dann im Vakuum eingedampft, und das verbliebene Öl wurde durch Kieselgelchromatographie unter Verwendung von Essigsäureethylester als Laufmittel gereinigt, wodurch man 65 mg des reinen trans-Isomers als schneller laufendes Produkt und 60 mg des reinen cis-Isomers als langsamer laufendes Produkt erhielt. Die Isomeren wurden durch ^{1}H- und ^{13}C-NMR charakterisiert.

cis-Isomer:

^{1}H-NMR: δ (ppm in $CDCl_3$)

9,61 (b, 1H, $C_{4'}$-$NHCOCH_3$)
8,29 (d, 1H, $C_{6'}$-H)
8,06 (m, 2H, aromatisch)
7,65 (m, 1H, aromatisch)
7,51 (m, 2H, aromatisch)
7,25 (d, 1H, $C_{5'}$-H)
6,61 (d, 1H, C_4-H)
5,50 (t, 1H, C_2-H)
4,80 (m, 2H, C_2-$CH_2OOCC_6H_5$)
4,48 (d, 1H, C_5-H)
4,05 (dd, 1H, C_5-H)
2,25 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ (ppm in $CDCl_3$)

170,93, 166,28, 162,80, 155,76, 146,06, 133,91,
129,90, 128,84, 97,45, 85,88, 78,25, 64,60, 63,53
und 24,71.

trans-Isomer:

^{1}H-NMR: δ (ppm in DMSO d_6)

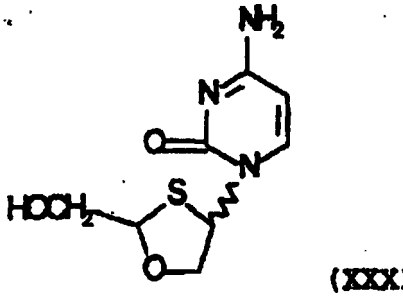
10,88 (s, 1H, $C_{4'}$-$NHCOCH_3$)
8,13 (d, 1H, $C_{6'}$-H)
7,96 (m, 2H, aromatisch)
7,68 (m, 1H, aromatisch)
7,52 (m, 2H, aromatisch)
7,20 (d, 1H, $C_{5'}$-H)
6,35 (d, 1H, C_4-H)
5,96 (dd, 1H, C_2-H)
4,58 (dd, 1H, C_2-$CH_2OOCC_6H_5$)
4,44 (d, 1H, C_5-H)
4,29 (m, 2H, C_5-H und $CH_2OOCC_6H_5$)
2,07 (s, 3H, CH_3)

^{13}C-NMR: δ (ppm in DMSO d_6)

171,53, 165,84, 162,76, 155,21, 146,59, 134,00,
129,64, 129,23, 96,54, 83,78, 74,24, 64,58, 64,01
und 24,35

Beispiel 7

CIS- UND TRANS-2-HYDROXYMETHYL-4-(CYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN

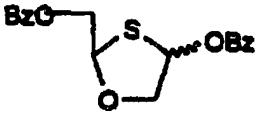


(XXXIII)

[0089] cis-Isomer (BCH-270):
Eine Lösung von cis-2-Benzoyloxymethyl-4-(N4'-acetylcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 6) (54 mg) in methanolischem Ammoniak (50 ml) wurde über Nacht (16 Stunden lang) bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit Ether behandelt, wodurch man 37 mg (90%) des gewünschten Produkts erhielt. Das Produkt wurde dann durch ^{1}H- und ^{13}C-NMR charakterisiert.
Schmp.: 213–215°C
UV: (CH_3OH) Lambda max: 270 nm
^{1}H-NMR: δ (ppm in DMSO d_6)
7,85 (d, 1H, $C_{6'}$-H)
7,16 (d, 2H, $C_{4'}$-NH_2)
6,34 (d, 1H, C_4-H)
5,76 (d, 1H, $C_{5'}$-H)
5,31 (t, 1H, C_2-CH_2OH)
5,18 (t, 1H, C_2-H)
4,40 (d, 1H, C_5-H)
3,92 (dd, 1H, C_5-H)
3,78 (m, 2H, C_2-CH_2OH)
^{13}C-NMR: δ (ppm in DMSO d_6)
165,95, 155,74, 142,39, 94,98, 88,85, 77,29,
62,91 und 62,48
trans-Isomer:
Eine Lösung von trans-2-Benzoyloxymethyl-4-(N4'-acetylcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 6) (63 mg) in methanolischem Ammoniak (50 ml) wurde über Nacht (16 Stunden lang) bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgedampft und der Rückstand mit Ether verfestigt, wodurch man 36 mg (93%) des gewünschten Produkts erhielt, das durch ^{1}H- und ^{13}C-NMR charakterisiert wurde.
Schmp.: 175–177°C
UV: (CH_3OH) Lambda max: 270 nm
^{1}H-NMR: δ (ppm in DMSO d_6)
7,67 (d, 1H, $C_{6'}$-H)
7,19 (d, 2H, $C_{4'}$-NH_2)
6,30 (d, 1H, C_4-H)
5,77 (d, 1H, $C_{5'}$-H)
5,56 (t, 1H, C_2-CH_2OH)
5,23 (t, 1H, C_2-H)
4,18 (m, 2H, C_5-H)
3,61 (m, 1H, C_2-CH_2OH)
3,36 (m, 1H, C_2-CH_2OH)
^{13}C-NMR: δ (ppm in DMSO d_6)
166,00, 155,65, 142,30, 95,11, 87,52, 74,52,
63,42 und 62,86

Beispiel 8

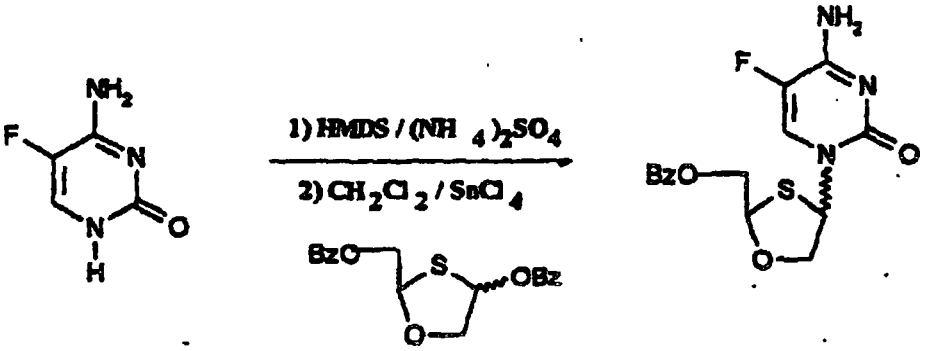
CIS- UND TRANS-2-BENZOYLOXYMETHYL-4-BENZOYLOXY-1,3-OXATHIOLAN



[0090] In einem Argonstrom wurde 2-Benzoyloxymethyl-1,3-oxathiolan (Beispiel 2) (0,4 g, 1,78 mmol) in 200 ml entgastem, trockenem Benzol gelöst. Diese Lösung wurde in einer Portion mit Benzoylperoxid (0,863 g, 3,56 mmol) und AIBN-Katalysator (15 mg, 0,09 mmol, 5%) versetzt. Die so erhaltene Mischung wurde unter Argon 4 Stunden lang auf Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde dann im Hochvakuum entfernt und der Rückstand wurde in Dichlormethan (40 ml) gelöst, 2× mit einer 10%igen Natriumhydrogencarbonatlösung (15 ml) extrahiert und über $MgSO_4$ getrocknet. Das Dichlormethan wurde im Vakuum abgedampft und der Rückstand auf einer Kieselgelsäule unter Verwendung von Essigsäureethylester:Hexan (30%) als Laufmittel gereinigt, wodurch man die reine Mischung der cis- und trans-1,3-Oxathiolanderivate als farbloses Öl (264 mg, 0,76 mmol, 43% Ausbeute) erhielt. Das trans-Isomer wurde als weißer Feststoff mit Schmp. 60–62°C abgetrennt. Diese Mischung wurde durch ^{1}H- und ^{13}C-NMR-Spektra voll charakterisiert. R_f = 0,43 (Essigsäureethylester:Hexane 1:4).
^{1}H-NMR δ (ppm in $CDCl_3$): 8,07 (m, 2H, aromatisch), 7,59 (m, 1H, aromatisch), 7,56 (m, 2H, aromatisch), 6,51 (t, 1H, C_4-H), 5,79 (m, 1H, C_2-H), 4,63 (m, 2H, CH_2-OCOPh), 4,32 (m, 2H, C_5-H). ^{13}C-NMR δ (ppm in $CDCl_3$): 166,56, 166,36, 134,12, 133,78, 130,35, 129,04, 84,40, 82,53, 75,04, 65,33, 39,89, 25,43, 23,93.

Beispiel 9

CIS- UND TRANS-2-BENZOYLOXYMETHYL-4-(5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN



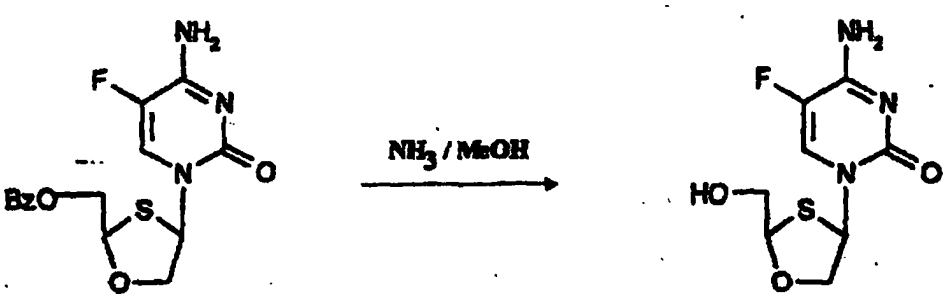
[0091] 5-Fluorcytosin (700 mg, 5,4 mmol) und HMDS (1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazan, 30 ml) mit einer katalytischen Menge Ammoniumsulfat (20 mg) wurden über Nacht (16 h lang) unter Rückfluß erhitzt. Die klare Lösung wurde im Vakuum zur Trocknung eingedampft und der Rückstand wurde in trockenem Methylenchlorid (50 ml) gelöst. Diese Lösung wurde über eine Kanüle mit einer Mischung von 2-Benzoyloxymethyl-4-benzoyloxy-1,3-oxathiolan (Beispiel 8) (1,25 g, 3,63 mmol) in trockenem Methylenchlorid (50 ml) und dann mit Zinntetrachlorid (4 ml einer 1M Lösung in Methylenchlorid) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde unter einer Argonatmosphäre 16 h lang bei Raumtemperatur gerührt und dann 1 h lang auf Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde die Mischung in eine gesättigte wäßrige $NaHCO_3$-Lösung (150 ml) gegossen, 15 min lang gerührt und über Celite filtriert. Die organische Phase wurde abgenommen. Die wäßrige Phase wurde weiter mit Methylenchlorid (2 × 100 ml) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit Wasser (2 × 150 ml) und einmal mit Kochsalzlösung gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und filtriert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abgezogen. Der Rückstand enthielt zwei Verbindungen in einem Verhältnis von 2:3 für cis- bzw. trans-Isomer und wurde auf Kieselgel unter Verwendung von Essigsäureethylester-Methanol 95:5 als Laufmittel gereinigt, wodurch man 280 mg des cis-Isomers und 420 mg des trans-Isomers mit einer Gesamtausbeute von 53% erhielt.
cis-Isomere:
Schmp. 235–236°C (Zers.)
R_f: 0,36 (EtOAc:MeOH 9:1)
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ in ppm: 7,94 (m, 2H, aromatisch), 7,80 (d, 2H, H-6' und darunter 1H von NH_2, J_{H-F} = 6,8 Hz), 7,68 (m, 1H, aromatisch), 7,58 (b, 1H von NH_2), 7,47 (m, 2H, aromatisch), 6,28 (d, 1H, H-4, J = 3,0 Hz), 5,51 (t, 1H, H-2, J = 3,8 Hz), 4,73 (m, 2H, -CH_2OBz), 4,61 (d, 1H, H-5, J = 11 Hz) und 3,98 (dd, 1H,

H-5, J = 4,7 und 11 Hz).
trans-Isomere:
Schmp. 235–236°C (Zers.)
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ in ppm: 7,97 (m, 2H, aromatisch), 7,81 (d, 2H, H-6' und darunter 1H von NH_2, J = 7,1 Hz), 7,66 (m, 1H, aromatisch), 7,55 (m, 3H, 2H von aromatisch und 1H von NH_2), 6,32 (d, 1H, H-4, J = 4,8 Hz), 6,02 (dd, 1H, H-2, J = 3,2 und 8,5 Hz), 4,55 (dd, 1H, -CH_2OBz, J = 8,4 und 11,9 Hz), 4,38 (d, 1H, H-5, J = 10,2 Hz) und 4,26 (dd, 2H, 1H von H-5 und 1H von -CH_2OBz, J = 3,6 und 10,5 Hz).

Beispiel 10

CIS-2-HYDROXYMETHYL-4-(5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN

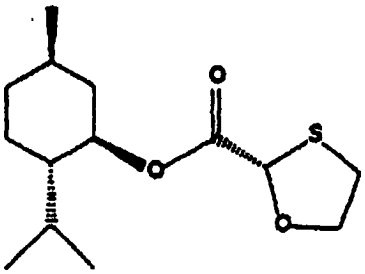
(BCH-1081)



[0092] Cis-2-Benzoyloxymethyl-4-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 9) (75 mg, 0,21 mmol) wurde in methanolischem Ammoniak (25 ml) gelöst. Die Mischung wurde 16 h lang bei Raumtemperatur gerührt und Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Der Rückstand wurde mit Ether (2 × 20 ml) verrieben. Der verbliebene Feststoff wurde aus Ethanol-Ether umkristallisiert, wodurch man die gewünschte Verbindung (43 mg) in einer Ausbeute von 80% erhielt.
Schmp.: >210°C (Zers.)
R_f: 0,41 (EtOAc:MeOH 4:1)
UV: λ_{max} (H_2O): 284 nm
^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ in ppm: 8,14 (d, 1H, H-6', J_{H-F} = 7,1 Hz), 7,79 (bs, 1H, NH_2, D_2O austauschbar), 7,56 (bs, 1H, NH_2, D_2O austauschbar), 6,28 (d, 1H, H-4, J = 2,6 Hz), 5,44 (t, 1H, OH, D_2O austauschbar), 5,18 (t, 1H, H-2, J = 5,5 Hz), 4,44 (d, 1H, H-5, J = 10,5 Hz), 3,91 (dd, 1H, H-5, J = 4,6 und 10,6 Hz) und 3,78 (m, 2H, CH_2OH).

Beispiel 11

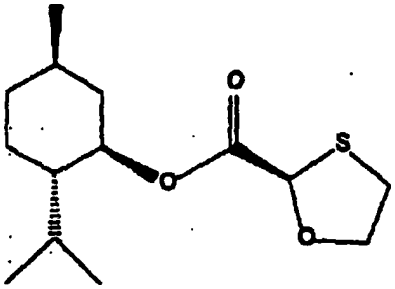
1,3-OXATHIOLAN-2S-CARBONSÄURE-(1'R,2'S,5'R)-MENTHYLESTER



[0093] Bei Raumtemperatur wurde eine Mischung von 5S-Acetoxy-1,3-oxathiolan-2S-carbonsäure-(1'R,2'S,5'R)-menthylester (WO 92/20669, auf die hiermit durch Verweis ausdrücklich Bezug genommen wird) (1,0 g, 3,03 mmol) und Triethylsilan (4,84 ml, 30,3 mmol) unter einer Argonatmosphäre mit Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (0,584 ml, 3,03 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 12 h lang bei Raumtemperatur gerührt und dann mit Dichlormethan (150 ml) verdünnt, mit gesättigter wäßriger $NaHCO_3$-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie (Hexan-EtOAc, 6:1) des Rohprodukts erhielt man das Produkt (0,71 g, 87%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 0,45-2,10 (m, 17H), 2,96-3,20 (m, 2H), 4,20-4,40 (m, 2H), 4,72 (dt, 1H), 5,45 (s, 1H); $[\alpha]_D^{25}$ – 102,9° (c, 1,02, $CHCl_3$).

Beispiel 12

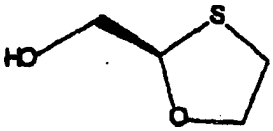
1,3-OXATHIOLAN-2R-CARBONSÄURE-(1'R,2'S,5'R)-MENTHYLESTER



[0094] Bei Raumtemperatur wurde eine Mischung von 5S-Acetoxy-1,3-oxathiolan-2R-carbonsäure-(1'R,2'S,5'R)-menthylester (WO 92/20669) (0,50 g, 1,51 mmol) und Triethylsilan (2,42 ml, 15,1 mmol) unter einer Argonatmosphäre mit Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (0,29 ml, 1,51 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 12 h lang bei Raumtemperatur gerührt und dann mit Dichlormethan (125 ml) verdünnt, mit gesättigter wäßriger $NaHCO_3$-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie (Hexan-EtOAc, 6:1) des Rohprodukts erhielt man das Produkt (0,369 g, 86%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 0,40-2,10 (m, 17H), 2,98-3,19 (m, 2H), 4,20-4,40 (m, 2H), 4,72 (dt, 1H), 5,46 (s, 1H).

Beispiel 13

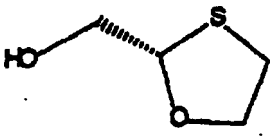
2R-HYDROXYMETHYL-1,3-OXATHIOLAN



[0095] Bei 0°C wurde eine Lösung von 1,3-Oxathiolan-2R-carbonsäure-(1'R,2'S,5'R)-menthylester (Beispiel 12) (3,23 g, 11,9 mmol) in wasserfreiem Ethanol (20 ml) unter einer Argonatmosphäre mit Natriumborhydrid (1,12 g, 29,7 mmol) und wasserfreiem Methanol (0,961 ml, 47,6 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h lang bei 0°C gerührt und dann auf Raumtemperatur erwärmen gelassen und 12 h lang gerührt. Die Umsetzung wurde mit Essigsaure gequencht und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Der so erhaltene Rückstand wurde mit Dichlormethan (225 ml) verdünnt, mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie (Hexan-Et_2O, 1:1) des Rohprodukts erhielt man das Produkt (1,30 g, 91%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 2,85-2,97 (m, 2H), 3,58 (dd, 1H, J-12,2, 5,4 Hz), 3,66 (dd, 1H, J = 12,2, 3,3 Hz), 3,75-3,85 (m, 1H), 4,14-4,25 (m, 1H), 5,16 (dd, 1H, J = 5,4, 3,3 Hz).

Beispiel 14

2S-HYDROXYMETHYL-1,3-OXATHIOLAN

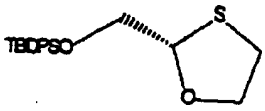


[0096] Bei 0°C wurde eine Lösung von 1,3-Oxathiolan-2S-carbonsäure-(1'R,2'S,5'R)-menthylester (Beispiel 11) (1,16 g, 4,26 mmol) in wasserfreiem Ethanol (10 ml) unter einer Argonatmosphäre mit Natriumborhydrid (0,403 g, 10,7 mmol) und wasserfreiem Methanol (0,690 ml, 17,03 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h lang bei 0°C gerührt und dann auf Raumtemperatur erwärmen gelassen und 12 h lang gerührt. Die Umsetzung wurde dann mit Essigsäure gequencht und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Der so erhaltene Rückstand wurde mit Dichlormethan (150 ml) verdünnt, mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie (Hexan-Et_2O, 1:1) des Rohprodukts erhielt man das Produkt (0,47 g, 92%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 2,85-2,99 (m, 2H), 3,60 (dd, 1H, J-12,2, 5,5 Hz), 3,65 (dd, 1H, J = 12,2, 3,3 Hz), 3,80-3,90 (m, 1H), 4,20-4,30 (m, 1H), 5,15 (dd, 1H, J = 5,5, 3,3

Hz); $[\alpha]_D^{25}$ –35,6° (c, 1,25, $CHCl_3$).

Beispiel 15

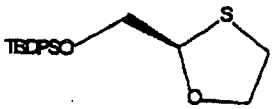
2S-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-1,3-OXATHIOLAN



[0097] Bei 0°C wurde eine Lösung von 2S-Hydroxymethyl-1,3-oxathiolan (Beispiel 14) (0,63 g, 5,3 mmol) und Imidazol (0,71 g, 10,4 mmol) in Tetrahydrofuran (15 ml) unter einer Argonatmosphäre mit einer Lösung von tert.-Butyldiphenylsilylchlorid (2,16 g, 7,9 mmol) in Tetrahydrofuran (8 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmen gelassen, 12 h lang gerührt und dann mit Dichlormethan (125 ml) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie (Hexan-EtOAc, 6:1) des Rohprodukts erhielt man das Produkt (1,87 g, 99%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,08 (s, 9H), 2,93-2,99 (m, 2H), 3,70 (dd, 1H, J = 10,9, 4,6 Hz), 3,86 (dd, 1H, J = 10,9, 6,4 Hz), 3,94-4,15 (m, 2H), 5,29 (dd, 1H, J = 6,4, 4,6 Hz), 7,35-7,50 (m, 6H), 7,68-7,75 (m, 4H), $[\alpha]_D^{25}$ –23,3°0 (c, 1,0, $CHCl_3$).

Beispiel 16

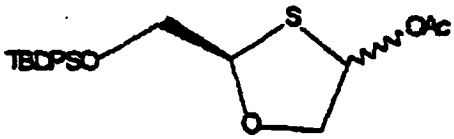
2R-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-1,3-OXATHIOLAN



[0098] Bei 0°C wurde eine Lösung von 2R-Hydroxymethyl-1,3-oxathiolan (Beispiel 13) (1,30 g, 10,8 mmol) und Imidazol (1,47 g, 21,6 mmol) in Tetrahydrofuran (30 ml) unter einer Argonatmosphäre mit einer Lösung von tert.-Butyldiphenylsilylchlorid (4,46 g, 16,2 mmol) in Tetrahydrofuran (15 ml) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde auf Raumtemperatur erwärmen gelassen, 12 h lang gerührt und dann mit Dichlormethan (150 ml) verdünnt. Die organische Phase wurde mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie (Hexan-EtOAc, 6:1) des Rohprodukts erhielt man das Produkt (3,64 g, 94%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,04 (s, 9H), 2,89-2,99 (m, 2H), 3,65 (dd, 1H, J = 10,9, 4,6 Hz), 3,88 (dd, 1H, J = 10,9, 6,4 Hz), 3,90-4,14 (m, 2H), 5,27 (dd, 1H, J = 6,4, 4,6 Hz), 7,34-7,46 (m, 6H), 7,64-7,74 (m, 4H).

Beispiel 17

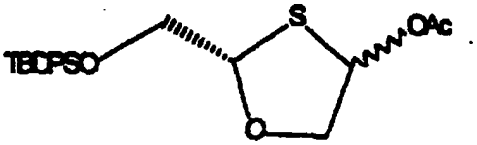
TRANS- UND CIS-2R-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4-ACETOXY-1,3-OXATHIOLAN



[0099] Eine gerührte Lösung von 2R-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-1,3-oxathiolan (Beispiel 16) (0,32 g, 0,89 mmol) in Dichlormethan (20 ml) wurde bei 0°C mit fester meta-Chlorperbenzoesäure (MCPBA) (0,23 g, 80%, 1,06 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 2 h lang bei 0°C gerührt und dann mit Dichlormethan (20 ml) verdünnt, mit gesättigter wäßriger Na_2CO_3-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie des Rohprodukts erhielt man eine Mischung von Sulfoxiden. Die Mischung des erhaltenen Sulfoxids mit Essigsäureanhydrid (10 ml), Tetrabutylammoniumacetat (0,32 g, 1,06 mmol) wurde dann 6 h lang auf 120°C erhitzt, und überschüssiges Essigsäureanhydrid wurde im Vakuum abgezogen. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan (150 ml) verdünnt, mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie des Rohprodukts erhielt man eine Mischung von Acetaten (0,164 g, 45%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,05 (s, 9H), 2,03 (s, 1,35H), 2,08 (s, 1,65H), 3,60-4,50 (m, 4H), 5,28 (t, 0,45H, J = 5,4 Hz), 5,55 (dd, 0,55H, J = 6,5, 4,7 Hz), 6,14-6,20 (m, 1H), 7,30-7,50 (m, 6H), 7,60-7,78 (m, 4H).

Beispiel 18

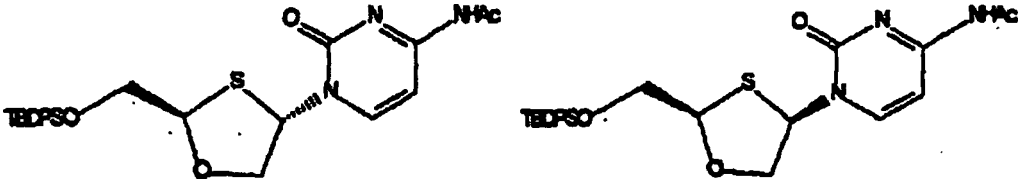
TRANS- UND CIS-2S-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4-ACETOXY-1,3-OXATHIOLAN



[0100] Eine gerührte Lösung von 2S-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-1,3-oxathiolan (Beispiel 15) (1,35 g, 3,9 mmol) in Dichlormethan (30 ml) wurde bei 0°C mit festem MCPBA (0,85 g, 80%, 3,9 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 2 h lang bei 0°C gerührt und dann mit Dichlormethan (225 ml) verdünnt, mit gesättigter wäßriger Na_2CO_3-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie des Rohprodukts erhielt man eine Mischung von Sulfoxiden. Die Mischung der so erhaltenen Sulfoxide mit Essigsäureanhydrid (15 ml) und Tetrabutylammoniumacetat (1,19 g, 3,9 mmol) wurde dann 6 h lang auf 120°C erhitzt, und überschüssiges Essigsäureanhydrid wurde im Vakuum abgezogen. Der Rückstand wurde mit Dichlormethan (200 ml) verdünnt, mit Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie des Rohprodukts erhielt man eine Mischung von Acetaten (0,601 g, 40%) als farbloses Öl: ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,10 (s, 9H), 2,05 (s, 1,2H), 2,10 (s, 1,8H), 3,60-4,50 (m, 4H), 5,30 (t, 0,4H, J = 5,5 Hz), 5,58 (dd, 0,6H, J = 6,5, 4,8 Hz), 6,14-6,23 (m, 1H), 7,33-7,50 (m, 6H), 7,65-7,78 (m, 4H).

Beispiel 19

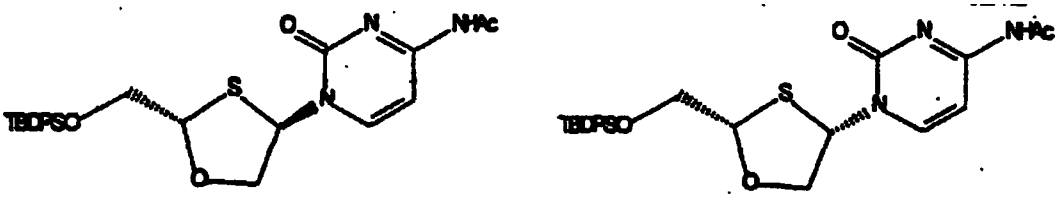
2R-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4S-(N-4'-ACETYLCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN UND
2R-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4R-(N-4'-ACETYLCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN



[0101] Bei Raumtemperatur wurde eine Suspension von N-4'-Acetylcytosin (0,045 g, 0,29 mmol) in Dichlorethan (2 ml) unter einer Argonatmosphäre mit 2,6-Lutidin (0,054 ml, 0,49 mmol) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,095 ml, 0,49 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min lang gerührt, und die Mischung von cis- und trans-2R-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4-acetoxy-1,3-oxathiolan (Beispiel 17) (0,100 g, 0,25 mmol) in Dichlorethan (2 ml) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,048 ml, 0,25 mmol) wurden dann nacheinander zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang unter Rückfluß erhitzt und dann mit Dichlormethan verdünnt, mit gesättigter wäßriger $NaHCO_3$-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie des Rohprodukts erhielt man eine Mischung von cis- und trans-Isomeren, die durch präparative DC aufgetrennt wurde, wodurch man das cis-Isomere (33 mg, 26%) [^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,08 (s, 9H), 2,22 (s, 3H), 3,85-4,45 (m, 4H), 5,26 (t, 1H, J = 4,3 Hz), 6,54 (d, 1H, J = 4,2 Hz), 7,21 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 7,35-7,50 (m, 6H), 7,60-7,75 (m, 4H), 8,23 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 9,02 (bs, 1H)] und das trans-Isomere (49 mg, 39%) [^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,04 (s, 9H), 2,21 (s, 3H), 3,56-4,26 (m, 4H), 5,64 (dd, 1H, J = 6,8, 4,4 Hz), 6,39 (d, 1H, J = 3,6 Hz), 7,31-7,48 (m, 7H), 7,58-7,71 (m, 4H), 8,01 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 8,86 (bs, 1H)] erhielt.

Beispiel 20

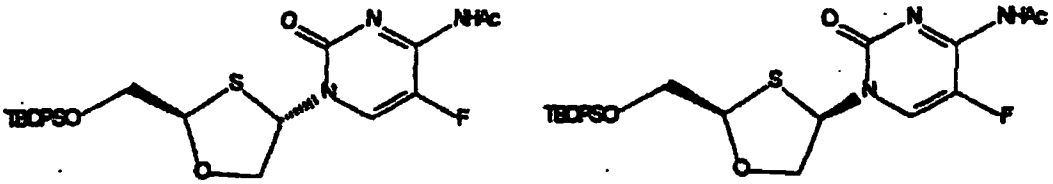
2S-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4R-(N-4'-ACETYLCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN UND
2S-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4S-(N-4'-ACETYLCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN



[0102] Bei Raumtemperatur wurde eine Suspension von N-4'-Acetylcytosin (0,104 g, 0,68 mmol) in Dichlorethan (2 ml) unter einer Argonatmosphäre mit 2,6-Lutidin (0,131 ml, 1,13 mmol) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,218 ml, 1,13 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min lang gerührt, und eine Mischung von cis- und trans-2S-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4-acetoxy-1,3-oxathiolan (Beispiel 18) (0,235 g, 0,56 mmol) in Dichlorethan (2 ml) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,109 ml, 1,13 mmol) wurden dann nacheinander zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang unter Rückfluß erhitzt und dann mit Dichlormethan verdünnt, mit gesättigter wäßriger $NaHCO_3$-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie (EtOAc) des Rohprodukts erhielt man eine Mischung von trans- und cis-Isomeren (0,225 g, 78%): ^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,05 (s, 5,4H), 1,08 (s, 3,6H), 2,24 (s, 1,2H), 2,28 (s, 1,8H), 3,67-4,42 (m, 4H), 5,26 (t, 0,4H, J = 4,3 Hz), 5,64 (dd, 0,6H, J = 6,8, 4,3 Hz), 6,40 (d, 0,6H, J = 3,8 Hz), 6,53 (d, 0,4H, J = 4,1 Hz), 7,20-7,75 (m, 11H), 8,00 (d, 0,6H, J = 7,5 Hz), 8,21 (d, 0,4H, J = 7,5 Hz), 963 (bs, 1H).

Beispiel 21

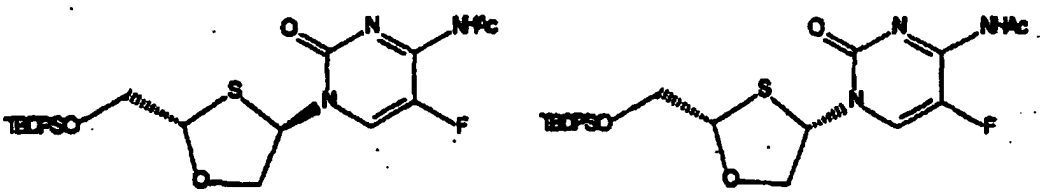
2R-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4S-(N-4'-ACETYL-5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN UND 2R-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4R-(N-4'-ACETYL-5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN



[0103] Bei Raumtemperatur wurde eine Suspension von N-4'-Acetyl-5'-fluorcytosin (0,110 g, 0,64 mmol) in Dichlorethan (3 ml) unter einer Argonatmosphäre mit 2,6-Lutidin (0,124 ml, 1,07 mmol) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,207 ml, 1,07 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min lang gerührt, und eine Mischung von cis- und trans-2R-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4-acetoxy-1,3-oxathiolan (Beispiel 17) (0,223 g, 0,54 mmol) in Dichlorethan (3 ml) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,103 ml, 0,54 mmol) wurden nacheinander zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang unter Rückfluß erhitzt und dann mit Dichlormethan verdünnt, mit gesättigter wäßriger $NaHCO_3$-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie des Rohprodukts erhielt man eine Mischung von trans- und cis-Isomeren, die durch präparative DC aufgetrennt wurde, wodurch man das cis-Isomere (97 mg, 34%) [^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,08 (s, 9H), 2,65 (s, 3H), 3,90-4,50 (m, 4H), 5,27 (t, J = 4,2 Hz), 6,53 (d, 1H, J = 4,2 Hz), 7,32-7,530 (m, 6H), 7,55-7,76 (m, 4H), 8,21 (d, 1H, J = 6,1 Hz)] und das trans-Isomere (68 mg, 24%) [^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,07 (s, 9H), 2,63 (s, 3H), 3,56-4,26 (m, 4H), 5,68 (dd, J = 6,9, 4,4 Hz), 6,37 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 7,30-7,53 (m, 6H), 7,57-7,75 (m, 4H), 7,93 (d, 1H, J = 6,1 Hz)] erhielt.

Beispiel 22

2S-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4R-(N-4'-ACETYL-5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN UND 2S-t-BUTYLDIPHENYLSILYLOXYMETHYL-4S-(N-4'-ACETYL-5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN



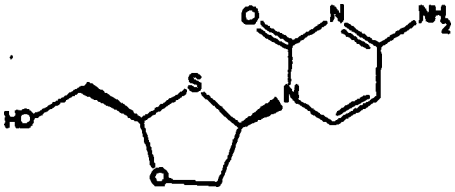
[0104] Bei Raumtemperatur wurde eine Suspension von N-4'-Acetyl-5'-fluorcytosin (0,218 g, 1,27 mmol) in Dichlorethan (4,5 ml) unter einer Argonatmosphäre mit 2,6-Lutidin (0,248 ml, 2,13 mmol) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,418 ml, 2,13 mmol) versetzt. Die Mischung wurde 15 min lang gerührt, und eine Mischung von cis- und trans-2S-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4-acetoxy-1,3-oxathiolan (Beispiel 18) (0,433 g, 1,06 mmol) in Dichlorethan (4 ml) und Trimethylsilyl-trifluormethansulfonat (0,206 ml, 1,06 mmol) wurden nacheinander zugegeben. Die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang unter Rückfluß erhitzt und dann mit Dichlormethan verdünnt, mit gesättigter wäßriger $NaHCO_3$-Lösung, Wasser und Kochsalzlösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und konzentriert. Durch Chromatographie des Rohprodukts erhielt man

eine Mischung von trans- und cis-Isomeren, die durch präparative DC aufgetrennt wurde, wodurch man das cis-Isomere (145 mg, 26%) [^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,09 (s, 9H), 2,66 (s, 3H), 3,90-4,50 (m, 4H), 5,26 (t, J = 4,1 Hz), 6,53 (d, 1H, J = 4,1 Hz), 7,36-7,50 (m, 6H), 7,55-7,78 (m, 4H), 8,20 (d, 1H, J = 6,1 Hz)] und das trans-Isomere (119 mg, 21%) [^{1}H-NMR in $CDCl_3$: δ 1,07 (s, 9H), 2,64 (s, 3H), 3,58-4,25 (m, 4H), 5,68 (dd, J = 6,8, 4,2 Hz), 6,37 (d, 1H, J = 2,7 Hz), 7,35-7,51 (m, 6H), 7,60-7,76 (m, 4H), 7,93 (d, 1H, J = 6,1 Hz)] erhielt.

Beispiel 23

2R-HYDROXYMETHYL-4R-(CYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN

VERBINDUNG NR. 1



[0105] Bei Raumtemperatur wurde eine Lösung von 2R-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4R-(N-4'-acetylcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 19) (72 mg, 0,14 mmol) in THF (3 ml) unter einer Argonatmosphäre langsam mit Tetrabutylammoniumfluoridlösung (0,212 ml, 1M in THF, 0,21 mmol) und Eisessig (0,012 ml, 0,21 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h lang gerührt, woraufhin Kieselgel (0,5 g) zugegeben wurde. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 9:1) unterworfen, wodurch man das desilylierte Produkt erhielt. Das desilylierte Produkt wurde in gesättigter K_2CO_3/Methanol-Lösung gelöst, und die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 1N HCl/Methanol neutralisiert, und dann wurde Kieselgel (0,5 g) zugegeben. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 4:1) unterworfen, wodurch man das Produkt (27 mg, 91%) als weißen Feststoff erhielt, der mit Et_2O-MeOH verrieben wurde: Schmp. 200°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$ –126,8° (c, 0,5, MeOH); ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ 3,70-3,82 (m, 2H), 3,91 (dd, 1H, J = 10,4, 4,6 Hz), 4,38 (d, 1H, J = 10,4 Hz), 5,16 (t, 1H, J = 4,6 Hz), 5,32 (t, 1H, J = 5,8 Hz), 5,75 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 6,32 (d, 1H, J = 4,6 Hz), 7,12 (bs, 1H), 7,23 (bs, 1H), 7,84 (d, 1H, J = 7,4 Hz); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6): δ 62,7, 63,1, 77,4, 89,0, 95,6, 142,4, 155,4, 165,8.

[0106] Zur Beurteilung der enantiomeren Reinheit des synthetisierten Nukleosid-Endprodukts bzw. zur Spaltung der razemischen Mischung der entschützten Nukleosidanaloga wurden chirale HPLC-Methoden angewendet. So wurde beispielsweise für die obige Verbindung Nr. 1 unter den folgenden Bedingungen:

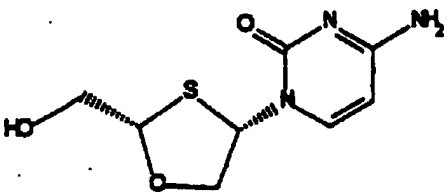
Säule:	Cyclobond™ RSP 4,6 × 250 nm
Durchflußgeschwindigkeit:	0,27 ml/min
Lösungsmittel:	0,05% TFAA, pH 7,0
Detektion:	254 nm

eine Retentionszeit von 43,88 min gefunden.

Beispiel 24

2S-HYDROXYMETHYL-4S-(CYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN

VERBINDUNG NR. 2



[0107] Bei Raumtemperatur wurde eine Lösung von 2S-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4S-(N-4'-acetylcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 20) (202 mg, 0,40 mmol) in THF (3,5 ml) unter einer Argonatmosphäre langsam mit Tetrabutylammoniumfluoridlösung (0,595 ml, 1M in THF, 0,60 mmol) und Eisessig (0,034 ml, 0,60

mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h lang gerührt, woraufhin Kieselgel (0,9 g) zugegeben wurde. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 9:1) unterworfen, wodurch man das desilylierte Produkt erhielt. Das desilylierte Produkt wurde in gesättigter K_2CO_3/Methanol-Lösung gelöst, und die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 1N HCl/Methanol neutralisiert, und dann wurde Kieselgel (0,9 g) zugegeben. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 4:1) unterworfen, wodurch man das Produkt (74 mg, 81%) als weißen Feststoff erhielt, der mit Et_2O-MeOH verrieben wurde: Schmp. 220°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$ –118,6° (c, 0,5, MeOH); ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ 3,70-3,82 (m, 2H), 3,92 (dd, 1H, J = 10,6, 4,6 Hz), 4,38 (d, 1H, J = 10,6 Hz), 5,17 (t, 1H, J = 4,5 Hz), 5,32 (t, 1H, J = 5,8 Hz), 5,75 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 6,32 (d, 1H, J = 4,6 Hz), 7,12 (bs, 1H), 7,22 (bs, 1H), 7,85 (d, 1H, J = 7,4 Hz); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6): δ 63,0, 63,1, 77,4, 88,9, 95,1, 142,4, 155,4, 165,7.

[0108] Zur Beurteilung der enantiomeren Reinheit des synthetisierten Nukleosid-Endprodukts bzw. zur Spaltung der razemischen Mischung der entschützten Nukleosidanaloga wurden chirale HPLC-Methoden angewendet. So wurde beispielsweise für die obige Verbindung Nr. 2 unter den folgenden Bedingungen:

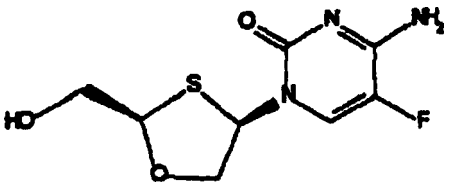
Säule:	Cyclobond™ RSP 4,6 × 250 nm
Durchflußgeschwindigkeit:	0,27 ml/min
Lösungsmittel:	0,05% TFAA, pH 7,0
Detektion:	254 nm

eine Retentionszeit von 48,18 min gefunden.

Beispiel 25

2R-HYDROXYMETHYL-4R-(5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN –

VERBINDUNG NR. 3



[0109] Bei Raumtemperatur wurde eine Lösung von 2R-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4R-(N-4'-acetyl-5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 21) (152 mg, 0,29 mmol) in THF (3,5 ml) unter einer Argonatmosphäre langsam mit Tetrabutylammoniumfluoridlösung (0,432 ml, 1M in THF, 0,43 mmol) und Eisessig (0,025 ml, 0,43 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h lang gerührt, woraufhin Kieselgel (0,5 g) zugegeben wurde. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 9:1) unterworfen, wodurch man das desilylierte Produkt erhielt. Das desilylierte Produkt wurde in gesättigter K_2CO_3/Methanol-Lösung gelöst, und die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 1N HCl/Methanol neutralisiert, und dann wurde Kieselgel (0,5 g) zugegeben. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 4:1) unterworfen, wodurch man das Produkt (58 mg, 81%) als weißen Feststoff erhielt, der mit Et_2O-MeOH verrieben wurde: Schmp. 183°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$ –86,5° (c, 0,57, MeOH); ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ 3,70-4,50 (m, 4H), 5,18 (t, 1H, J = 3,6 Hz), 5,44 (t, 1H, J = 5,8 Hz), 6,25-6,30 (m, 1H), 7,56 (bs, 1H), 7,80 (bs, 1H), 8,14 (d, 1H, J = 7,2 Hz); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6): δ 62,2, 63,4, 77,5, 88,9, 126,7, 127,1, 134,7, 137,9, 153,8, 157,5, 157,7.

[0110] Zur Beurteilung der enantiomeren Reinheit des synthetisierten Nukleosid-Endprodukts bzw. zur Spaltung der razemischen Mischung der entschützten Nukleosidanaloga wurden chirale HPLC-Methoden angewendet. So wurde beispielsweise für die obige Verbindung Nr. 3 unter den folgenden Bedingungen:

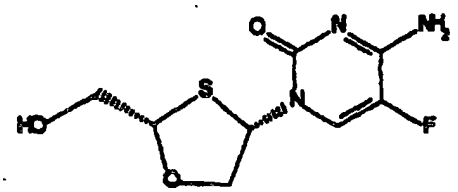
Säule:	Cyclobond™ RSP 4,6 × 250 nm
Durchflußgeschwindigkeit:	0,43 ml/min
Lösungsmittel:	0,05% TFAA, pH 7,0
Detektion:	254 nm

eine Retentionszeit von 16,73 min gefunden.

Beispiel 26

2S-HYDROXYMETHYL-4S-(5'-FLUORCYTOSIN-1'-YL)-1,3-OXATHIOLAN –

VERBINDUNG NR. 4



[0111] Bei Raumtemperatur wurde eine Lösung von 2S-t-Butyldiphenylsiloxymethyl-4S-(N-4'-acetyl-5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (Beispiel 22) (78 mg, 0,15 mmol) in THF (3 ml) unter einer Argonatmosphäre langsam mit Tetrabutylammoniumfluoridlösung (0,222 ml, 1M in THF, 0,22 mmol) und Eisessig (0,013 ml, 0,22 mmol) versetzt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h lang gerührt, woraufhin Kieselgel (0,5 g) zugegeben wurde. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 9:1) unterworfen, wodurch man das desilylierte Produkt erhielt. Das desilylierte Produkt wurde in gesättigter K_2CO_3/Methanol-Lösung gelöst, und die Reaktionsmischung wurde eine halbe Stunde lang bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 1N HCl/Methanol neutralisiert, und dann wurde Kieselgel (0,5 g) zugegeben. Die so erhaltene Aufschlämmung wurde einer Kieselgelsäulenchromatographie (EtOAc-MeOH, 4:1) unterworfen, wodurch man das Produkt (36 mg, 98%) als weißen Feststoff erhielt, der mit Et_2O-MeOH verrieben wurde: Schmp. 180°C (Zers.); $[\alpha]_D^{25}$ +75,70 (c, 0,56, MeOH); ^{1}H-NMR (DMSO-d_6): δ 3,69-4,50 (m, 4H), 5,18 (t, 1H, J = 3,7 Hz), 5,44 (t, 1H, J = 5,8 Hz), 6,25-6,29 (m, 1H), 7,55 (bs, 1H), 7,8 (bs, 1H), 8,14 (d, 1H, J = 7,2 Hz); ^{13}C-NMR (DMSO-d_6): δ 61,8, 63,1, 77,1, 88,6, 126,3, 126,8, 134,4, 137,6, 153,5, 157,1, 157,3.

[0112] Zur Beurteilung der enantiomeren Reinheit des synthetisierten Nukleosid-Endprodukts bzw. zur Spaltung der razemischen Mischung der entschützten Nukleosidanaloga wurden chirale HPLC-Methoden angewendet. So wurde beispielsweise für die obige Verbindung Nr. 4 unter den folgenden Bedingungen:

Säule:	Cyclobond™ RSP 4,6 × 250 nm
Durchflußgeschwindigkeit:	0,43 ml/min
Lösungsmittel:	0,05% TFAA, pH 7,0
Detektion:	254 nm

eine Retentionszeit von 15,07 min gefunden.

Beispiel 27

ANTIVIRALE AKTIVITÄT:

FORMAZAN-ASSAY MIT MT-4-ZELLINIEN UND 3TC™-RESISTENTEN ZELLINIEN

[0113] Die antivirale Aktivität gegen HIV-1 wurde in MT-4-Zellen und MT-4-Zellen, die 3TC™-resistent gemacht worden waren, bestimmt. Eine Zellsuspension (ungefähr 10^6 Zellen/ml) in RPMI 1640-Wachstumsmedium wurde mit dem HIV-1-Stamm RF mit einer M.O.I. von 10^{-3} infektiösen Einheiten/Zelle infiziert. Parallel dazu wurde eine nicht infizierte Zellsuspension zur Auswertung der arzneimittelinduzierten Zytotoxizität angefertigt. Die beiden Suspensionen wurden 90 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Die Testverbindungen wurden in 10er Schritten seriell von 100 µg/ml bis auf 0,01 µg/ml verdünnt (Endkonzentrationen in zwei Mikrotiterplatten mit jeweils 96 Vertiefungen). In einer der Platten (antiviral) wurde jede Vertiefung mit 20 µl der Suspension der infizierten Zellen inokuliert, während in der zweiten Platte jede Vertiefung mit 20 µl der Suspension der nicht infizierten Zellen versetzt wurde (Zytotoxizität). Die Platten wurden dann 7 Tage lang bei 37°C inkubiert. Nach der Inkubation wurden alle Vertiefungen mit 10 µl 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT) zu 20 mg/ml versetzt, und die Platten wurden weitere 90 Minuten lang bei 37°C inkubiert.

[0114] Dann wurden 150 µl 10%iger (v/v) alkoholischer Triton X-100-Lösung zugegeben und die Zellen wurden resuspendiert. Nach 15 Minuten bei Raumtemperatur wurden die Platten in einem Multiskan mC-Leser bei 405 nm analysiert. Die Umwandlung des gelben MMT in sein Formazanderivat ist bei den nicht infizierten Zellen maximal und bei den unbehandelten infizierten Zellen abwesend. Die Werte für die optische Dichte der Ver-

tiefungen mit den Kontrollen für die Zytotoxizität und den antiviralen Test wurden graphisch aufgetragen und die für eine Inhibierung der Umwandlung von MMT auf 50% der unbehandelten nicht infizierten Kontrollen erforderliche Dosis der Verbindungen wurde berechnet. Auf diese Weise ist es möglich, sowohl die 50% zytotoxische Dosis (CD 50%) und die 50% antivirale Dosis (ID 50%) zu berechnen. Tabelle 1 zeigt die erhaltenen CD 50%- und ID 50%-Werte:

TABELLE 1 (MT-4-ASSAY)

VERBINDUNG	ID_{50} (µg/ml)	CD_{50} (µg/ml)
BCH-270 (Beispiel 7)	4,0	>100
Nr. 1 (Beispiel 23)	13	>100
Nr. 2 (Beispiel 24)	4,4	>100
Nr. 3 (Beispiel 25)	6,0	>100
Nr. 4 (Beispiel 26)	2,9	100
AZT (Referenz)	0,01	>1

TABELLE 2 3TC-RESISTENTE ZELLEN

(Met $\xrightarrow{184}$>Ile-Mutation)

VERBINDUNG	ID_{50} (µg/ml)	CD_{50} (µg/ml)
Nr. 1 (Beispiel 23)	8,5	>100
Nr. 2 (Beispiel 24)	42	>100
Nr. 3 (Beispiel 25)	3,4	>100
Nr. 4 (Beispiel 26)	3,0	100
3TC™	>100	>100

INHIBIERUNG DER SYNZYTIUM-BILDUNG

[0115] C8166-Zellen wurden mit HIV-1 (RF-Stamm) mit einer M.O.I. von 1×10^{-3} infektiösen Einheiten/Zelle infiziert und 60 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Zellen dreimal mit Wachstumsmedium gewaschen. Jede Vertiefung von Platten mit 24 Vertiefungen, die eine serielle Verdünnung der Testverbindungen mit Endkonzentrationen von 50 µg/ml bis 0,05 µg/ml in RPMI® 1640 Wachstumsmedium enthielten, wurde mit Aliquots von 10^5 Zellen versetzt. Zur Kontrolle wurden auch unbehandelte infizierte Zellen und unbehandelte nicht infizierte Zellen mit eingeschlossen. Die Platten wurden 3–4 Tage lang in Behältern mit angefeuchteter Luft bei 37°C/5% CO_2 inkubiert. Jeden Tag wurden die Zellen auf Anzeichen einer HIV-1-induzierten Synzytium-Bildung untersucht. Die Synzytia wurden mit Bezug auf die unbehandelten infizierten Kontrollen quantifiziert, und die zur Verminderung der zytopathischen Wirkung um 50% erforderliche Dosis der Verbindung (ID_{50}) wurde berechnet.

TABELLE 3 (SYNZYTIUM-BILDUNG)

VERBINDUNG	ID_{50} (µg/ml)	CD_{50} (µg/ml)
Nr. 2 (Beispiel 24)	0,08	>100
Nr. 3 (Beispiel 25)	0,17	>100
Nr. 4 (Beispiel 26)	0,03	>100

CBM-ASSAY

[0116] Die Assays mit mononukleären Zellen aus Nabelschnurblut wurden im wesentlichen wie von Gu et al. in J. Virol. (1992), 66:7128–7135 beschrieben durchgeführt.

[0117] Kurz gesagt wurden Viren (HTLV-III_B), die zunächst in MT-4-Zellen kultiviert worden waren, auf mit Phytohämagglutinin vorstimulierte mononukleäre Zellen aus Nabelschnurblut (Cord Blood Mononuclear cells, CBM) passagiert. Für die anschließende Analyse wurden CBM-Proben (5×10^5 Zellen pro ml) 4 h lang mit verschiedenen Konzentrationen der verschiedenen Verbindungen vorbehandelt und dann mit auf CBL kultiviertem HIV-1 mit einer Infektionsmultiplizität von 1,0 in der bei der Vorbehandlung angewendeten Konzentration an der Verbindung inokuliert. Dreimal pro Woche wurde frisches Medium einschließlich der entsprechenden Konzentration an der Verbindung zugegeben, und frische, mit Phytohämagglutinin vorstimulierte CBM (5×10^5 Zel-

len pro ml) wurden alle 2 Tage zugegeben. Die Berechnung des IC_{50} wurde auf Basis der RT-Konzentrationen in den Kulturflüssigkeiten durchgeführt, wie in Gao et al., (1992), J. Virol. 66: 12–19 beschrieben.

TABELLE 4 (CBM)

VERBINDUNG	ID_{50} (µg/ml)	CD_{50} (µg/ml)
BCH-270 (Beispiel 7)	0,03	>23
Nr. 1 (Beispiel 23)	0,05–1,22	>23
Nr. 2 (Beispiel 24)	0,03–1,22	>23
Nr. 3 (Beispiel 25)	0,002–0,05	>23
Nr. 4 (Beispiel 26)	0,02–0,05	>23
AZT (Referenz)	<0,002	>1

BESTIMMUNG DES IC_{50} (µM) IN VERSCHIEDENEN MUTIERTEN HIV-1- ISOLATEN IN GEGENWART VERSCHIEDENER ANTIVIRALER VERBINDUNGEN

[0118] Die Vorgehensweise ist ähnlich der beim CBM-Assay angewandten Vorgehensweise, mit der Ausnahme, daß Virus-Konstrukte und Konstrukte mutierter Viren verwendet wurden.

[0119] Das Viruskonstrukt HXB2D-65 entspricht der ddC-Resistenzmutation, und das Viruskonstrukt HXB2D-184 entspricht der 3TC™- und FTC-Resistenzmutation.

TABELLE 5 IC_{50}-WERTE VON CBMCs MIT VERSCHIEDENEN MUTIERTEN HIV-1-ISOLATEN

VERBINDUNGEN	III_B	HXB2D	HXB2D-65	HXB2D-184
			K-R	M→W
Nr. 1	0,22	1,0	2,5	0,53
Nr. 2	0,28	0,1	3,5	3,0
Nr. 3	0,83	3,0	11,5	9,0
Nr. 4	0,34	3,0	6,5	2,0
AZT	0,002	0,002	0,001	0,001
3TC™	0,01	0,08	0,125	42,5

BESTIMMUNG DES IC_{50} (µM) IN AKUT MIT HIV-1-INFIZIERTEN ZELLI NIEN IN GEGENWART VERSCHIEDENER ANTIVIRALER VERBINDUNGEN

[0120] Verschiedene Zellinien wurden mit HTLV-IIIb (TCID50 = 200) infiziert und dann mit verschiedenen Konzentrationen an Arzneimittel kultiviert. Der IC_{50} wurde durch Messung der p24-Antigenkonzentrationen in den Überständen der Kulturen an Tag 6 nach der Infektion bestimmt.

TABELLE 6

VERBINDUNG	ID_{50} (µg/ml)				
	MT-4	Jurkat	H9	U937	CEM
Nr. 1 (Bsp. 23)	2,8	3,0	0,3	0,4	0,2
Nr. 2 (Bsp. 24)	0,9	1,8	0,075	0,3	0,4
Nr. 3 (Bsp. 25)	3,0	3,5	0,1	0,6	0,2
Nr. 4 (Bsp. 26)	3,2	6,0	1,0	0,4	0,3
AZT (Referenz)	0,005	0,01	0,07	0,04	0,01

FESTSTELLUNG DER ZELLKULTURHEMMDOSIS (CELL CULTURE INHIBITORY DOSE, CCID50)

[0121] 7 Tage nach der Behandlung mit dem Arzneimittel wurde das Zellwachstum durch Auszählen der Zellen und die Lebensfähigkeit durch Trypan-Blau-Ausschluß bestimmt. Die CCID50 wird als die Arzneimittelkon-

zentration ausgedrückt, bei der das Zellwachstum zu 50% gehemmt ist.

TABELLE 7 (CCID50 in verschiedenen Zellen (μM))

VERBINDUNGEN	CBMCs	MT-4	U937	Jurkat	H9	CEM
Nr. 1 (Bsp. 23)	>500	>500	>500	450	>500	>500
Nr. 2 (Bsp. 24)	105	>500	22	11	>500	103
Nr. 3 (Bsp. 25)	>500	>500	>500	>500	>500	>500
Nr. 4 (Bsp. 26)	>500	>500	>500	>500	>500	>500
AZT	45	110	110	>500	200	500

HEMMUNG DES HUMANEN HEPATITIS-B-VIRUS

[0122] Die für diesen Test verwendete Methode ist ausführlich in Korba et al., Antiviral Research 15, 217–228 (1992) beschrieben und umfaßt kurz gesagt folgendes:
Mit genomischer DNA des humanen Hepatitis-B-Virus transfizierte Hep-G2-Zellen (2.2.15-Zellen) wurden in RPMI-1640-Kulturmedium mit 5% fetalem Kälberserum, 2mM Glutamin und 50 μg/ml Gentamicinsulfat kultiviert und routinemäßig auf G418-Resistenz überprüft. 2.2.15-Zellen wurden bis zur Konfluenz in Gewebekulturplatten mit 24 Vertiefungen kultiviert und vor der Behandlung mit dem Arzneimittel 2 bis 3 Tage lang in diesem Zustand gehalten.

[0123] Die Arzneimittel wurden in Konzentrationen, die 100mal höher waren als die der höchsten Testkonzentration, in sterilem Wasser oder sterilem 50%igem DMSO in Wasser gelöst. Diese Lösungen wurden nach Bedarf mit Kulturmedium verdünnt.

[0124] Das Kulturmedium der konfluenten Zellen wurde 24 Stunden vor Zugabe der Testverbindungen gewechselt. Während der 10tägigen Behandlung wurde das Kulturmedium jeden Tag gewechselt. Am 10. Tag der Behandlung wurde das Kulturmedium abgenommen und für die HBV-DNA-Analyse bei –70°C eingefroren.

[0125] Für die Analyse extrazellulärer HBV-DNA wurden 0,2 ml-Proben des Kulturmediums 20 Minuten lang bei 25°C in 1M NaOH/10× SSC (1× SSC entspricht 0,15M NaCl/0,015M Natriumcitrat, pH 7,2) inkubiert und dann auf Nitrocellulosemembranen gegeben, die zuvor in 20× SSC getränkt worden waren. Die Filter wurden dann mit 2× SSC abgespült und 1 Stunde lang bei 80°C unter Vakuum gebacken.

[0126] Ein gereinigtes 3,2 kb EcoRI-HBV-DNA-Fragment wurde durch Nick-Translation mit [^{32}P]dCTP markiert. Dieses Fragment wurde als Sonde für den Nachweis von HBV-DNA auf dem Dot-Blot durch DNA-Hybridisierung verwendet. Nach dem Waschen wurde der hybridisierte Blot getrocknet, und das ^{32}P wurde mit einem Ambis-beta-Scanner quantifiziert.

TABELLE 8 (HBV)

VERBINDUNG	ID_{50} (μg/ml)	CD_{50} (μg/ml)
BCH-270 (Beispiel 7)	7,5	>10
Verb. Nr. 2 (Bsp. 24)	4	>10

Patentansprüche

1. Pharmazeutische Formulierung, umfassend eine Verbindung, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus
(a) 2R-Hydroxymethyl-4R-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;
(b) 2S-Hydroxymethyl-4S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;
(c) jeder beliebigen Kombination der Isomere (a) und (b);
(d) 2R-Hydroxymethyl-4R-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;
(e) 2S-Hydroxymethyl-4S-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;
(f) jeder beliebigen Kombination der Isomere (d) und (e) und
(g) pharmazeutisch akzeptablen Salzen und Estern der vorhergehenden Verbindungen,
in einer zur Behandlung von Infektionen mit dem humanen Immunschwäche-Virus, die gegenüber 2R-Hydroxymethyl-5S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan und 2-Hydroxymethyl-5-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan resis-

tent sind, wirksamen Menge, wobei die pharmazeutische Formulierung weiter einen pharmazeutisch akzeptablen Träger und optional ein weiteres therapeutisches Mittel umfasst, und wobei die pharmazeutische Formulierung in einer zur oralen, rektalen, nasalen, topischen (einschließlich bukkalen und sublingualen), vaginalen oder parenteralen (einschließlich intramuskulären, subkutanen und intravenösen) Verabreichung geeigneten Form oder in einer zur Verabreichung durch Inhalation oder Insufflation geeigneten Form vorliegt.

2. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei die Verbindung 2R-Hydroxymethyl-4R-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan oder ein pharmazeutisch akzeptables/r Salz oder Ester davon ist und in einer zur Behandlung von Infektionen mit dem humanen Immunschwäche-Virus, die gegenüber 2R-Hydroxymethyl-5S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan und 2-Hydroxymethyl-5-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan resistent sind, wirksamen Menge vorliegt.

3. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei die Verbindung 2S-Hydroxymethyl-4S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan oder ein pharmazeutisch akzeptables/r Salz oder Ester davon ist und in einer zur Behandlung von Infektionen mit dem humanen Immunschwäche-Virus, die gegenüber 2R-Hydroxymethyl-5S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan und 2-Hydroxymethyl-5-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan resistent sind, wirksamen Menge vorliegt.

4. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei die Verbindung 2R-Hydroxymethyl-4R-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan oder ein pharmazeutisch akzeptables/r Salz oder Ester davon ist und in einer zur Behandlung einer Hepatitis-B-Virus-Infektion in Säugetieren wirksamen Menge vorliegt.

5. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 1, wobei die Verbindung 2S-Hydroxymethyl-4S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan oder ein pharmazeutisch akzeptables/r Salz oder Ester davon ist und in einer zur Behandlung einer Hepatitis-B-Virus-Infektion in Säugetieren wirksamen Menge vorliegt.

6. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, wobei die pharmazeutische Formulierung in einer zur oralen oder parenteralen Verabreichung geeigneten Form vorliegt.

7. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, wobei die pharmazeutische Formulierung in einer zur oralen Verabreichung geeigneten Form vorliegt, wie beispielsweise als Kapsel, Cachet, Tablette (einschließlich beschichtete Tablette), Pulver, Granulat, Lösung, Suspension (einschließlich wässrige oder ölige Suspension), Emulsion, Bolus, Elektuarium, Paste, Sirup, Elixier, oder als Trockenprodukt zum Einsatz mit Wasser oder einem anderen geeigneten Vehikel vor der Verwendung vorgelegt werden kann.

8. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, wobei die pharmazeutische Formulierung in einer zur parenteralen Verabreichung geeigneten Form vorliegt, wie beispielsweise als ein injizierbares Mittel, zum Beispiel Bolus-Injektion oder kontinuierliche Infusion, Ampulle, vorgefüllte Spritze, Infusion mit geringem Volumen, in einem Behältnis zur Mehrfachdosierung mit einem zugegebenen Konservierungsmittel, Suspension, Lösung, Emulsion (einschließlich eine Emulsion in einem öligen oder wässrigen Vehikel), oder in Pulver-Form zum Einsatz mit einem geeigneten Vehikel (z.B. sterilem, Pyrogen-freiem Wasser) vor der Verwendung vorliegen kann.

9. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, wobei das weitere therapeutische Mittel ein antivirales Mittel ist.

10. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, enthaltend 10–1500 mg der Verbindung pro Dosierung.

11. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, enthaltend 20–1000 mg der Verbindung pro Dosierung.

12. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, enthaltend 50–700 mg der Verbindung pro Dosierung.

13. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen vorhergehenden Anspruch, wobei das weitere therapeutische Mittel ein Nicht-Nukleosid-Reverse-Transkriptase-Inhibitor oder ein Nukleosid-Analogon oder ein Nukleosid-Transport-Inhibitor oder ein Immunomodulator ist.

14. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 13, wobei das Nukleosid-Analogon aus 2R-Hydroxymethyl-5S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (3TC™), 3'-Azido-3'-deoxythymidin (AZT), 2',3'-Dideoxycytidin (ddc) und 2',3'-Dideoxyinosin (ddI) ausgewählt ist.

15. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 14, wobei das weitere therapeutische Mittel 2R-Hydroxymethyl-5S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan ist.

16. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 14, wobei das weitere therapeutische Mittel 3'-Azido-3'-deoxythymidin ist.

17. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 14, wobei das weitere therapeutische Mittel 2',3'-Dideoxycytidin ist.

18. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 14, wobei das weitere therapeutische Mittel 2',3'-Dideoxyinosin ist.

19. Verwendung einer pharmazeutischen Formulierung gemäß Anspruch 1 zur Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung zur Behandlung von Infektionen mit dem humanen Immunschwäche-Virus, wobei die Virus-Infektionen gegenüber 2R-Hydroxymethyl-5S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan und 2-Hydroxymethyl-5-(5'-fluorcytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan resistent sind, oder zur Behandlung einer Hepatitis-B-Virus-Infektion in Säugetieren.

20. Verwendung gemäß Anspruch 19, wobei das Säugetier ein Mensch ist.

21. Pharmazeutische Formulierung zur oralen Verabreichung, umfassend eine Verbindung, die zur Behandlung von Infektionen mit dem humanen Immunschwäche-Virus in einem Säugetier wirksam ist, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus
(a) 2R-Hydroxymethyl-4R-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan;
(b) 2S-Hydroxymethyl-4S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan und
(c) einem pharmazeutisch akzeptablen Salz oder Ester von (a) oder (b),
in einer zur Behandlung von Infektionen mit dem humanen Immunschwäche-Virus wirksamen Menge, und einen pharmazeutisch akzeptablen Exzipienten, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Bindemitteln, Füllstoffen, Gleitmitteln, Lösungsvermittler, Befeuchtungsmitteln, Suspendiermitteln, Emulgiermitteln, nicht-wässrigen Vehikeln, Konservierungsmitteln und Kombinationen davon.

22. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 21, wobei die Menge der Verbindung zwischen 10 und 1500 mg beträgt.

23. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 22, wobei nach der oralen Verabreichung an ein Säugetier eine Plasmakonzentration der Verbindung zwischen 1 und 75 µM erhalten wird.

24. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 21, weiter umfassend ein therapeutisches Mittel, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus 3'-Azido-3'-deoxythymidin (AZT), 2R-Hydroxymethyl-5S-(cytosin-1'-yl)-1,3-oxathiolan (3TC™), 2',3'-Dideoxycytidin (ddC) und 2',3'-Dideoxyinosin (ddI).

25. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 24, wobei das therapeutische Mittel AZT ist.

26. Pharmazeutische Formulierung gemäß jedem beliebigen der Ansprüche 21 bis 25, wobei die Formulierung in fester Form oder flüssiger Form vorliegt.

27. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 26, wobei die feste Form als eine zur oralen Verabreichung geeignete Tablette oder Kapsel vorliegt.

28. Pharmazeutische Formulierung gemäß Anspruch 26, wobei die flüssige Form aus der Gruppe ausgewählt ist, bestehend aus zur oralen Verabreichung geeigneten wässrigen Suspensionen, öligen Suspensionen, Lösungen, Emulsionen, Sirupen and Elixieren.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen