



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(21) Patentansøgning nr.: 5495/83

(51) Int.Cl.⁵ A 61 K 31/70

(22) Indleveringsdag: 01 dec 1983

(41) Alm. tilgængelig: 02 jun 1985

(44) Fremlagt: 25 mar 1991

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: -

(71) Ansøger: *SYNTHELABO; 58, rue de la Glaciere; 75621 Paris Cedex 13, FR

(72) Opfinder: Jean-Louis *Imbach; FR, Gilles *Gosselin; FR, Jean De *Rudder; FR

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) Lægemiddel på basis af xylosider eller lyxosider af purin- eller pyrimidinbaser

(56) Fremdragne publikationer

Andre publikationer. Chem Abstr. 75 (1971), 77232h. Nature
302 (1983) side 723-724.

(57) Sammendrag:

5495-83

Lægemiddel på basis af xylosider og lyxosider af purin- og pyrimidinbaser valgt blandt:

1-β-D-xylofuranosylcytosin,
1-β-D-xylofuranosylthymine,
9-α-D-xylofuranosyladenine,
9-α-D-xylofuranosylguanin,
1-α-D-xylofuranosylcytosin,
1-α-D-xylofuranosylthymine,
9-β-D-lyxofuranosyladenine,
9-β-D-lyxofuranosylguanin,
1-β-D-lyxofuranosylcytosin,
1-β-D-lyxofuranosylthymine,
9-α-D-lyxofuranosyladenine,
9-α-D-lyxofuranosylguanin,
1-α-D-lyxofuranosylcytosin, og
1-α-D-lyxofuranosylthymine

som fremstilles ved en kondensationsreaktion.
Lægemidlet er aktivt over for DNA-holdige virus såsom
Herpes, Kopper og Adenovirus.

Den foreliggende opfindelse angår et lægemiddel på basis af xylosider eller lyxosider af purin- eller pyrimidinbaser.

5 Lægemidlerne ifølge opfindelsen er især aktive over for virus indeholdende DNA (desoxyribonucleinsyre), såsom herpes, vaccinia og adenovirus og udmærker sig ved en meget lav toxicitet i forhold til de kommercielle purin-baserede antivirale midler acyclovir (9-(2-hydroxyethoxy-methyl)-guanin) og β -Ara A (9- β -D-arabinosyladenin) (vidarabin) i koncentrationer, hvor virkningen er af samme størrelsesorden.

15 Lægemidlet ifølge opfindelsen er ejendommeligt ved, at det indeholder:

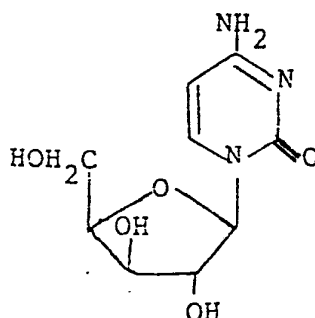
1- β -D-xylofuranosylcytosin (også benævnt β -xylo-C)
eller
9- α -D-lyxofuranosyladenin (også benævnt α -lyxo-A).

20 Disse forbindelser er velkendte kemiske stoffer, som allerede er omtalt i litteraturen.

1- β -D-xylofuranosylcytosin med formlen

25

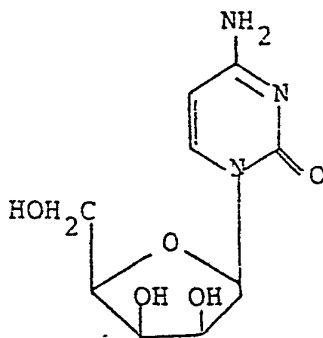
30



35

er beskrevet af J.J. Fox et coll. (JACS 79, p. 5060, 1957), og af V. Brodbeck et coll. (J. Org. Chem. 35, 3552, 1970).

Den strukturelt nærstående forbindelse 1- β -D-lyxofuranosylcytosin (β -lyxo-C) med formlen



er beskrevet af I. Kanai et coll. (Chem. Pharm. Bull. 16, (9) 1848, (1968)) og af J.J. Fox et coll. (JACS, 83, 1889 (1961); J. Org. Chem. 27, 1477 (1962)) uden angivelse af antiviral virkning. Ifølge Chem Abs. (1971), 77232h er forbindelsen antiviralt virksom, men der siges intet specielt om antiherpetisk virkning.

9- α -D-lyxofuranosyladenin er beskrevet af P. Kohn et coll. (J. Org. Chem., 32, 4076 (1967)).

Den strukturelt nærstående forbindelse 9- β -D-xylofuranosyladenin (β -xylo-A) er omtalt som havende anti-herpes-virkning i Nature, 302 (1983), p. 723-724. Virkningen er dog betydeligt ringere end for den kommercielle forbindelse acyclovir.

β -xylo-C og α -xylo-A fremstilles ved kondensationsmetoder, som vælges ganske nøje som funktion af det pågældende aglycons reaktivitet.

I det efterfølgende eksempel er beskrevet fremstillingen af den i lægemidlet ifølge opfindelsen anvendte forbindelse β -xylo-C.

Forbindelsens struktur er blevet bekræftet ved analyser og af UV-spektre, massespektre og NMR-spektre.

EKSEMPEL1- β -D-xylofuranosylcytosin

5 Man kondenserer 1 ækvivalent cytosin med 1 ækvivalent 1-
0-acetyl-2,3,5-tri-0-benzoyl- α -D-xylofuranose ved omgi-
velsernes temperatur i vandfri acetonitril og i nærvær af
tintetrachlorid SnCl_4 (to ækvivalenter). Man renser den
10 således opnåede forbindelse ved chromatografi over en
søjle af siliciumoxid, og man debenzoylerer ved hjælp af
en mættet opløsning af ammoniak i methanol.

Man opnår 1- β -D-xylofuranosylcytosin.

15 Smp. = 240-242 °C (dekomponering)

De forbindelser, der anvendes i lægemidlet ifølge
opfindelsen, besidder virostatiske egenskaber, og de er
blevet undersøgt in vitro under følgende betingelser:

20

Man arbejder med HeLa-celler, som er dyrket i et medium
bestående af Earle's væske, hvortil er sat 0,5% lact-
albuminhydrolysat, 0,1% gærekstrakt, 5% kalveserum, som
er filtreret og inaktiveret i 30 minutter ved 56 °C.
25 Dyrkningen foregår i stationære rør indeholdende 1 ml af
dette medium. Når cellematerialet er vel udviklet, fjer-
nes dyrkningsmediet, og man anbringer i hvert rør 0,1 ml
af en suspension af herpesvirus i Hanks' væske fra til-
strækkelig stor koncentration til at indeholde fra 10 til
30 50 D.I.C.T.₅₀ (50% af infektionsdosis i vævskultur) pr.
celle. Man lader absorbere ved 37 °C i 2 timer. Derpå
fjernes supernatanten, og man vasker cellelaget ved hjælp
af en isotonisk pufferopløsning. Derpå indføres 1 ml
vedligeholdelsesmedium (et analogt medium, som dog inde-
holder 2,5% serum), hvortil man forinden sætter den
35 forbindelse, der skal afprøves, i en koncentration på $3,3 \times 10^{-4}$ M. Man fremstiller ligeledes sammenlignings-

kulturer, som ikke indeholder den aktive forbindelse, og som podes med herpesvirus under de samme betingelser. Samtlige rør inkuberes ved 35 °C i et varmeskab. Når kontrolprøverne viser en fuldstændig cytopathogen effekt, måler man infektions-virus i alle rør gennem metoden til fastlæggelse af grænsefortyndingen 50%. Man konstaterer en forskel på 3-5 titalslogaritmeenheder mellem det smitsomme indhold i de behandlede rør og i kontrolrørene, hvilket indikerer en fuldstændig blokering af virusdannelsen i de behandlede rør.

Forbindelserne:

1- β -D-xylofuranosylcytosin og
9- α -D-lyxofuranosyladenin

er i særlig grad blevet undersøgt for aktiviteten over for herpesvirus (H. hominis type 1) i kulturer af HeLa celler. I kontrolprøven var indholdet af virus ca. $10^{6,5}$ (DICT₅₀/ml).

Når man indfører prøveforbindelserne, formindskes indholdet af virus til henholdsvis $10^{3,6}$ og $10^{2,5}$ (DICT₅₀/ml).

Forbindelsernes toxicitet over for normale celler i kulturen er meget ringe.

De i lægemidlet ifølge opfindelsen anvendte β -xylo-C og α -lyxo-A er på grund af deres virostatiske egenskaber og deres lave toxicitet over for celler terapeutisk anvendelige til behandlingen af forskellige virussygdomme, såsom herpetisk keratit, hud-herpes, zona (helvedesild) såvel som sygdomme forårsaget af koppevirus og adenovirus.

35

De omhandlede farmaceutiske præparater kan være flydende eller faste og foreligge i form af opløsninger, øjen-

dråber, salver, pomader, etc.

De fremstilles ifølge kendte metoder. Den aktive bestanddel kan inkorporeres i farmaceutiske excipenser, som
5 sædvanligvis anvendes til sådanne præparater, og som er valgt som en funktion af den galeniske form, der skal fremstilles. Disse excipenser kan bestå af vandige eller ikke-vandige opløsningsmidler, stabilisatorer, befugtning
10 ningsmidler, vaseliner, lanoliner, polyethylenglycoler, sorbitanestere af eventuelt polyhydroxyethylerede fedtsyrer.

Koncentrationen af aktiv forbindelse i de således fremstillede farmaceutiske præparater er variabel afhængigt
15 af tilfældets alvor og den påtænkte anvendelsesmåde: den kan f.eks. være på mellem 0,1% og 5%.

20

25

30

35

P A T E N T K R A V

1. Lægemiddel på basis af xylosider eller lyxosider af
purin- eller pyrimidinbaser,
5 k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder
- 1- β -D-xylofuranosylcytosin eller
9- α -D-lyxofuranosyladenin.
- 10 2. Lægemiddel med aktivitet over for desoxyribonuclein-
syreholdige virus,
k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder en af de i
krav 1's kendetegnende del anførte forbindelser.
- 15 3. Lægemiddel med anti-herpes-aktivitet,
k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder en af de i
krav 1's kendetegnende del anførte forbindelser.
4. Lægemiddel ifølge krav 3,
20 k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder 1- β -D-
xylofuranosylcytosin.
5. Lægemiddel ifølge krav 3,
k e n d e t e g n e t ved, at det indeholder 9- α -D-
25 lyxofuranosyladenin.