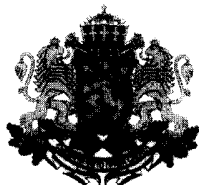


РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ

ЗА

ИЗОБРЕТЕНИЕ

(11) 98616A

(51) C07D411/04

C12P 41/00

A61K 31/505

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Заявителски № 98616				(71) Заявител(и):	
(22) Заявено на 28.02.1994				SHIRE CANADA INC. , , H4S 2C9	
(24) Начало на действие				QUEBEC , 2250, BOUL. ALFRED-NOBEL BUR.	
на патента от:				500,	
Приоритетни данни				(72) Изобретател(и):	
				DIONNE , GERVAIS . , QUEBEC (CA) ;	
(31) 9116601 (32) 01.08.1991 (33)				(74) Представител по индустриална	
GB				собственост:	
				Румяна Стефанова Слабова , 1124 София ,	
				ул. "Леонардо да Винчи" 3	
(41) Публикувана заявка в				(86) № на PCT заявка:	
бюлетин № 3 31.03.1995				PCT/ CA92/0 / 0321 , 24.07.1992	
(45) Отпечатано на				(87) № и дата на PCT публикация:	
(46) Публикувано в бюлетин №				93/030 / 27 , 18.02.1993	
на					
(56) Информационни източници:					
(62) Разделена заявка от рег. №					

(54) 1,3-ОКСАТИОЛАНОВИ НУКЛЕОЗИДНИ АНАЛОЗИ

(57) Изобретението се отнася до 1,3-оксатиоланови нуклеозидни аналози и тяхното използване за лечение на вирусни инфекции, по-специално до /-/-4-амино-5-флуор-1-/2-хидроксиметил-1,3-оксатиолан-5-ил//1н/-пи римидин-2-он и неговите фармацевтично приемливи производни, както и до съдържащи го фармацевтични форми.

20 претенции , 0

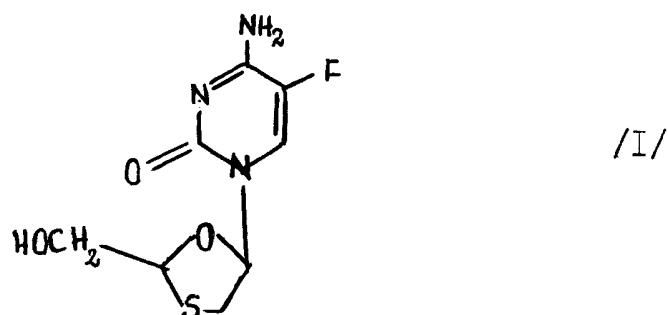
BG 98616A

1,3-ОКСАТИОЛАНОВИ НУКЛЕОЗИДНИ АНАЛОЗИ

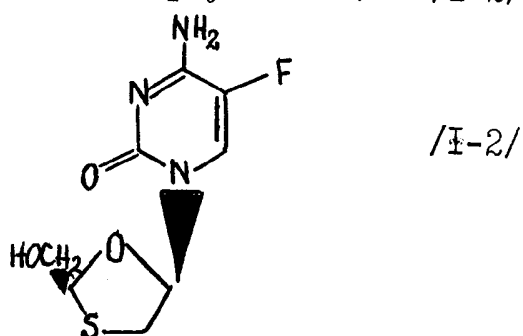
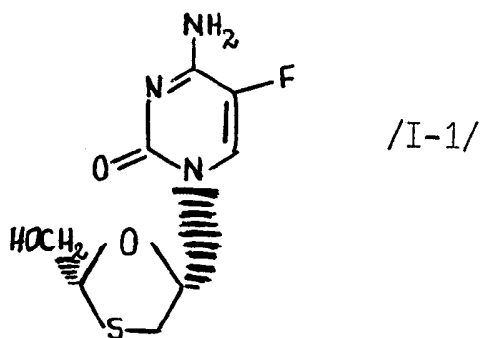
Изобретението се отнася до нуклеозидни аналози и тяхното използване в медицината. По-специално, изобретението се отнася до 1,3-оксатиоланови нуклеозидни аналози, техни фармацевтични форми, както и до приложението им за лечение на вирусни инфекции.

Изобщо, единственото съединение, одобрено за лечение на състоянията, предизвикани от ХИВ^(HIV), е 3'-азидо-3'-деокситимидин /AZT, зидовудин, BW 509 /. Но е вероятно, това съединение да дава значителен страничен ефект, поради което то или не може да бъде използвано, или ако вече е използвано ще трябва да се преустанови употребата му от голям брой пациенти. Оттук е налице непрекъсната необходимост от осигуряване на съединения, които са ефективни срещу ХИВ, като същевременно имат значително по-добър терапевтичен показател.

Съединението с формула /I/



е рацемична смес от двата енантиомера с формули /I-1/ и /I-2/:



Неочаквано се установи, че /-/-енантиомерът на съединението с формула /I/ е много по-активен отколкото /+/-енантиомера, въпреки, че и двата енантиомера показват неочаквано ниска цитотоксичност. Следователно, първият аспект на изобретението е /-/- /или лявовъртящият/ енантиомер на съединението с формула /I/ и фармацевтично приемливите му производни.

Химическото наименование на /-/-енантиомера е /-/-4-амино-5-флуор-1-/2-хидроксиметил-1,3-оксатиолан-5-ил/-/-1Н/-пиримидин-2-он /отсега нататък съединение /A//. Този енантиомер има стереохимията, показана с формула /I-1/.

За предпочитане, съединение /A/ се осигурява по същество свободно от съответния /+/-енантиомер, т.е., присъстват не повече от около 5% т./т. от /+/-енантиомера, още по-добре не повече от 2% и най-добре под 1% т./т.

"Фармацевтично приемливо производно" означава всяка фармацевтично приемлива сол, естер или сол на такъв естер, на съединение /A/ или всяко друго съединение, което при прилагане към приемника /пациента/ е способно да осигури /директно или недиректно/ съединение /A/ или негов антивирусно-активен метаболит, или негов остатък.

Ясно е за специалистите в тази област, че съединение /A/ може да се модифицира при функционалните групи както в основната част, така и в хидроксиметилловата група на оксатиолановия пръстен. Модификацията на всички тези функционални групи се включва в обхвата на изобретението. Но, особен интерес представляват фармацевтично приемливите производни, получени чрез превръщане на 2-хидроксиметилловата група в оксатиолановия пръстен.

Предпочитани естери на съединение /A/ са съединенията, в които водородът от 2-хидроксиметилловата група е заместен

с ацилова функционална група R-C-, в която некарбонилната част R на естера е избрана от водород, алкил с права или разклонена верига /например, метил, етил, н.-пропил, трет.-бутил, н.-бутил/, алкоксиалкил /например, метоксиметил/, аралкил /например, бензил/, арилоксиалкил /например, феноксиметил/, арил /например, фенил, заместен по желание с халоген, C₁₋₄алкил или C₁₋₄алкокси/; сулфонати, като алкил- или аралкилсулфонил /например, метан сулфонил/; аминокиселинни естери /като, L-валил или L-изолевцил/ и моно-, ди- или три-фосфатни естери.

По отношение на гореспоменатите естери, ако не е казано нещо друго, следва да се счита, че всяка алкилова част в естерите съдържа преимуществено от 1 до 16 въглеродни атома, по-специално от 1 до 4. Всяка арилова част в естерите, за предпочитане, съдържа фенилова група.

По-точно, естерите могат да бъдат C₁₋₁₆алкилови естери, незаместен бензилов естер или бензилов естер, заместен с поне един халоген /бром, хлор, флуор или йод/, C₁₋₆алкил, C₁₋₆алкокси, нитро или трифлуорметилова група.

Към фармацевтично приемливите соли на съединението /А/ се отнасят тези, получени от фармацевтично приемливи неорганични или органични киселини или основи. Примери за подходящи киселини са: солна, бромоводородна, сярна, азотна, перхлорна, фумарова, малеинова, фосфорна, гликолова, млечна, салицилова, янтарна, толуен-р-сулфонова, винена, оцетна, лимонена, метансулфонова, мравчена, бензоена, маленова, нафталин-2-сулфонова и бензенсулфонова. Други киселини, като оксаловата, които сами по себе си не са фармацевтично приемливи, могат да се използват като междинни съединения в получаването на съединенията, съгласно изобретението и техните фармацевтично приемливи присъединителни с киселина соли.

Солите, получени от подходящи основи са: алкално-метални /например, натриеви/, соли на алкалоземни метали /например, магнезиеви/, амониеви и NR_4^+ /където R е C_{1-4} алкил/ соли.

Всичко, споменато по-долу, за съединението, съгласно изобретението, се отнася както до съединение /А/, така и до неговите фармацевтично приемливи соли.

Съединенията, съгласно изобретението, или самите те притежават антивирусна активност и/или се превръщат в такива /активни/ съединения. По-специално, тези съединения са ефикасни при инхибиране размножаването на ретровируси, включително на човешки ретровируси, като вируси на имунна недостатъчност при човека /ХИВ/ които са причинители на СПИН.

Съединенията, съгласно изобретението, са полезни и за лечение на животни, включително и на хора, заразени с вируса на хепатит В /HBV/.

Следователно, друг аспект на изобретението е използването на съединение /А/ или на негово фармацевтично приемливо производно като активен терапевтичен агент и по-специално като антивирусен агент, например при лечението на ретровирусни инфекции или на инфекции, причинени от HBV.

Един допълнителен или алтернативен аспект на изобретението е метод за лечение на вирусна инфекция, по-специално на инфекция, причинена от HBV или от ретровирус, като ХИВ, в бозайници, включително хора, който се осъществява чрез прилагане на ефективно количество от съединение /А/ или от негово фармацевтично приемливо производно.

Друг допълнителен или алтернативен аспект на изобретението е свързан с използването на съединение /А/ или на негово фармацевтично приемливо производно за приготвяне на лекар-

ствено средство за лечение на вирусна инфекция.

Съединенията, съгласно изобретението, са полезни за лечение на състояния, свързани със СПИН, като СПИН-свързан комплекс /ARC/, прогресираща генерализирана лимфаденопатия /PGL/, неврологични състояния, свързани със СПИН /като деменция или тропическа парапареза/, анти-ХИВ антитяло позитивни или ХИВ-позитивни състояния, саркома на Капоши, хеморагична пурпура и съпътстващи условно-патогенни инфекции, като *pneumocystis carinii*.

Съединенията, съгласно изобретението, са полезни, също, за предотвратяване на развитието до клинично заболяване на индивиди, които са анти-ХИВ антитяло или ХИВ-антигенно позитивни и в профилактиката, следваща въздействието на ХИВ.

Съединение /А/ или неговите фармацевтично приемливи производни могат да се използват и за предпазване на физиологични течности, като кръв и сперма, "ин витро", от вирусна зараза.

Съединенията, съгласно изобретението, са полезни и за лечение на животни, включително хора, заразени с вируса на хепатит В.

Разбираемо е за специалистите в областта, че всичко, което тук се отнася до лечение, обхваща и профилактиката, както и лечението на доказани инфекции или симптоми.

Освен това е ясно, че количеството съединение, съгласно изобретението, необходимо за лечение, ще варира не само в зависимост от избраното конкретно съединение, но и от начина, по който то се прилага /схемата, по която се прилага/, от състоянието и възрастта на пациента и ще се определя главно по усмотрение на лекувания хуманен или ветеринарен лекар.

По принцип, подходящата дневна доза е в границите от

около 0.1 до около 750 мг/кг телесно тегло, за предпочитане от 0.5 до 60 мг/кг и най-подходящата дневна доза е от 1 до 20 мг/кг телесно тегло.

За удобство, желаната доза може да се прилага като еднократна или да бъде разделена на дози, които се прилагат през подходящи интервали от време, като например два, три, четири или повече пъти дневно.

Удобно е, съединението да се прилага във вид на единична лекарствена форма, която съдържа, например, от 10 до 1500 мг, за предпочитане от 20 до 1000 мг и най-добре от 50 до 700 мг, активен ингредиент в една доза.

В идеалния случай, активното вещество следва да се прилага до достигане на максимални концентрации на активното съединение в плазмата от около 1 до 75 мкМ, за предпочитане от около 2 до 50 мкМ и най-добре от около 3 до около 30 мкМ. Това може да се постигне, например, чрез интравенозно инжектиране на 0.1 до 5%-ен разтвор на активното вещество, по желание във физиологичен разтвор или чрез орално приемане под формата на болус, съдържащ от 1 до 100 мг активен ингредиент. Желаните кръвни нива /концентрации в кръвта/ могат да се поддържат чрез непрекъснатото преливане /инфузия/, за да се осигури около 0.01 до 5.0 мг/кг/ч или чрез периодични инфузии с от около 0.4 до 15 мг/кг активен ингредиент.

Доколкото това е възможно в терапията /лечението/, съединение, съгласно изобретението, може да се прилага като чиста субстанция, но се предпочита активният ингредиент да се включи във фармацевтична форма.

Следователно, обект на изобретението е и лекарствена форма, съдържаща съединение /А/ или негово фармацевтично приемливо производно заедно с един или повече фармацевтично прием-

ливи носители и по желание с други лечебни и/или профилактични ингредиенти. Носителят/ите/ трябва да бъде/ат/ "приемливи" в смисъл на съвместимост с останалите ингредиенти във формата и да не бъдат вредни за реципиента.

Лекарствените форми включват такива, които са подходящи за орално, ректално, носово, локално /включително през устата и под езика/, вагинално или парентерално /включително интрамускулно, подкожно и интравенозно/ прилагане. Тук спадат и форми, подходящи за прилагане чрез инхалации или инсуфлация. Формите могат, когато е подходящо, за удобство да бъдат като отделни единични дози и могат да се приготвят по всеки от добре известните методи във фармацията. Всички методи включват етап на смесване на активното съединение с течни носители или ситно смляни твърди носители или и с двата вида и ако е необходимо, следващо придаване на желаната форма на продукта.

Фармацевтичните форми, подходящи за орално приложение, за удобство, могат да бъдат като отделни ~~единични~~ дози, като капсули, облатки или таблетки, всяка съдържаща предварително определено количество от активното вещество; като прахове или гранули; като разтвор, суспензия или емулсия. Активното вещество може да бъде под формата на болус, електуарий или паста. Таблетките и капсулите за орално приложение могат да съдържат обичайните инертни пълнители, като свързващи агенти, пълнители, мазилни вещества, разделящи вещества или умокрящи агенти. Таблетките могат да бъдат покрити по добре известните методи. Оралните течни препарати могат да бъдат под формата, например, на водни или маслени суспензии, разтвори, емулсии, сиропи или елексири, или могат да бъдат като сух продукт, към който се добавя вода или друг подходящ ^{-ТВО-} разтворител преди употреба. Такива течни препарати могат да съдържат обичайните добавки, като суспендиращи аген-

ти, емулгатори, неводни разредители /като тук се включват ядивни масла/ или консерванти.

Съединенията, съгласно изобретението, могат да се формулират за парентерално приложение /като например, чрез инжектиране, като непрекъсната инфузия или инжектиране на болус/, като това може да стане под формата на единична доза в ампули, предварително напълнени спринцовки, инфузия с малък обем или под формата на лекарствена опаковка за многократен прием с добавка на консервант. Средствата могат да приемат такива форми, като суспензии, разтвори или емулсии в маслени или водни разтворители и могат да съдържат формулиращи агенти, като суспендиращи, стабилизиращи и/или диспергиращи агенти. Алтернативно, активното вещество може да бъде в прахообразна форма, получена чрез асептично разделяне на стерилно твърдо вещество или чрез лиофилизиране от разтвор, като по-нататък прахът се смесва с подходящ разтворител, например, стерилна апиrogenна вода, преди употреба.

За локално приложение към епидермиса, съединенията, съгласно изобретението, се формулират като мехлеми, кремове, лосиони, или като пластири. Мехлемите и кремовете могат да бъдат на маслена или водна база с добавка на подходящи съгъстители и/или желиращи агенти. Лосионите могат да бъдат на водна или маслена база и по принцип, също, съдържат един или повече емулгатора, стабилизатора, диспергатора, суспендиращи агенти, съгъстители или оцветители.

Формите, подходящи за локално приложение в устата, включват таблетки, съдържащи активно вещество във вкусова добавка, обикновено захароза, акация или трагант; пастили, съдържащи активното вещество в инертна основа, като желатин и глице-

рин или захароза и акация; и води за уста, съдържащи активното вещество в подходящ течен носител.

Тези фармацевтични форми, подходящи за ректално приложение, в които носителят е твърдо вещество, за предпочитане са като единични супозитори. Подходящи носители са какаоово масло и други вещества, обичайно използвани за тази цел, като супозиторите могат да се приготвят чрез смесване на активното съединение с размекнат/и/ или стопен/и/ носител/и/, следващо бързо охлаждане и формование.

Формите, подходящи за вагинално приложение, са като песарий, тампони, кремове, гелове, пасти, пени или спрейове, съдържащи допълнително, заедно с активното вещество, подходящи за целта носители.

Когато се прилагат вътре в носа, съединенията, съгласно изобретението са като течен спрей или като диспергируем прах, или под формата на капки.

Капките могат да бъдат на водна или неводна база и съдържат, също, един или повече диспергатора, солюбилизирани агенти или суспендиращи агенти. Течните спрейове удобно се нанасят от херметични опаковки.

За прилагане чрез инхалация, съединенията, съгласно изобретението, удобно се нанасят от инсуфлатор, аерозол или херметична опаковка или като се използва друг подходящ начин за ~~на~~насяне на аерозолен спрей. Като движеща сила в херметичните опаковки може да се съдържа дихлордифлуоретан, трихлорфлуоретан, дихлортетрафлуоретан, въглероден двуокис или друг подходящ газ. В случай на херметичен аерозол, единичната доза се определя с помощта на вентил, освобождаващ дозирано количество.

Алтернативно, за прилагане чрез инхалация или инсуф-

лация съединенията, съгласно изобретението, могат да бъдат под формата на сух прах, като например прахова смес от съединението и подходяща прахова основа, като лактоза или нишесте. Праховият състав може да бъде под формата на единична доза, като например, капсули или патрони, или желатинови опаковки, от които прахът може да се прилага с помощта на инхалатор или инсуфлатор.

При желание, гореописаните форми могат да се приготвят така, че да осигуряват постоянно освобождаване на активното вещество.

Фармацевтичните състави, съгласно изобретението, могат, също, да съдържат други активни ingredienti, като антимикробни агенти или консерванти.

Съединенията, съгласно изобретението, могат да се използват и в комбинация с други лечебни вещества, като например, други противинфекциозни агенти. По-специално, съединенията, съгласно изобретението, могат да се използват заедно с известни антивирусни агенти.

Следователно, още един аспект на изобретението е комбинацията, съдържаща съединение /А/ или негов физиологично приемливо производно и друг терапевтично активен агент, по-специално антивирусен агент.

Когато споменатите по-горе комбинации се прилагат, за удобство, като фармацевтична форма, съдържаща описаната комбинация заедно с фармацевтично приемлив носител, те представляват друг аспект на изобретението.

Подходящи терапевтични агенти за тези комбинации са: ациклически нуклеозиди, като ацикловир или ганцикловир, интерферони, алфа, бета или гама-интерферон, инхибитори на бъбречна екскреция /отделяне/, като пробенацид, нуклеозидпренасящи инхибитори, като дипиридамол, 2',3'-дидеоксинуклеозиди, като AZT, 2',3'-дидеокси-

цитидин, 2',3'-дидеоксиаденозин, 2',3'-дидеоксиинозин, 2',3'-дидеокситимидин, 2',3'-дидеокси-2',3'-дидехидротимидин и 2',3'-дидеокси-2',3'-дидехидроцитидин, имуномодулатори, като интерлевкин-2 /ИЛ-2/ и гранулоцитен-макрофаген колонистимулиращ фактор /GM-CSF/, еритропоиетин, амплиген, тимомодулин, тимопентин, фоскарнет, рибавирин и инхибитори на свързването на ХИВ с CD4 рецептори, като например, разтворим CD4, CD4 фрагменти, CD4 хибридни молекули, инхибитори на гликозиране, като 2-деокси-D-глюкоза, кастаноспермин и 1-деоксиноджиримицин.

Отделните компоненти в такива комбинации могат да се прилагат както последователно, така и едновременно в отделни или в общи фармацевтични форми.

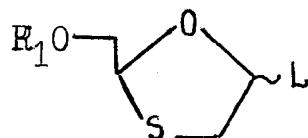
Когато съединение /А/ или негово фармацевтично приемливо производно се използва в комбинации с втори терапевтичен агент, който е активен по отношение на същия вирус, прилаганата доза от всяко съединение може да бъде както еднаква, така и различна от дозата, в която се прилага съединението самостоятелно. За специалистите в тази област подходящите дози са понятни.

Съединението /А/ и неговите фармацевтично приемливи производни могат да се получат по който и да е от известните методи за получаване на съединения с аналогична структура, като например този, описан в А2-публикация на европейски патент 382,526.

За специалистите в тази област е разбираемо, че в някои от методите, описани по-долу, желаната стереохимия на съединение /А/ се получава или като се излиза от оптично чисто изходно вещество, или чрез разделяне на рацемичната смес в който и да е подходящ етап от синтеза. При всички методи желаният оптично чист продукт може да се получи чрез разделяне на крайния продукт от всяка реакция.

Съгласно един такъв метод, 1,3-оксатиолан с формула

/VIII/

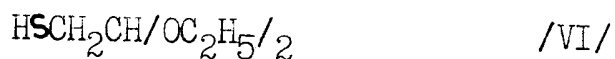


/VIII/

в която аномерната група L е такава, която може да бъде заместена, взаимодейства с подходяща основа. Подходящи групи L са: $-OR$, където R е алкилова група, като например, C_{1-6} алкил, например метил или R е ацилова група, като C_{1-6} ацилова група, каквато е ацетилната или халоген, като например йод, бром или хлор.

Съединението с формула /VIII/ лесно реагира с 5-флуор-цитозин или с негов прекурсор, представляващ подходяща пиримидинова база /предварително силилиран със силилиращ агент, като хексаметилдисилазан/, в съвместим разтворител, като метиленхлорид, при използване на Люисова киселина, като титанов тетрахлорид, триметилсилилтрифлейт, триметилсилил йодид /TMSI/ или калаено /IV/ съединение, като $SnCl_4$.

1,3-оксатиоланите с формула /VIII/ могат да се получат, например, чрез взаимодействие на алдехид с формула /VII/ с меркаптоацетал с формула /VI/ в съвместим органичен разтворител, като толуен, в присъствието на киселинен катализатор, като например, Люисова киселина, такава като цинков хлорид.

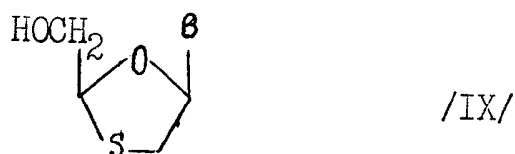


Меркаптоацеталите с формула /VI/ могат да се получат по известни методи, като например, този, описан в Chem. Ber., 85, стр. 924-932, /1952/ от G. Hesse и I. Jorder.

Алдехидите с формула /VII/, също, могат да се получат по известни методи /например, виж E.G. Hallquist и H. Hibbert, Can. J. Research, 8, стр. 129-136 /1933//. За удобство, суровият алдехид /VII/ се пречиства чрез превръщане до кристален адукт,

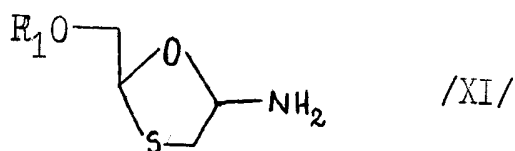
получен с бисулфит и следващо повторно превръщане в свободния алдехид.

Съгласно втори метод, съединението /A/ се получава чрез основно междинно превръщане на съединение с формула /IX/



в която В е основа, способна да се превръща в 5-флуор-цитозин. Такова междинно превръщане може да се получи или чрез просто химично преобразуване /например, превръщането на урацилова база до цитозин/, или чрез ензимно превръщане, като се използва деоксирибозилтрансфераза. Такива методи и условия за основно междинно превръщане са добре известни в областта на нуклеозидната химия.

Съгласно трети метод, съединение с формула /XI/



може да се превърне в съединението /A/ чрез превръщане на аномерната NH₂ група в 5-флуор-цитозиновата основа по известни методи в нуклеозидната химия.

За много от описаните по-горе реакции има обширни съобщения в контекста на нуклеозидния синтез, като например тези в *Nucleoside Analogs - Chemistry, Biology and Medical Applications*, R.T. Walker и др., Eds., Plenum Press, Ню Йорк /1979/, стр. 165-192 и T. Ueda, *Chemistry of Nucleosides and Nucleotides*, т. I, L.B. Townsend Ed., Plenum Press, Ню Йорк /1988/, стр. 165-192. Те са включени тук със съответните препратки.

Разбираемо е, че горните реакции могат да изискват употребата на или се прилагат удобно към, изходни съединения със

защитни функционални групи, при което се налага освобождаване от защитната група като един междинен или краен етап, за да се получи желаното съединение. Защитата с функционални групи и освобождаването от нея може да се осъществи като се прилагат известните начини за това. Така например, amino групи се защитават с група, избрана от аралкил /например, бензил/, ацил, арил /например, 2,4-динитрофенил/ или силил; следващото отцепване на защитната група се осъществява, по желание, чрез хидролиза или хидрогенолиза като се работи при стандартни условия. Хидроксилни групи се защитават, като се използват обичайните за това защитни групи, като например, както е описано в *Protective Groups in Organic Chemistry*, J.F.W. McOmie, Ed., Plenum Press, Ню Йорк /1973/ или T.W. Greene, *Protected Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, Ню Йорк /1981/. Примери за подходящи хидроксил-защитни групи са групите, избрани от алкил /например, метил, трет.-бутил или метоксиметил/, аралкил /например, бензил, дифенилметил или трифенилметил/, хетероциклически групи, като тетрахидропиранил, ацил /например, ацетил или бензоил/ и силилови групи, като триалкилсилил /например, трет.-бутилдиметилсилил/. Тези хидроксил-защитни групи се отделят по известните за това методи. Така, например, алкиловите, силиловите, ациловите и хетероциклическите групи могат да се отделят чрез солволиза, като например, чрез хидролиза при киселинни или алкални условия. Аралкиловите групи, като трифенилметиловата, могат да се отстранят по подобен начин чрез солволиза, например чрез хидролиза при киселинни условия. Аралкилови групи, като бензилова, могат да се отцепят, например, чрез обработване с BF_3 /етерат и оцетен анхидрид, след което се отстраняват така образуваните ацетатни групи в подходящ етап от синтеза. Силилови групи удобно се отстраняват като се използва източник на флуоридни йони, като тетра-н.-бутил-

амониев флуорид.

По горните методи съединение /А/, по принцип, се получава като смес от цис и транс изомери, като цис-изомерът е съединението, което представлява интерес.

Тези изомери могат да се разделят чрез физични методи, например, хроматография върху силикагел или чрез фракционна кристализация, или директно, или до съответни техни производни, например, ацетати /получени, например, с оцетен анхидрид/, които след разделянето се превръщат отново в изходния продукт /например, чрез ^{-ет-}деацилиране с метанолен амоняк/.

Фармацевтично приемливи соли на съединенията, съгласно изобретението, могат да се получат както е описано в патент на САЩ № 4,383,114, като описанието е включено тук със съответното позоваване. Така например, когато се цели получаването на киселинно-присъединителна сол на съединението /А/, продуктът на всеки от горните методи може да се превърне в сол чрез обработване на получената свободна база с подходяща киселина, като се използват известните за това методи. Фармацевтично приемливи киселинно-присъединителни соли се получават чрез взаимодействие на свободната основа с подходяща киселина, по желание, в присъствието на подходящ разтворител, като естер /например, етилацетат/ или алкохол /например, метанол, етанол, или изопропанол/. Неорганични основни соли могат да се получат чрез взаимодействие на основното съединение с подходяща основа, като алкохол /например, метанол/. Фармацевтично приемливи соли могат да се получат, също, от други соли, включително други фармацевтично приемливи соли, на съединение /А/, като се прилагат известните за това методи.

Съединение /А/ може да се превърне във фармацевтично приемлив фосфат или друг естер чрез взаимодействие с фосфорилиращ агент, като POCl_3 , или с подходящ естерифициращ

агент, като киселинен халид или анхидрид. Естер или сол на съединение /А/ могат да се превърнат в периодното съединение, например, чрез хидролиза.

Разделянето на крайния продукт, на междинното или изходното вещество може да се осъществи по някой от познатите методи: виж, например E.L. Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds*, McGraw Hill /1962/ и S.H. Wilen, *Tables of Resolving Agents*.

Така, например, съединението /А/ може да се получи чрез хирална високоефективна течна хроматография, като се използва подходяща неподвижна фаза, например, β -циклодекстрин или целулозен триацетат и подходящ разтворител, например алкохол, като етанол или воден разтвор на, например, триетиламониев ацетат. Алтернативно, съединенията могат да се разделят чрез ензимен енантиселективен катаболизъм с посредник подходящ ензим, като цитидин деаминаза или чрез селективно ензимно разграждане на подходящо производно, 5'-нуклеотидаза. Когато разделянето се осъществява ензимно, ензимът може да се използва както в разтвор, така и в имобилизирана форма, като последната е по-удобна. Ензимите се имобилизират по известните методи, като например, чрез адсорбиране върху смола, като *Supergil C*.

Изобретението се илюстрира със следващите примери, които не го ограничават по никакъв начин. Всички температури са в Целзиеви градуси.

Междинно съединение 1

/±/-цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-
1,3-оксатиолан

/1¹/ 2-бензоилоксиметил-5-ацетокси-1,3-оксатиолан

Бензоилоксиацеталдехид /216.33 г, 1.32 мола/ се разтваря в пиридин /373 мл, 4.61 мола/ и се прибавя 1,4-дитиан-

2,5-диол /100.31 г, 0.66 мола/ към разтвора. Хетерогенната смес се разбърква при температура 60-65°C под азотна атмосфера в продължение на 1 час. В края на реакцията се постига пълно разтваряне. Към реакционната смес се прибавя дихлорметан /650 мл/ и тази смес се охлажда до 0°C с помощта на баня сол/лед. Към разтвора се прибавя на капки ацетилхлорид /281 мл, 3.95 мола/ при температура 0-5°C в продължение на 1.5-2 часа. Реакционната смес се разбърква при 0-5°C 30 минути, след което се излива внимателно в студен /0°C/ разтвор на наситен натриев бикарбонат. Органичният слой се отделя, а водният слой се екстрахира с дихлорметан /3x 200 мл/. Събраните органични слоеве се промиват с наситен разтвор на натриев бикарбонат /3 x 200 мл/ и с луга /200 мл/. Разтворът се суши над натриев сулфат и се концентрира във вакуум. Следите от пиридин се отстраняват чрез ацеотропна дестилация с бензен. Получават се 320.79 г суров продукт, който се пречиства чрез дестилация на Kugelrohr или чрез филтруване през къса силикагелна колона. /Система от разтворители: хексан/етилацетат /3/1//.

/1²/ цис- и транс-2-бензоилоксиметил-5-/N₄'-ацетил-5'-флуор-цитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан

5-флуорцитозин /4.30 г, 33.3 ммола/, хексаметилдисилазан /25 мл/ и амониев сулфат /120 мг/ кипят с обратен хладник докато цитозинът се разтвори /3 часа/ и след това се нагряват с обратен хладник още 2 часа. Хексаметилдисилазанът се изпарява във вакуум и се прибавя толуен /100 мл/ към остатъка, за да подпомогне изпаряването на разтворителите. Полученият разтвор на ди/триметилсилил/-флуорцитозин в дихлорметан /40 мл/ се прибавя под аргон към разтвор на 2-бензоилоксиметил-5-ацетокси-1,3-оксатиолан /8.537 г, 30.3 ммола/ в сух дихлорметан /100 мл/ и предва-

рително получени под аргон и охладени при 0°C в продължение на 20 мин, молекулни сита /4Å, 2 г/. Към тази смес се прибавя I/три-флуорметан-сулфонил/оксиIтриметилсилан /6 мл, 31 ммолa/ при температура 0°C и полученият разтвор се разбърква при стайна температура 2 часа. Филтратът се разклаща два пъти с 300 мл солна луга и веднаж с дестилирана вода. Органичният слой се суши над магнезиев сулфат, филтрува се и се изпарява до сухо. Получава се сурово 5-флуор-цитозиново производно /10.1 г/. $R_f = 0.57$ /етилацетат:метанол 9:1/.

Този остатък се ацетилира в следващия етап без допълнително пречистване. Суровият продукт се разтваря в сух дихлорметан /120 мл/ в 500-милилитрова облодънна колба под аргон. Към разтвора се прибавят триетиламин /12.7 мл, 91.1 ммолa/ и диметиламинопиридин /111 мг, 0.9 ммолa/. Колбата се потапя в ледена баня за 1 час под аргон. Оцетен анхидрид /4.3 мл, 45 ммолa/ дестилиран над натриев ацетат, се впръсква /инжектира/ в охладената колба. Сместа се разбърква една нощ и след това внимателно се декантира в ерленмайерова колба, съдържаща наситен разтвор на натриев бикарбонат. Продуктът се промива последователно с дестилирана вода и с разтвор на солена луга. Метиленхлоридните части се сушат и изпаряват под висок вакуум до сухо, при което се получава ацетилирана α/β смес във вид на безцветна пясък с тегло 9.6 г след сушене. Този продукт се подлага на флаш хроматография с етилацетат:метанол /9:1/, като се получават 3.1 г, 7.8 ммолa /46%/ чисто транс-съединение и 3.5 г, 8.9 ммолa /30%/ чисто цис-съединение.

транс-изомер: $R_f = 0.65$ в етилацетат:метанол /9:1/

УВ: /MeOH/ $\lambda_{\text{макс}}$: 309 nm

^1H -ЯМР δ /ppm в CDCl_3 / 8.77/b, 1H; C_4 '-NH-Ac/, 8.06/m, 2H; ароматен/, 7.70/d, 1H; C_6 -H, $J_{\text{CF}} = 6.3\text{Hz}$ /, 7.62 /m, 1H; ароматен/, 7.49 /m, 2H; ароматен/, 6.51 /dd, 1H; C_5 -H/, 5.91 /dd, 1H; C_2 -H/, 4.48 /dd, 2H; C_2 -CH₂OCOC₆H₅/, 3.66 /dd, 1H; C_4 -H/, 3.34 /dd, 1H; C_4 -H/, 2.56 /s, 3H; NH-COCH₃/.

цис-изомер: $R_f = 0.58$ в етилацетат:метанол 9:1

УВ: /me-OH/ $\lambda_{\text{макс}}$: 309 нм

^1H -ЯМР δ /ppm в CDCl_3 / 8.72 /b, 1H; C_4 '-NH-Ac/, 8.06 /m, 2H; ароматен/, 7.87 /d, 1H; C_6 '-H, $J_{\text{CF}} = 6.2\text{Hz}$ /, 7.60 /m, 1H; ароматен/, 7.49 /m, 2H; ароматен/, 6.32 /dd, 1H; C_5 -H/, 5.47 /dd, 1H; C_2 -H/, 4.73 /dd, 2H; C_2 -CH₂OCOC₆H₅/, 3.62 /dd, 1H; C_4 -H/, 3.19 /dd, 1H; C_4 -H/, 2.55 /s, 3H; NH-COCH₃/.

/1³/ $\pm$ -цис-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-

1,3-оксатиолан

1.2 г /3.05 ммол/ цис-2-бензоилоксиметил-5-/N₄'-ацетил-5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан се разбъркват в 30 мл метанолов амоняк при 0°C в продължение на 1 час и след това една нощ при стайна температура. Сместа се изпарява при понижено налягане. Остатъкът се пулверизира двукратно /2 x 30 мл/ с безводен етер. Твърдият остатък се прекристализира в абсолютен етанол, като се получават 655 мг /2.64 ммол, 87%/ чист цис-продукт: т.т. 204-206°C; $R_f = 0.21$ в етилацетат:метанол /9:1/. Желаното съединение се идентифицира чрез ^1H , ^{13}C -ЯМР и УВ. $\lambda_{\text{макс.}} / \text{H}_2\text{O} /$ 280.9 нм.

цис-изомер: ^1H -ЯМР δ /ppm в $\text{DMSO}-d_6$ / 8.22 /d, 1H; C_6 '-H, $J_{\text{CF}} = 7.26\text{Hz}$ /, 7.84 /d, 2H; C_4 '-NH₂/, 6.16 /t, 1H; C_5 -H/, 5.43 /t, 1H; C_2 -CH₂-OH/, 5.19 /t, 1H; C_2 -H/, 3.77 /m, 2H; C_2 -CH₂OH/, 3.35 /dd, 1H; C_4 -H/

^{13}C -ЯМР / $\text{DMSO}-d_6$ /

C_6'	C_2'	C_4'	C_5'
153.46	158.14	134.63	126.32
$/^2J_{CF} = 14.0 \text{ Hz}/$		$/J_{CF} = 24.1 \text{ Hz}/$	$/J_{CF} = 32.5 \text{ Hz}/$
C_5	C_4	C_2	CH_2OH
86.82	36.80	86.77	62.32

Пример 1

/-/-4-амино-5-флуор-1-/2-хидроксиметил-1,3-оксатиолан-5-ил/-/1Н/-пиримидин-2-он

/1.1/ / $\pm$ / цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан монофосфат

Към смес от междинно съединение 1 /500 мг, 2.024 ммол/ и сух триметилфосфат /10 мл/, охладена до 0°C, се прибавя на капки, при разбъркване, фосфорен оксихлорид /1.22 мл, 13.1 ммол/. Реакционната смес се разбърква при тази температура в продължение на 1 час, след което се охлажда бързо в ледена вода. рН на студената смес се регулира до 3 чрез добавяне на водна 1N натриева основа, след което сместа се подава в колона от въглен /5 г DARCO/, която се елуира последователно с вода, етанол и воден амоняк в съотношение 10:10:1. Фракции, съдържащи суров монофосфат, се събират и изпаряват и последователно се въвеждат в колона, съдържаща 15 г DEAE Sephadex A25 /HCO₃-форма/. Елуирането се провежда с градиент вода /300 мл/, 0.1M-NH₄HCO₃ /300 мл/ и 0.2M NH₄HCO₃ /100 мл/. Изпаряване на съответни фракции след разреждане с вода /30 мл/ дава / $\pm$ / цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан монофосфат във вид на бяло твърдо вещество $R_f = 0.5$ /н.-пропанол:амониев хидроксид 6:4/. Добив 612 мг, 1.77 ммол, 87.9%. ¹H ЯМР δ /ppm в D₂O/ 8.27 /d, 1H, C'₆-H, $J_{H-F} = 6.47 \text{ Hz}/$, 6.33 /dd, 1H, C₅-H/, 5.47

/t, 1H, C₂-H/, 4.84 /m, C₂-CH₂OH/, 3.63 /dd, 1H, C₄H/, 3.30 /dd, 1H, C₄H/. Високоэффективна течна хроматография /BETX/> 99%.

/1.2/ +/--цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан

Към разтвор на /+/- цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан монофосфат /100 мг, 0.29 ммол/ в 3 мл разтвор на глицинов буфер Гглицин /52.6 мг/ и магнезиев хлорид /19 мг/ във вода /10 мл/ I, се прибавя навед- нъж 5'-нуклеотидаза **Sigma**, 3.5 мг при 29 ед./мг I. Получената смес се инкубира при 37°C с разклащане. Реакцията се следи с високоэффективна течна хроматография /хирална колона α -кисели- нен гликопротеин /AGP/, с използване на 0.2M натриев фосфат като елуант при pH 7 и скорост на подвижната фаза 0.15 мл/мин/ през различни интервали. Открива се само +/--енантиомерът след 2.5 часа. Добавя се още ензим /2 мг/ и инкубирането продължава още 3 часа. Високоэффективната течна хроматография ясно показва селективна и пълна хидролиза на +/--енантиомера. Получената смес се подава в колона от DEAE **sephadex A-25** /HCO₃-форма/. Елуирането се провежда с вода /155 мл/, след това с 0.1M и с 0.2M NH₄HCO₃ /по 100 мл от всяка концентрация/. Съответните фракции, съдържащи първият хроматографиран нуклеозид се съби- рат и концентрират. Останалото твърдо вещество се пречиства върху къса колона от силициев диоксид, като се използва етил- ацетат, метанол /4.5:0.5/ като елуант и след това се разделя чрез високоэффективна течна хроматография, като се прилагат го- респоменатите условия. Това води до получаване на чист +/-- цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорц_итозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан /23 мг, 0.093 ммол, 32%/ във вид на бяло твърдо вещество.

$^{16}\text{O}/^{21}\text{F} + 123^\circ\text{C}$ Ic, 1.00, MeOH т.т. 185°C . ЯМР δ /ppm в DMSO/
8.26 /d, 1H, C'₆-H, $J_{\text{H-F}} = 5.22\text{Hz}$ /, 7.87 /s, 1H, NH₂, D₂O *обратно-обменен*, 6.20 /dd, 1H, C₅-H /, 5.48 /t, 1H, C₂-H /, 5.24 /t, 1H, CH₂-OH, D₂O *обратно-обменен* /, 3.84 /m, 2H, C₂-CH₂OH /, 3.50 /dd, 1H, C₄-H /, 3.37 /dd, 1H, C₄-H /.

/1.3/ /-/-цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан

Съответните фракции от сефадексовата колона, съдържащи вторият елуиран нуклеозид, описан в етап /1.2/ се събират и се изпаряват при понижено налягане. Остатъкът се разтваря в 2 мл вода и се обработва с алкална фосфатаза /Sigma, 1 мл при 60 ед./мл/, след което се инкубира при 37°C в продължение на 1.5 ч. Разтворителят се изпарява и остатъкът се пречиства чрез колонна хроматография върху силикагел, като се използва EtOAc: MeOH /4:1/ като елуент, след което се прилага високоефективна течна хроматография /разделяне, при което се използват същите условия, споменати по-горе/. Получава се чист /-/-цис-2-хидроксиметил-5-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксатиолан /20 мг, 0.081 ммола, 28%/; т.т. 190°C /разлагане/, $R_f = 0.21$, етилацетат:метанол /4:1/.

УВ: /H₂O/ $\lambda_{\text{макс.}}$ 279.1 нм. ^1H ЯМР δ /ppm в DMSO-d₆ /, 8.25 /d, 1H, C'₆-H, $J_{\text{HF}} = 7.26\text{ Hz}$ /, 7.88 /b, 1H, C'₄-NH₂, D₂O *обратно-обменен* /, 7.85 /b, 1H, C'₄-NH₂:D₂O *обратно-обменен* /, 5.24 /t, 1H, C₂-H /, 3.83 /m, 2H, C₂-CH₂-OH /, 3.19 /dd, 1H, C₄-H /, 3.15 /dd, 1H, C₄-H /.

Междинно съединение 2 и пример 2 представят алтернативен метод за получаване на съединението с формула /A/.

Междинно съединение 2

/1'R, 2'S, 5'R/-ментил-5R-/5"-флуорцитозин-1"-ил/-1,3-оксатиолан-2S-карбоксилат

Към суспензия от 5-флуорцитозин /155 мг, 1.2 ммол/ в CH_2Cl_2 /1 мл/ се прибавят последователно 2,4,6-колидин /0.317 мл, 2.4 ммол/ и трет.-бутилдиметилсилил трифлуорметан-сулфонат /0.551 мл, 2.4 ммол/. Получената смес се разбърква 15 мин, като се получава бистър разтвор. Добавят се последователно разтвор на /1'R, 2'S, 5'R/-ментил-5R-ацетокси-1,3-оксатиолан-2S-карбоксилат /330 мг, 1 ммол/ в метиленхлорид /0.5 мл/ и йодтриметилсилан /0.156 мл, 1.1 ммол/. Разбъркването продължава 3 часа. Сместа се разрежда с метиленхлорид /20 мл/ и се промива последователно с наситен воден разтвор на натриев бисулфит, вода и солна луга, след което се концентрира. Остатъкът се разтваря в етер-хексани /1:1, 10 мл/ и наситен воден разтвор на натриев бикарбонат /2 мл/, след което се разбърква при стайна температура 15 минути. Водният слой се отделя, а органичната фаза се центрофугира, като се получава бяло твърдо вещество, което се промива с хексани /3 x 5 мл/ и се суши под вакуум. Така полученият продукт, /1'R, 2'S, 5'R/-ментил-5R-/5"-флуорцитозин-1"-ил/-1,3-оксатиолан-2S-карбоксилат /350 мг, 88%, съдържа около 6% /1'R, 2'S, 5'R/-ментил-5 -/5"-флуорцитозин-1"-ил/-1,3-оксатиолан-2S-карбоксилат /ЯМР/. Този продукт се прекристализира от метанол/ метиленхлорид/бензен, като се получава кристално вещество:

$\text{M}_D^{26} + 22^\circ$ /с, 0.19, MeOH/; т.т. 216-218 $^\circ\text{C}$, ^1H ЯМР / CDCl_3 /
 δ 0.78 /d, 3H, J = 7Hz/, 0.91 /t, 6H, J=7.3 Hz/, 1.00 /m, 2H/,
 1.39-2.04 /m, 7H/, 3.12 /dd, 1H, J=6.6 Hz, 6.1 Hz/, 3.52 /dd,
 1H, J=4.7 Hz, 6.1 Hz/, 4.79 /dt, 1H, J=4.4 Hz, 4.3 Hz/, 5.46
 /s, 1H/, 5.75 /bs, 1H, обратимо-обменен/, 6.42 /5t, 1H, J=5.0 Hz/,

8.10 /*bs*, 1H, обратимо-обменен/, 8.48 /*d*, 1H, *J*=6.6 Hz/;
¹³C ЯМР /CDCl₃-DMSO-*d*₆/: δ 16.7, 21.2, 22.4, 23.7, 26.6, 31.8,
 34.4, 36.6, 40.5, 47.2, 77.1, 79.1, 90.8, 126.3 /*d*, *J*=33 Hz/,
 137.1 /*d*, *J*=244 Hz/, 154.2, 158.3 /*d*, *J*=15 Hz/, 170.1.

Пример 2

2*S*-хидроксиметил-5*R*-/5'-флуорцитозин-1'-ил/-1,3-оксати-
 олан

Към суспензия от литиево-алуминиев хидрид /10 мг, 0.54
 ммол/ в тетраhydroфуран /1 мл/ се прибавя бавно разтвор на
 /1'*R*, 2'*S*, 5'*R*/-ментил-5*R*-/5"-флуорцитозин-1"-ил/-1,3-оксатиолан-
 2*S*-карбоксилат /54 мг, 0.135 ммол/ в тетраhydroфуран /2 мл/ при
 стайна температура и под атмосфера от аргон. Реакционната смес
 се разбърква 30 мин, след което се охлажда бързо с излишък от
 метанол /2 мл/, добавя се силикагел /3 г/. Получената тинеста
 суспензия се подлага на хроматография със силикагелна колона
 /етилацетат:хексан:метанол, 1:1:1/, при което се получава леп-
 каво твърдо вещество, което се суши ацеотропно с толуен и дава
 20.7 г /63%/ бяло твърдо вещество като краен продукт:

¹H ЯМР + 114° /с, 0.12, MeOH/; ¹H ЯМР /DMSO-*d*₆/ δ 3.14 /*dd*,
 1H, *J*=4.3, 11.9 Hz/, 3.42 /*dd*, 1H, *J*=5.3, 11.9 Hz/, 3.76 /*m*,
 2H/, 5.18 /*m*, 1H/, 5.42 /*t*, 1H, *J*=4.8 Hz/, 6.14 /*m*, 1H/, 7.59
 /*br m*, 1H, обратимо- обменен/, 7.83 /*br m*, 1H, обратимо-обме-
 нен/, 8.20 /*d*, 1H, *J*=7.66 Hz/.

Пример 3

БИОЛОГИЧНА АКТИВНОСТ

1/ Антивирусна активност

Антивирусната активност на съединението, получено в
 пример 1, е определена по отношение на HIV-1 в следните клетъчни
 линии:

C8166 клетки, човешка Т-лимфобластна клетъчна линия, заразена с HIV-1, щам RF.

MT-4 клетки, човешка Т-лимфоцитна левкозна клетъчна линия, заразена с HIV-1, щам RF.

Антивирусната активност в C8166 клетки се определя чрез инхибиране на синцитиевото образуване /Toschikura и др., *Virology*, 164, 542-546/ и по отношение на MT-4 клетки - чрез инхибиране на формазаново превръщане /Baba и др., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 142, стр. 128-134 /1987/; Mossman, J. *Immun. Meth.*, 65, стр.55-57 /1983//. Антивирусните активности се определят, също, чрез анализиране на количеството HIV p24 антиген, синтезиран в присъствие и в отсъствие на енантиомери.

Резултатите са показани в таблици 1 и 2 по-долу:

ТАБЛИЦА 1

50% антивирусна активност /мкг/мл/

<u>Анализ</u>	<u>Формазан</u>	<u>Инхибиране на синцитиево образуване</u>
клетки	MT-4	C8166
вирус /HIV-1/	HIV-1 RF	HIV-1 RF
/+/-енантиомер	> 1	0.04
/-/-енантиомер	0.14	0.0018
междинно съединение 1	0.065	0.013
AZT		0.0038

ТАБЛИЦА 2

50% инхибиране синтеза на HIV p24 /мкг/мл/

клетки	C8166
вирус	RF
/+/-енантиомер	0.1
/-/-енантиомер	0.0022

междинно съединение 1	0.011
AZI	0.017

2/ Цитотоксичност

Цитотоксичностите на съединенията, получени в пример 1 и на рацемичното съединение /междинно съединение 1/ се определят в две CD4 клетъчни линии: H9 и CEM.

Опитните съединения се разреждат серийно от концентрация 100 мкг/мл до концентрация 0.3 мкг/мл /крайни концентрации/ в 96 гнеzdови пластини на микротитратор. 3.6×10^4 клетки се инокулират във всяко гнездо на пластините, включително и празни проби /контроли без лекарство/. След инкубиране при 37°C в продължение на 5 дни се определя количеството на жизнеспособните клетки чрез отделяне на проба от клетъчна суспензия и отчитане на клетките в хемоцитометър.

Резултатите са дадени в таблица 3.

ТАБЛИЦА 3

50% цитотоксичност /мкг/мл/

<u>съединение</u>	<u>CEM клетки</u>	<u>H9 клетки</u>
/+/-енантиомер	217	334
/-/-енантиомер	148	296
междинно съединение 1	173	232

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. $\text{-/-4-амино-5-флуор-1-/2-хидроксиметил-1,3-окса-тиолан-5-ил/-/1H/-пиримидин-2-он}$ или негова фармацевтично приемливо производно.
2. Съединение, съгласно претенция 1, по същество свободно от съответния +/-- -енантиомер.
3. Съединение, съгласно претенция 1, в което +/-- -енантиомерът присъства в количество до 5% т./т.
4. Съединение, съгласно претенция 1, в което +/-- -енантиомерът присъства в количество до 2% т./т.
5. Съединение, съгласно претенция 1, в което +/-- -енантиомерът присъства в количество под 1% т./т.
6. Съединение, съгласно претенция 1, в по същество чиста форма.
7. Фармацевтично средство, съдържащо съединение съгласно която и да е претенция от 1 до 6, заедно с фармацевтично приемлив носител.
8. Използване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 6, в терапия.
9. Използване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 6, за получаване на лекарство за лечение на вирусна инфекция.
10. Използване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 6, за получаване на лекарство за лечение на инфекция, причинена от ХИВ /HIV/.
11. Използване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 6, за получаване на лекарство за лечение на хепатит В.

12. Метод за лечение на бозайници, включително хора, страдащи от или податливи на вирусни инфекции, състоящ се в прилагане на ефективно количество от съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 6.

13. Метод за получаване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 6, който се състои в отделяне на /-/-енантиомера от смес, съдържаща и /+/-енантиомер.

14. Метод, съгласно претенция 11, в който сместа от съединения е рацемична смес.

15. Метод, съгласно претенция 11 или 12, при който разделянето се осъществява чрез хирална високоефективна течна хроматография.

16. Метод, съгласно претенция 13, при който високоефективната течна хроматография използва като неподвижна фаза ацетилиран β -циклодекстрин или целулозен триацетат.

17. Метод, съгласно претенция 11 или 12, при който разделянето се осъществява чрез енантиселективен катаболизъм с ензимен посредник.

18. Метод, съгласно претенция 15, при който ензимът се използва в имобилизирана форма.

19. Метод, съгласно претенция 15 или 16, при който ензимът е цитидин деаминаза.

20. Метод, съгласно претенция 15 или 16, при който ензимът е 5'-нуклеотидаза.

ПРОМЕНЕНИ ПРЕТЕНЦИИ ВЪЗ ОСНОВА НА ДОКЛАДА ОТ
МЕЖДУНАРОДНАТА ПРЕДВАРИТЕЛНА ЕКСПЕРТИЗА

/писмо от 15.10.1993 г/

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. /-/-4-амино-5-флуор-1-/2-хидроксиметил-1,3-оксатиолан-5-ил/-/1Н/-пиримидин-2-он или негово фармацевтично приемливо производно.

2. Съединение, съгласно претенция 1, в което +/- енантиомерът се съдържа в количество до около 5% т./т..

3. Съединение, съгласно претенция 1, в което +/- енантиомерът се съдържа в количество до около 2% т./т..

4. Съединение, съгласно претенция 1, в което +/- енантиомерът се съдържа в количество под 1% т./т..

5. Фармацевтично средство за използване като анти-вирусен агент, съдържащо съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 4, заедно с фармацевтично приемлив носител.

6. Съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 4, за използване в терапия.

7. Използване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 4, за производство /получаване/ на лекарство за лечение на вирусна инфекция.

8. Използване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 4, за получаване на лекарство за лечение на инфекция, причинена от HIV.

9. Използване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 4, за получаване на лекарство за лечение на хепатит В.

10. Метод за лечение на бозайници, включително хора, страдащи от или податливи на вирусна инфекция, състоящ се в

прилагане на ефективно количество от съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 4.

11. Метод за получаване на съединение, съгласно която и да е претенция от 1 до 4, включващ отделяне на /-/ енантиомера от смес, съдържаща и /+/-енантиомер.

12. Метод, съгласно претенция 11, в който сместа от съединения е рацемична смес.

13. Метод, съгласно претенция 11 или 12, в който разделянето се осъществява чрез хирална високоефективна течна хроматография.

14. Метод, съгласно претенция 13, в който за провеждане на високоефективната течна хроматография като неподвижна фаза се използва ацетилян β -циклодекстрин или целулозен триацетат.

15. Метод, съгласно претенция 11 или 12, в който разделянето се осъществява чрез енантиселективен катаболизъм с посредник ензим.

16. Метод, съгласно претенция 15, в който ензимът се използва в имобилизирана форма.

17. Метод, съгласно претенция 15 или 16, в който ензимът е цитидин деаминаза.

18. Метод, съгласно претенция 15 или 16, в който ензимът е 5'-нуклеотидаза.