

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-503358

(P2005-503358A)

(43) 公表日 平成17年2月3日(2005. 2. 3)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/7064	A 6 1 K 31/7064	4 C O 5 7
A 6 1 K 31/7068	A 6 1 K 31/7068	4 C O 8 4
A 6 1 K 31/7076	A 6 1 K 31/7076	4 C O 8 6
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 31/14	A 6 1 P 31/14	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 400 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-506646 (P2003-506646)	(71) 出願人	503143471
(86) (22) 出願日	平成14年6月24日 (2002. 6. 24)		ファーマセツト・リミテツド
(85) 翻訳文提出日	平成15年12月22日 (2003. 12. 22)		バルバドス国、セント・マイケル、ピー・
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/020245		オー・ボックス・111、ピシヨツプス・
(87) 国際公開番号	W02003/000200		コート・ヒル、ザ・ファイナシヤル・サー
(87) 国際公開日	平成15年1月3日 (2003. 1. 3)		ビスイズ・センター、コーポレート・サー
(31) 優先権主張番号	60/300, 356		ビスイズ・リミテツド
(32) 優先日	平成13年6月22日 (2001. 6. 22)	(71) 出願人	503469555
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ユニバーシテイ・オブ・ジョージア・リサ
(31) 優先権主張番号	60/305, 386		ーチ・ファウンデーション・インコーポレ
(32) 優先日	平成13年7月13日 (2001. 7. 13)		イテツド
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国、ジョージア・30602
			-7411、アセンズ、ボイド・グラデュエ
			エート・リサーチ・ファウンデーション・
			インコーポレイテツド
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 β -2' -または3' -ハロヌクレオシド

(57) 【要約】

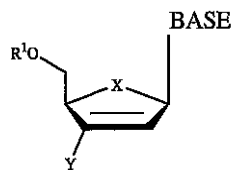
本発明は、 β -ハロヌクレオシドの化合物および組成物、ならびに前記化合物または組成物の投与を含むH I V、H B Vまたは異常細胞増殖の治療法を包含する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

有効治療量の下記一般式 (I) :

【化 1】



(I)

10

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Y は、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

BASE は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

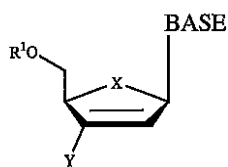
20

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における HIV 感染の治療および／または予防法。

【請求項 2】

有効治療量の下記一般式 (I) :

【化 2】



(I)

30

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Y は、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

40

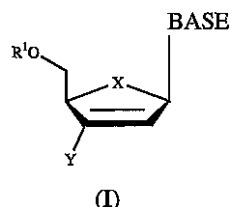
BASE は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における HBV 感染の治療および／または予防法。

【請求項 3】

有効治療量の下記一般式 (I) :

【化 3】



(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブromoまたはヨードであり；および

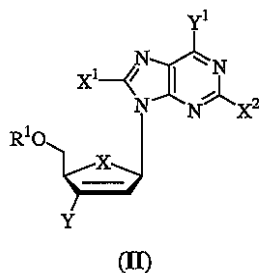
BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防法。

【請求項 4】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (II)：

【化 4】



(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より独自に選択され；ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (III)：

10

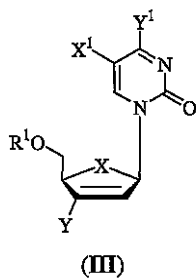
20

30

40

50

【化 5】



10

(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、

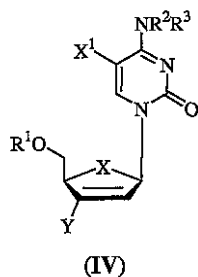
20

アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である) の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (IV)：

【化 6】



30

(式中、

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、

40

アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である) の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

X が、O である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

X が、S である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

50

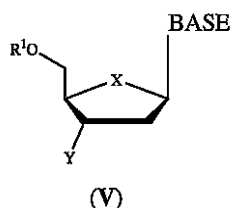
【請求項 9】

Y が、F である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

有効治療量の下記一般式 (V) :

【化 7】



10

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Y は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASE は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

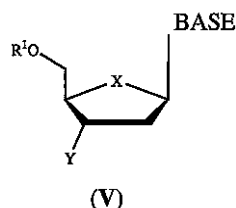
20

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における HIV 感染の治療および／または予防法。

【請求項 11】

有効治療量の下記一般式 (V) :

【化 8】



30

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Y は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASE は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

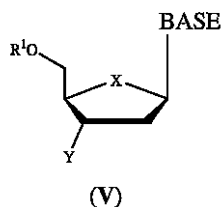
40

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における HBV 感染の治療および／または予防法。

【請求項 12】

有効治療量の下記一般式 (V) :

【化 9】



(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

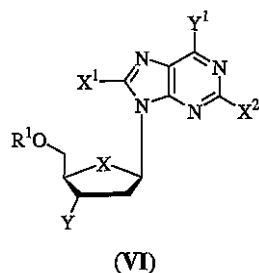
BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防法。

【請求項 13】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VI)：

【化 10】



(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より独自に選択され；ならびに

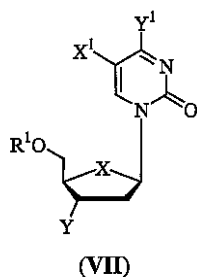
R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 10 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 14】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VII)：

【化 1 1】



10

(式中、
 Y^1 は、OH、OR²、NH₂、NHR²、NR²R³、SH、SR² またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X¹ は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SH または SR⁴ から成る群より選択され；ならびに
 R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

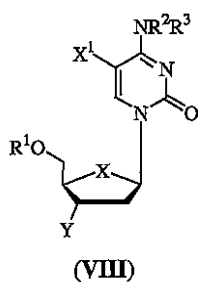
20

の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 10 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

前記 β-D または β-L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VIII)：

【化 1 2】



30

(式中、
 X¹ は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SH または SR⁴ から成る群より選択され；

R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

40

の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 10 から 12 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

X が、O である、請求項 10 から 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

X が、S である、請求項 10 から 15 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

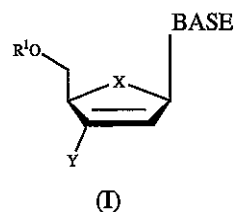
50

Yが、Fである、請求項10から15のいずれか一項に記載の方法。

【請求項19】

有効治療量の下記一般式（I）：

【化13】



10

（式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

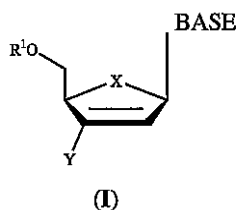
20

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、一つ以上の他の有効な抗HIV薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主におけるHIV感染の治療および／または予防法。

【請求項20】

有効治療量の下記一般式（I）：

【化14】



30

（式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

40

Yは、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

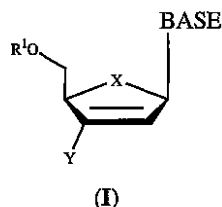
BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、一つ以上の他の有効な抗HBV薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主におけるHBV感染の治療および／または予防法。

【請求項21】

有効治療量の下記一般式（I）：

【化 1 5】



(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブromoまたはヨードであり；および

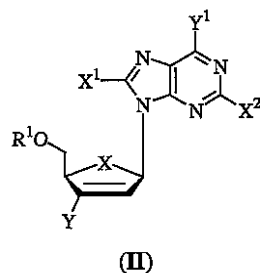
BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、一つ以上の他の有効な抗増殖薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における以上細胞増殖の治療および／または予防法。

【請求項 2 2】

前記 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (I I)：

【化 1 6】



(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、BrもしくはI) であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、BrもしくはI)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SHまたは SR^4 から成る群より独自に選択され；ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 1 9 から 2 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 2 3】

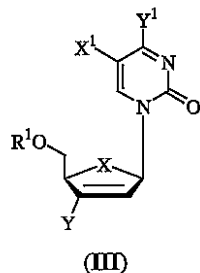
前記 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (I I I)：

30

40

50

【化 17】



10

(式中、
 Y^1 は、OH、OR²、NH₂、NHR²、NR²R³、SH、SR² またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X¹ は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SH または SR⁴ から成る群より選択され；ならびに
 R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、CO-アリールオキシアリール、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

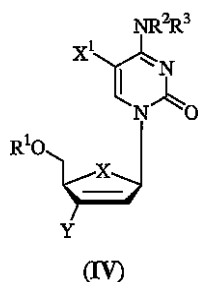
20

の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 19 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記 β-D または β-L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (IV)：

【化 18】



30

(式中、
 X¹ は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SH または SR⁴ から成る群より選択され；ならびに
 R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、CO-アリールオキシアリール、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

40

の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 19 から 21 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

X が、O である、請求項 19 から 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 26】

X が、S である、請求項 19 から 24 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

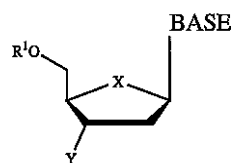
50

Yが、Fである、請求項19から24のいずれか一項に記載の方法。

【請求項28】

有効治療量の下記一般式(V)：

【化19】



(V)

10

(式中、

R¹は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、SO₂またはCH₂であり；

Yは、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

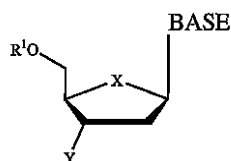
20

のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、一つ以上の他の有効は抗HIV薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主におけるHIV感染の治療および／または予防法。

【請求項29】

有効治療量の下記一般式(V)：

【化20】



(V)

30

(式中、

R¹は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、SO₂またはCH₂であり；

Yは、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

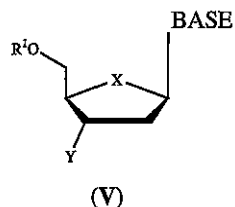
40

のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、一つ以上の他の有効は抗HBV薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主におけるHBV感染の治療および／または予防法。

【請求項30】

有効治療量の下記一般式(V)：

【化 2 1】



(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Y は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASE は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

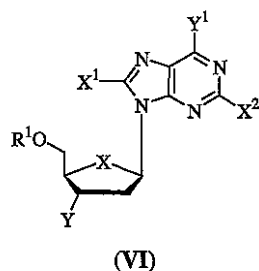
の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを、一つ以上の他の有効は抗増殖薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で投与することを含む、宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防法。

20

【請求項 3 1】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VI)：

【化 2 2】



30

(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より独自に選択され；

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル（特にシクロプロピル）、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である）

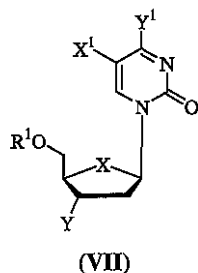
の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 28 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 3 2】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VII)：

【化 2 3】



10

(式中、
 Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

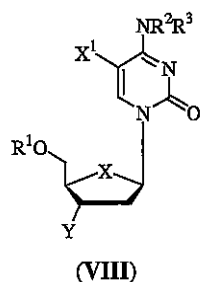
20

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 28 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VIII)：

【化 2 4】



30

(式中、
 X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

40

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 28 から 30 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 4】

X が、O である、請求項 28 から 33 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 5】

X が、S である、請求項 28 から 33 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

50

Yが、Fである、請求項28から33のいずれか一項に記載の方法。

【請求項37】

前記一つ以上の他の有効な抗HIV薬が、2-ヒドロキシメチル-5-(5-フルオロシトシン-1-イル)-1,3-オキサチオラン(FTC);カルボビル、アシクロビル、インターフェロン、ファムシクロビル、ペンシクロビル、AZT、DDI、DDC、D4T、アバカビル、L-(-)-FMAU、L-DDAリン酸プロドラッグ、およびβ-D-ジオキソラニル-グアニン(DXG)、β-D-ジオキソラニル-2,6-ジアミノプリン(DAPD)、およびβ-D-ジオキソラニル-6-クロロプリン(ACP)、ネビラピン、MKC-442、DMP-266(サスティバ)、インジナビル、サキナビル、およびDMP-450から成る群より選択される、請求項28に記載の方法。

10

【請求項38】

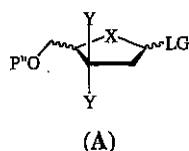
前記一つ以上の他の有効な抗HBV薬が、2-ヒドロキシメチル-5-(5-フルオロシトシン-1-イル)-1,3-オキサチオラン(FTC);カルボビル、アシクロビル、インターフェロン、ファムシクロビル、ペンシクロビル、AZT、DDI、DDC、D4T、アバカビル、L-(-)-FMAU、L-DDAリン酸プロドラッグ、およびβ-D-ジオキソラニル-グアニン(DXG)、β-D-ジオキソラニル-2,6-ジアミノプリン(DAPD)、およびβ-D-ジオキソラニル-6-クロロプリン(ACP)、ネビラピン、MKC-442、DMP-266(サスティバ)、インジナビル、サキナビル、およびDMP-450から成る群より選択される、請求項29に記載の方法。

20

【請求項39】

(a) 下記式(A):

【化25】



(この式中、

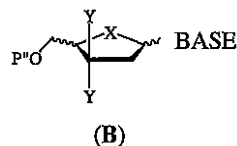
P'は、独自に、水素または適する酸素保護基(アルキル、アシルもしくはシリル)であり;およびLGは、適する脱離基である)

30

の場合によっては保護されている化合物を得る段階;

(b) 上記式(A)の化合物とプリンまたはピリミジン塩基を結合させて、下記式(B):

【化26】



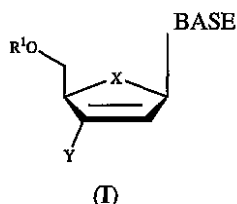
の化合物を得る段階;

40

(c) 上記式(B)の化合物を脱離させ、必要な場合には脱保護して、下記式(I)の化合物を得る段階

を含む、下記式(I):

【化 2 7】



(この式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、C Oーアルキル、C Oーアリール、C Oーアルコキシアルキル、C Oーアリールオキシアルキル、C Oー置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、S O₂ またはC H₂ であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブromoまたはヨードであり；および

B A S Eは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

のβ-Dまたはβ-L-3'-ハロヌクレオシドの調製法。

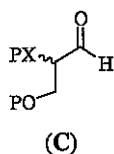
【請求項 4 0】

L Gが、O A cである、請求項 3 9に記載の方法。

【請求項 4 1】

(a) 下記式 (C)：

【化 2 8】

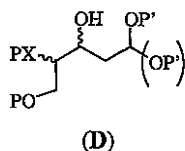


(この式中、各 P は、独自に、H または適する保護基（アルキル、アシルもしくはシリル）である）

の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式 (C) の化合物と場合によっては保護されているアセトアルデヒドとを結合させて、下記式 (D)：

【化 2 9】

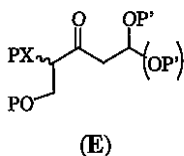


(この式中、各 P' は、独自に、適する酸素保護基（アルキル、アシルもしくはシリル）である）

を得る段階；

(c) 上記式 (D) の化合物を酸化して、下記式 (E)：

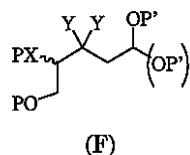
【化 3 0】



の化合物を得る段階；

(d) 上記式 (E) の化合物をハロゲン化して、下記式 (F)：

【化 3 1】



(この式中、各 Y は、独自に、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードである)

の化合物を得る段階；

10

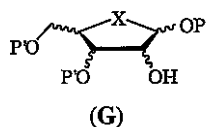
(e) 上記式 (F) の化合物を、必要な場合には選択的に脱保護し、環化し、必要な場合には活性化して、式 (A) の化合物を得る段階

を含む、式 (A) の化合物を調製するための工程をさらに含む、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 4 2】

(a) 下記式 (G)：

【化 3 2】



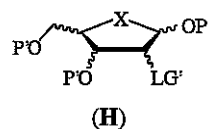
20

(この式中、各 P および P' は、独自に、適する酸素保護基 (アルキル、アシルまたはシリル) である)

の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式 (G) の化合物を活性化して、下記式 (H)：

【化 3 3】



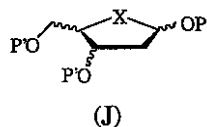
30

(この式中、L G' は、適する脱離基である)

の化合物を得る段階；

(c) 上記式 (H) の化合物を還元して、下記式 (J)：

【化 3 4】

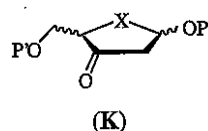


40

の化合物を得る段階；

(d) 上記式 (J) の化合物を、必要な場合には選択的に脱保護し、酸化して、下記式 (K)：

【化 3 5】

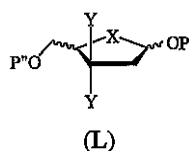


の化合物を得る段階；

50

(f) 上記式 (K) の化合物をハロゲン化して、下記式 (L) :

【化 3 6】



の化合物を得る段階 ;

(g) 上記式 (L) の化合物を、必要な場合には選択的に脱保護し、活性化して、式 (A)

10

を含む式 (A) の化合物を調製する工程をさらに含む、請求項 39 に記載の方法。

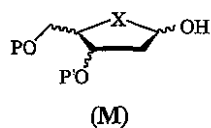
【請求項 43】

式 (I) の化合物を還元して、式 (V) の化合物を得る段階をさらに含む、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 44】

(a) 下記式 (M) :

【化 3 7】



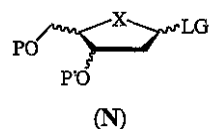
20

(この式中、各 P および P' は、独自に、適する酸素保護基 (アルキル、アシルまたはシリル) である)

の場合によっては保護されている化合物を得る段階 ;

(b) 上記式 (M) の化合物を活性化して、下記式 (N) :

【化 3 8】



30

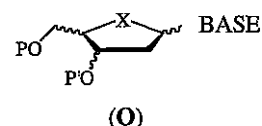
(この式中、L G は、適する脱離基である)

の化合物を得る段階 ;

(c) 上記式 (N) の化合物とプリンまたはピリジン塩基とを結合させて、下記式 (O)

:

【化 3 9】



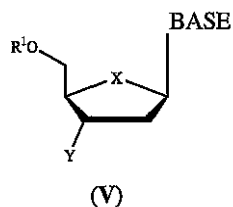
40

の化合物を得る段階 ;

(d) 必要な場合には選択的に脱保護し、ハロゲン基で置換して、下記式 (V) の化合物

を含む下記式 (V) :

【化 4 0】



(この式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、C Oーアルキル、C Oーアリール、C Oーアルコキシアルキル、C Oーアリールオキシアルキル、C Oー置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、SまたはS O₂ であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

B A S Eは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

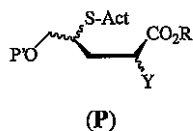
のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドの調製法。

【請求項 4 5】

(a) 下記式 (P)：

20

【化 4 1】



(この式中、

P' は、適する酸素保護基（アルキル、アシルまたはシリル）であり；

S-A c tは、活性硫黄部分であり；および

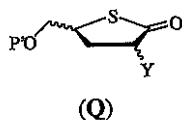
O Rは、適する酸素脱離基である）

30

の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式 (P) の化合物を環化して、下記式 (Q)：

【化 4 2】

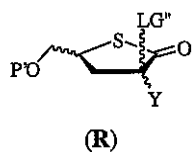


の化合物を得る段階；

(c) 上記式 (Q) の化合物を求電子試薬と反応させて、下記式 (R)：

40

【化 4 3】

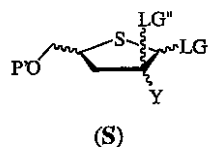


(この式中、L G' 'は、適する脱離基（フェニルセレンまたは硫化フェニル）である）

の化合物を得る段階；

(d) 上記式 (R) の化合物を活性化して、下記式 (S)：

【化 4 4】



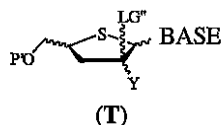
(この式中、L G は、適する脱離基である)

の化合物を得る段階；

(e) 上記式 (S) の化合物とプリンまたはピリミジン塩基とを結合させて、下記式 (T)：

10

【化 4 5】



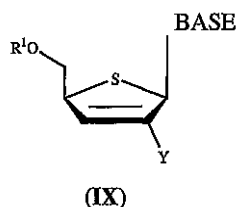
の化合物を得る段階；

(f) 上記式 (T) の化合物を脱離させ、必要な場合には、場合によっては脱保護して、下記式 (IX) の化合物を得る段階

を含む、下記式 (IX)：

【化 4 6】

20



(この式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、C O-アルキル、C O-アリール、C O-アルコキシアルキル、C O-アリールオキシアルキル、C O-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

30

Y は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

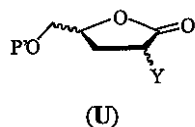
B A S E は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

の β -D もしくは β -L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法。

【請求項 4 6】

(a) 下記式 (U)：

【化 4 7】



40

(この式中、各 P' は、独自に、H または適する保護基 (アルキル、アシルもしくはシリル) である)

の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式 (U) の化合物を活性硫黄と反応させて、式 (P) の化合物を得る段階を含む、式 (P) の化合物を調製する工程をさらに含む、請求項 4 5 に記載の方法。

【請求項 4 7】

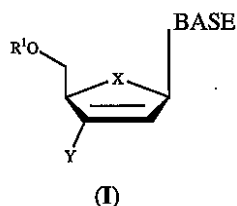
50

D—またはL—グルタミン酸から式（P）の化合物を調製するための工程をさらに含む、請求項45に記載の方法。

【請求項48】

有効治療量の下記一般式（I）：

【化48】



10

（式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、C O—アルキル、C O—アリール、C O—アルコキシアルキル、C O—アリールオキシアルキル、C O—置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

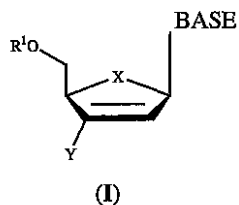
B A S Eは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主におけるH I V感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項49】

有効治療量の下記一般式（I）：

【化49】



30

（式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、C O—アルキル、C O—アリール、C O—アルコキシアルキル、C O—アリールオキシアルキル、C O—置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

B A S Eは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

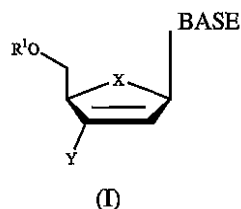
の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主におけるH B V感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項50】

有効治療量の下記一般式（I）：

40

【化 5 0】



(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、SO₂ またはCH₂ であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

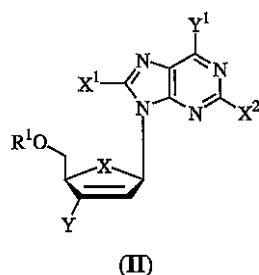
のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防のための医薬組成物。

20

【請求項 5 1】

前記β-Dまたはβ-L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (I I)：

【化 5 1】



30

(式中、

Y^1 は、OH、OR²、NH₂、NHR²、NR²R³、SH、SR² またはハロゲン (F、Cl、BrもしくはI) であり；

X¹ および X² は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、BrもしくはI)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SHまたはSR⁴ から成る群より独自に選択され；

R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

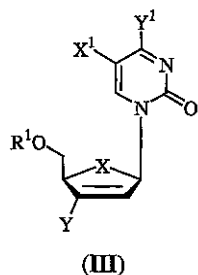
のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 4 8 から 5 0 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

40

【請求項 5 2】

前記β-Dまたはβ-L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (I I I)：

【化 5 2】



10

(式中、
 Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

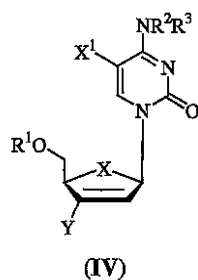
20

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 48 から 50 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5 3】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (IV)：

【化 5 3】



30

(式中、
 X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

40

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 48 から 50 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5 4】

X が、O である、請求項 48 から 54 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5 5】

X が、S である、請求項 48 から 54 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 5 6】

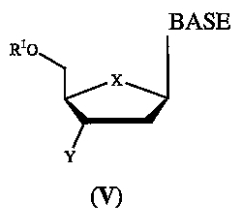
50

Yが、Fである、請求項48から54のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項57】

有効治療量の下記一般式（V）：

【化54】



10

（式中、

R¹は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、SO₂またはCH₂であり；

Yは、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

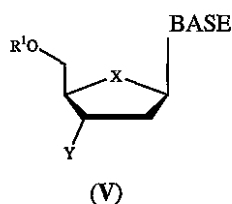
20

のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主におけるHIV感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項58】

有効治療量の下記一般式（V）：

【化55】



30

（式中、

R¹は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、SO₂またはCH₂であり；

Yは、フルオロ、クロロ、プロモまたはヨードであり；および

40

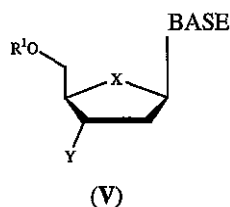
BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主におけるHBV感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項59】

有効治療量の下記一般式（V）：

【化 5 6】



(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、SO₂ またはCH₂ であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

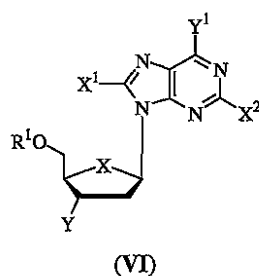
のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防のための医薬組成物。

20

【請求項 6 0】

前記β-Dまたはβ-L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式(VI)：

【化 5 7】



30

(式中、

Y^1 は、OH、OR²、NH₂、NHR²、NR²R³、SH、SR² またはハロゲン(F、Cl、BrもしくはI)であり；

X¹ および X² は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン(F、Cl、BrもしくはI)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SHまたはSR⁴ から成る群より独自に選択され；

R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル(特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

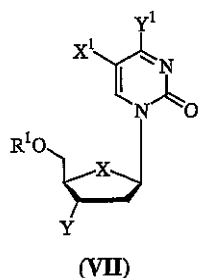
のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 5 7 から 5 9 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

40

【請求項 6 1】

前記β-Dまたはβ-L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式(VII)：

【化 5 8】



10

(式中、
 Y^1 は、OH、OR²、NH₂、NHR²、NR²R³、SH、SR² またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SH または SR⁴ から成る群より選択され；

R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

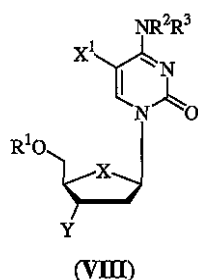
20

の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 57 から 59 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 62】

前記 β-D または β-L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VIII)：

【化 5 9】



30

(式中、
 X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、OR⁴、NH₂、NHR²、NR⁴R⁵、SH または SR⁴ から成る群より選択され；

R²、R³、R⁴ および R⁵ は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

40

の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 57 から 59 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 63】

X が、O である、請求項 57 から 62 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 64】

X が、S である、請求項 57 から 62 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

50

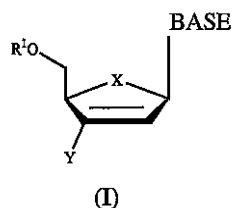
【請求項 65】

Y が、F である、請求項 57 から 62 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 66】

有効治療量の下記一般式 (I) :

【化 60】



10

(式中、

R¹ は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、C Oーアルキル、C Oーアリール、C Oーアルコキシアルキル、C Oーアリールオキシアルキル、C Oー置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、S O₂ または C H₂ であり；

Y は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

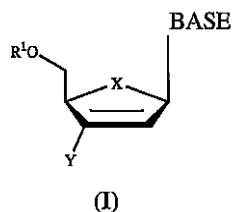
B A S E は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを一つ以上の他の有効な抗 H I V 薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主における H I V 感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項 67】

有効治療量の下記一般式 (I) :

【化 61】



30

(式中、

R¹ は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、C Oーアルキル、C Oーアリール、C Oーアルコキシアルキル、C Oーアリールオキシアルキル、C Oー置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、S O₂ または C H₂ であり；

Y は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

B A S E は、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である）

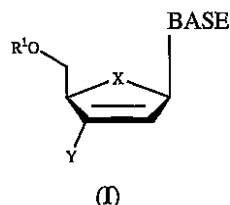
の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを一つ以上の他の有効な抗 H B V 薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主における H B V 感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項 68】

有効治療量の下記一般式 (I) :

50

【化 6 2】



(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブromoまたはヨードであり；および

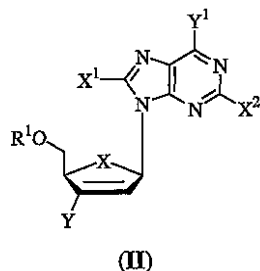
BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを一つ以上の他の有効な抗増殖薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主における以上細胞増殖の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項 6 9】

前記 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (I I)：

【化 6 3】



(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、BrもしくはI) であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、BrもしくはI)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SHまたは SR^4 から成る群より独自に選択され；

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 6 6 から 6 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7 0】

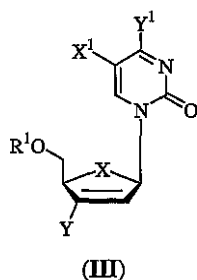
前記 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (I I I)：

30

40

50

【化 6 4】



10

(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、

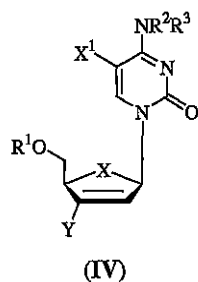
20

アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である) の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 66 から 68 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 71】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (IV)：

【化 6 5】



30

(式中、

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され；

40

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 66 から 68 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 72】

X が、O である、請求項 66 から 71 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 73】

50

Xが、Sである、請求項66から71のいずれか一項に記載の方法。

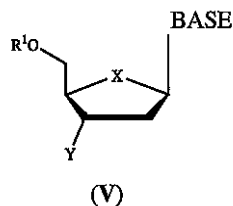
【請求項74】

Yが、Fである、請求項66から71のいずれか一項に記載の方法。

【請求項75】

有効治療量の下記一般式(V)：

【化66】



10

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

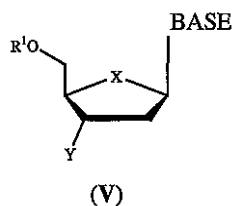
BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを一つ以上の他の有効は抗HIV薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主におけるHIV感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項76】

有効治療量の下記一般式(V)：

【化67】



30

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

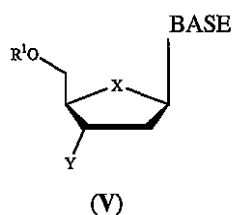
のβ-Dもしくはβ-L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを一つ以上の他の有効は抗HBV薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主におけるHBV感染の治療および／または予防のための医薬組成物。

【請求項77】

50

有効治療量の下記一般式 (V) :

【化 6 8】



10

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブromoまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

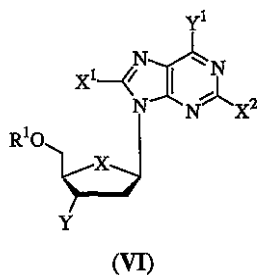
の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシドまたはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグを一つ以上の他の有効抗増殖薬と併用および／または交代で、場合によっては医薬適合性の担体との併用で含む、宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防のための医薬組成物。

20

【請求項 7 8】

前記 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VI) :

【化 6 9】



30

(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、BrもしくはI) であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、BrもしくはI)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SHまたは SR^4 から成る群より独自に選択され；ならびに

40

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)

の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 7 5 から 7 7 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

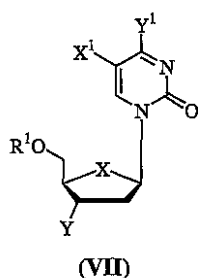
【請求項 7 9】

前記 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体

50

との併用での下記一般式 (VII) :

【化 70】



10

(式中、

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり ;

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され ; ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、

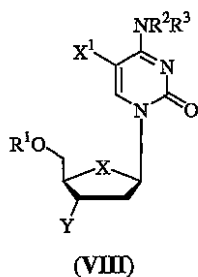
20

アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である) の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 75 から 77 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 80】

前記 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドが、場合によっては医薬適合性の担体との併用での下記一般式 (VIII) :

【化 71】



30

(式中、

X^1 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より選択され ; ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラルキルスルホニル、

40

アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である) の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはその医薬適合性の塩またはそのプロドラッグである、請求項 75 から 77 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 81】

X が、O である、請求項 75 から 80 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 82】

X が、S である、請求項 75 から 80 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

50

【請求項 83】

Y が、F である、請求項 75 から 80 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 84】

前記一つ以上の他の有効な抗 HIV 薬が、2-ヒドロキシメチル-5-(5-フルオロシトシン-1-イル)-1,3-オキサチオラン (FTC)；カルボビル、アシクロビル、インターフェロン、ファムシクロビル、ペンシクロビル、AZT、DDI、DDC、D4T、アバカビル、L-(-)-FMAU、L-DDAリン酸プロドラッグ、およびβ-D-ジオキソラニル-グアニン (DXG)、β-D-ジオキソラニル-2,6-ジアミノプリン (DAPD)、およびβ-D-ジオキソラニル-6-クロロプリン (ACP)、ネビラピン、MKC-442、DMP-266 (サスティバ)、インジナビル、サキナビル、および DMP-450 から成る群より選択される、請求項 75 に記載の方法。 10

【請求項 85】

前記一つ以上の他の有効な抗 HBV 薬が、2-ヒドロキシメチル-5-(5-フルオロシトシン-1-イル)-1,3-オキサチオラン (FTC)；カルボビル、アシクロビル、インターフェロン、ファムシクロビル、ペンシクロビル、AZT、DDI、DDC、D4T、アバカビル、L-(-)-FMAU、L-DDAリン酸プロドラッグ、およびβ-D-ジオキソラニル-グアニン (DXG)、β-D-ジオキソラニル-2,6-ジアミノプリン (DAPD)、およびβ-D-ジオキソラニル-6-クロロプリン (ACP)、ネビラピン、MKC-442、DMP-266 (サスティバ)、インジナビル、サキナビル、および DMP-450 から成る群より選択される、請求項 76 に記載の方法。 20

【請求項 86】

薬物療法の際の請求項 48 から 85 に記載のいずれか一つの医薬組成物の使用。

【請求項 87】

宿主における HIV の治療および／または予防のための請求項 48 から 85 に記載のいずれか一つの医薬組成物の使用。

【請求項 88】

宿主における HBV 感染の治療および／または予防のための請求項 48 から 85 に記載のいずれか一つの医薬組成物の使用。

【請求項 89】

宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防のための請求項 48 から 85 に記載のいずれか一つの医薬組成物の使用。 30

【請求項 90】

宿主における HIV 感染の治療および／または予防のための医薬品を製造する際の請求項 48 から 85 に記載のいずれか一つの医薬組成物の使用。

【請求項 91】

宿主における HBV 感染の治療および／または予防のための医薬品を製造する際の請求項 48 から 85 に記載のいずれか一つの医薬組成物の使用。

【請求項 92】

宿主における異常細胞増殖の治療および／または予防のための医薬品を製造する際の請求項 48 から 85 に記載のいずれか一つの医薬組成物の使用。 40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2001年6月22日出願の米国特許仮出願第60/300,356号および2001年7月13日出願の米国特許仮出願第60/305,386号に対して優先権を主張するものである。

【0002】

本発明は、製薬化学の分野に存し、詳細には、β-2'-または3'-ハロヌクレオシドならびにそれらの調製法および使用を記載する。

【0003】

本明細書に記載する本発明は、国立衛生研究所（米国）による承認番号 A I 3 2 3 5 1 および A I 2 5 8 9 9、ならびに承認番号 1 R 3 7 A I - 4 1 8 9 0 および 1 R O 1 A I - 3 2 3 5 1 のもと、政府の援助で成されたものである。米国政府は、この発明に対して一定の権利を有する。

【背景技術】

【0004】

5-ヨードウラシルおよび5-フルオロウラシルなどの合成ヌクレオシドは、長年にわたって癌の治療に用いられてきた。1980年代以降、合成ヌクレオシドは、HIVおよび肝炎の治療のための興味の対象にもなっている。

【0005】

1981年、後天性免疫不全症候群（AIDS）がヒト免疫系を深刻な危険にさらし、ほぼ例外なく死を導く疾病として特定された。1983年、AIDSの病因がヒト免疫不全ウイルス（HIV）であると、判定された。1985年、合成ヌクレオシド3'-アジド-3'-デオキシチミジン（AZT）がヒト免疫不全ウイルスの複製を阻害するという報告が成された。それ以降、2', 3'-ジデオキシイノシン（DDI）、2', 3'-ジデオキシチジン（DDC）および2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジデヒドロチミジン（D4T）を含む多数の他の合成ヌクレオシドがHIVに対して有効であると証明された。これらの合成ヌクレオシドは、細胞キナーゼによる5'-三リン酸塩への細胞のリン酸化後、ウイルスDNAの成長鎖に組み込まれ、その結果、3'-ヒドロキシル基の不在に起因する連鎖反応の停止が生じる。それらは、ウイルス酵素の逆転写も阻害する。

10

20

【0006】

インビボまたはインビトロでのHIVの複製の阻害に様々な合成ヌクレオシドが成功したことによって、多数の研究者が、ヌクレオシドの3'位の炭素原子をヘテロ原子に置換したヌクレオシドを設計し、試験することとなった。BioChem Pharma, Inc. に譲渡された欧州特許公開第0 337 713号、および米国特許第5, 041, 449号は、抗ウイルス活性を示す2-置換-4-置換-1, 3-ジオキソランを開示している。同じく、BioChem Pharma, Inc. に譲渡された米国特許第5, 047, 407号および欧州特許公開第0 382 526号は、多数の2-置換-5-置換-1, 3-オキサチオランヌクレオシドが、抗ウイルス活性を有することを開示しており、具体的には、2-ヒドロキシメチル-5-（シトシン-1-イル）-1, 3-オキサチオラン（以後、BCH-189と呼ぶ）が、毒性を殆ど伴わずにHIVに対してAZTとほぼ同じ活性を有することを報告している。

30

【0007】

cis-2-ヒドロキシメチル-5-（5-フルオロシトシン-1-イル）-1, 3-オキサチオラン（「FTC」）は、強いHIV活性を有することも開示されている。Schinaziら、「cis-5-フルオロ-1-[2-（ヒドロキシメチル）-1, 3-オキサチオラン-5-イル]-シトシンのラセミ体およびエナンチオマーによるヒト免疫不全ウイルスの選択的抑制（Selective Inhibition of Human Immunodeficiency viruses by Racemates and Enantiomers of cis-5-Fluoro-1-[2-（Hydroxymethyl）-1, 3-Oxathiolane-5-yl]-Cytosine）」、Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 11月 1992, 2423-2431。米国特許第5, 210, 085号、同5, 814, 639号および同5, 914, 331号も参照のこと。

40

【0008】

人間の深刻な健康上の問題を引き起こすもう一つのウイルスは、B型肝炎ウイルス（以後、「HBV」と呼ぶ）である。HBVは、タバコに次ぐ人間の癌の原因である。HBVが癌を誘発するメカニズムは不明である。腫瘍の発生を直接引き起こすこともあるし、または慢性炎症、肝硬変、および感染随伴細胞再生を通して腫瘍の発生を間接的に引き起こすこともあると主張されている。

50

【0009】

宿主が感染に気付かない2ヶ月から6ヶ月の潜伏期間の後、HBV感染によって、急性肝炎および肝損傷が導かれ、それに起因して、腹部疼痛、黄疸および一定の酵素の血液中レベル上昇が生じる。HBVは、肝臓の広範な部分を破壊する急速進行性で、多くの場合致命的な形の疾病である劇症肝炎を引き起こす。

【0010】

急性肝炎の患者は、典型的には回復する。しかし、一部の患者では、高レベルのウイルス抗原が、長期期間、または無期限に血液中に存続し、それに起因して慢性炎症が生じる。慢性炎症は、慢性持続性肝炎を導く。慢性持続性HBV感染患者は、発展途上国では最も一般的である。1991年半ばまでに、アジアだけでHBVの慢性的なキャリアは、約225,000,000人存在し、世界的には、ほぼ300,000,000人のキャリアが存在した。慢性持続性肝炎は、疲労、肝硬変、および肝細胞癌、原発性肝癌を生じうる。

10

【0011】

西側先進国において、HBV感染の危険性が高いグループには、HBVのキャリアまたは彼らの血液サンプルと接触した者が挙げられる。HBVの疫学は、後天性免疫不全症候群のものと非常に類似しており、それが、AIDSまたはAIDS関連複合体の患者の間でHBV感染が一般的である原因である。しかし、HBVは、HIVより感染性が高い。

【0012】

FTCおよび3TCは、両方とも、HBVに対して活性を示す。Furmanら、「cis-5-フルオロ-1-[2-(ヒドロキシメチル)-1,3-オキサチオラン-5-イル]-シトシンの(-)および(+)エナンチオマーの抗B型肝炎ウイルス活性、細胞毒性および同化プロファイル(The Anti-Hepatitis B Virus Activities, Cytotoxicities, and Anabolic Profiles of (-) and (+) Enantiomers of cis-5-Fluoro-1-[2-(Hydroxymethyl)-1,3-oxathiolane-5-yl]-Cytosine)」, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 12月 1992, pp 2686-2692; および Chengら, Journal of Biological Chemistry, 第267(20)巻, pp. 13938-13942 (1992)。ヒトにおいてHBVに対して活性を示す他の化合物には、L-FMAU (Triangle Pharmaceuticals, Inc. ジョージア大学研究財団およびイェール大学からライセンスを受けたもの)、ならびにL-dTおよびL-dC (Idenix Pharmaceuticals Inc.) が挙げられる。

20

30

【0013】

HCVは、トランスフェクション後および散在性非A型、非B型肝炎についての主因物質である(Alter, H. J. (1990) J. Gastro. Hepatol. 1: 78-94; Dienstag, J. L. (1983) Gastro 85: 439-462)。判別検査の進歩にも拘わらず、HCVは、多くの国々において急性ウイルス性肝炎の少なくとも25%を未だに占めている(Alter, H. J. (1990) 上記; Dienstag, J. L. (1983) 上記; Alter, M. J. ら(1990a) J. A. M. A. 264: 2231-2235; Alter M. J. ら(1992) N. Engl. J. Med. 327: 1899-1905; Alter, M. J. ら(1990b) N. Engl. J. Med. 321: 1494-1500)。HCVによる感染は、長年にわたって臨床症状を経験したことがない慢性感染(および感染性)キャリアの大部分に潜伏している。急性感染から慢性感染への高い進行率(70%から100%)および肝臓病への高い進行率(>50%)、その世界的な分布、ならびにワクチンの不足のために、HCVは、罹患率および死亡率の有意な原因になっている。現在、3タイプのインターフェロンおよびインターフェロンとリバビリンの組み合わせがC型肝炎の治療に用いられている。治療する患者の選択は、症状の存在または不在によってではなく、生化学的所見

40

50

、ウイルス学的所見、および必要な際には肝臓生検所見によって決定されうる。

【0014】

インターフェロンは、注射によって投与され、また、頭痛を含むインフルエンザ様症候群、発熱、倦怠、食欲喪失、悪心、嘔吐、うつ病および毛髪の薄化を含む多数の副作用を有しうる。骨髄を衰えさせることによって、白血球および血小板の生産にも干渉しうる。血球および血小板をモニターするために定期的な血液検査が必要である。リバビリンは、突然の激しい貧血および先天性異常を引き起こすことがあり、そのため、女性は、それを摂取している間および治療後6ヶ月間は、妊娠を避けるべきである。副作用の重症度およびタイプは、各個人によって異なる。HCVの子供の治療は、現在承認されておらず、研究中である。50%から60%の患者が最初は治療に応じるが、ウイルスのクリアランスの永続は、約10%から40%の患者にしか起こらない。治療は長期にわたりうり、二回目は、最初の治療後に再発した患者に投与される。生体工学により作られたコンセンサスインターフェロン単独での再治療により、1年間治療を受けた患者の58%においてウイルスが除去される。副作用は発生するが、この薬物療法は、通常、十分に許容される。併用療法（インターフェロンとリバビリン）は、治療の6ヵ月後、47%においてウイルスの除去を示した。両方の薬物からの副作用が、顕著であろう。

【0015】

腫瘍は、細胞成長の不規則で無秩序な増殖である。腫瘍は、浸潤性および転移性の特性がある場合、悪性、すなわち癌性である。浸潤性は、腫瘍が周辺組織に侵入し、それらの組織の境界を規定する基底膜を突破する傾向を指し、その結果、多くの場合、体循環系に侵入することとなる。転移は、腫瘍が体の他の領域に移動し、最初の出現部位から離れた増殖領域を確立する傾向を指す。

【0016】

癌は、現在、米国において2番目に大きな死因である。米国では、1994年には1,208,000の新規診断が予想されながら、8,000,000人を越える人々が、癌と診断されている。この国では、年間、500,000人を越える人々が、この疾病によって死亡している。

【0017】

癌は、分子レベルでは十分に理解されていない。一定のウイルス、一定の化学物質、または放射線などの発癌性物質に対する細胞の暴露が、「抑制」遺伝子を不活性化する、または「癌遺伝子」を活性化するDNA修飾を導くことは、知られている。抑制遺伝子は、成長調節遺伝子であり、これらが突然変異すると、細胞成長をもちや制御することはできない。癌遺伝子は、最初は正常な遺伝子（前癌遺伝子と呼ばれている）であり、突然変異または発現状況の修飾により形質転換遺伝子になる。形質転換遺伝子の産物によって、不適切な細胞成長が生じる。20を越える異なる正常細胞遺伝子が、遺伝子修飾によって癌遺伝子になりうる。形質転換細胞は、細胞形態学、細胞対細胞の相互作用、膜内容物、細胞骨格構造、蛋白質分泌、遺伝子発現および死亡率（形質転換細胞は、無期限に成長しうる）を含む多くの点で正常な細胞と異なる。

【0018】

身体のような細胞タイプのすべてが、良性または悪性腫瘍細胞に形質転換されうる。最も頻度の高い腫瘍部位は、肺であり、続いて結腸直腸、乳房、前立腺、膀胱、膵臓、そして卵巣である。他の頻度の高い癌のタイプには、白血病、中枢神経系の癌（脳癌を含む）、黒色腫、リンパ腫、赤白血病、子宮癌、および頭頸部癌が挙げられる。

【0019】

癌は、現在、主に、三年の治療（外科手術、放射線および化学療法）のうちの一つまたは併用を以って治療されている。外科手術には、疾病組織の全摘出が挙げられる。外科手術は、一定の部位、例えば、乳房、結腸および皮膚に位置する腫瘍の摘出には、場合によっては有効であるが、背骨などの他の領域に位置する腫瘍の治療、または白血病などの散在性腫瘍性状態の治療に用いることはできない。

【0020】

化学療法は、細胞複製または細胞代謝の破壊を伴う。これは、白血病、ならびに乳癌、肺癌および精巣癌の治療に、最も多くの場合、用いられている。

【0021】

癌の治療用には、現在、天然産物およびそれらの誘導体；アンタサイクリン（anthacyclines）；アルキル化剤；抗増殖薬（代謝拮抗物質とも呼ばれる）；およびホルモン薬といった、5つの主要な種類の化学療法薬がある。化学療法薬は、多くの場合、抗腫瘍薬と呼ばれる。

【0022】

アルキル化剤は、グアニンおよび可能な場合にはDNA内の他の塩基をアルキル化し、架橋させて、細胞分裂を停止させることにより作用すると考えられる。典型的なアルキル化剤には、ナイトロジェンマスタード、エチレンイミン化合物、アルキル硫酸塩、シスプラチンおよび様々なニトロソウレアが挙げられる。これらの化合物の短所は、悪性細胞ばかりでなく、骨髄、皮膚、胃腸粘膜および胎児組織のものなどの自然に分裂する他の細胞にも結合することである。

10

【0023】

代謝拮抗物質は、典型的に、可逆性もしくは不可逆性酵素阻害剤、または核酸の複製、翻訳もしくは転写を別様に干渉する化合物である。

【0024】

抗癌活性を示す幾つかの合成ヌクレオシドが、確認されている。強い抗癌活性を有するよく知られているヌクレオシド誘導体は、5-フルオロウラシルである。5-フルオロウラシルは、例えば、癌腫、肉腫、皮膚癌、消化器官の癌、および乳腺癌を含む悪性腫瘍の治療の際に臨床使用されている。しかし、5-フルオロウラシルは、悪心、脱毛、下痢、口内炎、白血球血小板減少症、食欲不振、色素沈着および浮腫などの深刻な副作用をもたらす。抗癌活性を有する5-フルオロウラシルの誘導体は、米国特許第4,336,381号、ならびに特開昭50-50383、同50-50384、同50-64281、同51-146482および同53-84981に記載されている。

20

【0025】

米国特許4,000,137号は、メタノールまたはエタノールとイノシン、アデノシンまたはシチジンの過酸化酸化生成物が、リンパ球性白血病に対して活性を有することを開示している。

30

【0026】

シトシンアラビノシド（シタラビン、araCおよびサイトサルとも呼ばれる）は、デオキシシチジンのヌクレオシド類似体であり、これは、1950年に最初に合成され、1963年に臨床医学に導入された。これは、現在、急性骨髄性白血病の治療の際に重要な薬物である。これは、急性リンパ球性白血病に対しても活性であり、程度は劣るが、慢性骨髄性白血病および非ホジキンリンパ腫に有用である。araCの一次作用は、核内DNA合成の阻害である。Handschumacher, R. および Cheng, Y., 「プリンおよびピリミジン代謝拮抗物質（Purine and Pyrimidine Antimetabolites）」, J. Hollandらによる, Cancer Medicine, 第XV-1章, 第3版, Lea and Febigol, publishers.

40

【0027】

5-アザシチジンは、主として、急性骨髄性白血病および骨髄形成異常症候群の治療の際に用いられる。

【0028】

2-フルオロアデノシン-5'-リン酸（フルダラ、FaraAとも呼ばれる）は、慢性リンパ球性白血病の治療の際に最も活性な薬剤の一つである。この化合物は、DNA合成を阻害することによって作用する。FaraAでの細胞の処理は、G1/S期の境界およびS期の細胞の蓄積を随伴し、それ故、これは、細胞周期S期特異性の薬物である。活性代謝物質、FaraATPの導入によって、DNA鎖の伸長は阻害される。Fara

50

a Aは、リボヌクレオチドリダクターゼ（d A T Pの生成の責任を担う重要な酵素）に対して効力のある阻害剤でもある。

【0029】

2-クロロデオキシアデノシンは、慢性リンパ球性白血病、非ホジキンリンパ腫およびヘアリーセル白血病などの低悪性度B細胞新生物の治療の際に有用である。

【0030】

新しいヌクレオシドの設計において、ヌクレオシドの炭水化物環にフルオロ置換基を組み込む試みが、多数、行われてきた。フッ素が置換基として提唱されてきたのは、C-F結合長（1.35 Å）がC-O結合長（1.43 Å）に非常に類似しているのでヒドロキシル基の等極性で等配電子の模擬体として役立つため、およびフッ素が水素結合受容体であるためである。フッ素は、最小の立体的な乱れで分子の有意な電子変化を生じることができ。分子内の別の基をフッ素置換すると、高強度のC-F結合（C-H=100 kcal/molに対して、116 kcal/mol）に起因して、基質代謝の変化が生じうる。

【0031】

多数の文献によって、2'-アラビノフルオロヌクレオシド（すなわち、2'-フルオロ基が、立体配置上「上（up）」にあるヌクレオシド）の合成および使用が報告されている。B型肝炎およびヘルペスに対して活性を示す2-フルオロ-β-D-アラビノフラノシルヌクレオシドが幾つか報告されている。例えば、Foxらの米国特許第4,666,892号；Lopezらの米国特許第4,221,773号；Suら, Nucleosides. 136。「幾つかの1-(2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-アラビノフラノシル)-5-アルキルウラシルの合成および抗ウイルス効果。幾つかの構造と活性の関係 (Synthesis and Antiviral Effects of Several 1-(2-Deoxy-2-fluoro-β-D-arabinofuranosyl)-5-alkyluracils. Some Structure-Activity Relationships)」, J. Med. Chem., 1986, 29, 151-154；Borthwickら, 「炭素環式2'-Ara-フルオログアノシンの合成および酵素分解：効力のある新規抗ヘルペス薬 (Synthesis and Enzymatic Resolution of Carbocyclic 2'-Ara-fluoro-Guanosine: A Potent New Anti-Herpetic Agent)」, J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1998；Watanabeら, 「活性な抗エイズヌクレオシド3'-アジド-3'-デオキシチミジン (AZT) および2', 3'-デオキシチミジン (AZT) ならびに2', 3'-デオキシシチジン (DDC) の2'-「up」-フルオロ類似体の合成および抗HIV活性 (Synthesis and Anti-HIV Activity of 2'-"UP"-Fluoro Analogues of Active Anti-Aids Nucleosides 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) and 2', 3'-deoxythymidine (AZT) and 2', 3'-deoxycytidine (DDC))」, J. Med. Chem. 1990, 33, 2145-2150；Martinら, 「ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) に対するピリミジンデオキシリボヌクレオシドのモノフルオロおよびジフルオロ類似体の合成および抗ウイルス活性 (Synthesis and Antiviral Activity of Monofluoro and Difluoro Analogues of Pyrimidine Deoxyribonucleosides against Human Immunodeficiency Virus (HIV-1))」, J. Med. Chem. 1990, 33, 2137-2145；Sterzyckiら, 「幾つかの2'-フルオロ含有ピリミジンヌクレオシドの合成および抗HIV活性 (Synthesis and Anti-HIV Activity of Several 2'-Fluoro-Containing Pyrimidine Nucleosides)」, J. Med. Chem. 1990、ならびにまた、

10

20

30

40

50

Sterzycckiらによって出願された欧州特許第0 316 017号；およびMontgomeryら，「9-（2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-アラビノフラノシル-グアニン：2'-デオキシグアニンの代謝安定性細胞毒性類似体（9-（2-Deoxy-2-Fluoro-β-D-arabinofuranosyl-guanine：A Metabolically Stable Cytotoxic Analogue of 2'-Deoxyguanosine）」を参照のこと。米国特許第5, 246, 924号は，「FEAU」とも呼ばれる1-（2'-デオキシ-2'-フルオロ-β-D-アラビノフラノシル）-3-エチルウラシルの投与を含む肝炎感染の治療法を開示している。米国特許第5, 034, 518号は，アデノシンのための基質として役立つ化合物の能力を低下させることによりアデニンヌクレオシドの代謝を修飾することによって抗癌活性を示す2-フルオロ-9-（2-デオキシ-2-フルオロ-β-D-アラビノフラノシル）アデニンヌクレオシドを開示している。欧州特許公開第0 292 023号は，一定のβ-D-2'-フルオロアラビノヌクレオシドがウイルス感染に対して活性であることを開示している。

【0032】

米国特許第5, 128, 458号は，抗ウイルス薬としてβ-D-2', 3'-ジデオキシ-4'-チオリボヌクレオシドを開示している。米国特許第5, 446, 029号は，2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロヌクレオシドが抗肝炎活性を有することを開示している。

【0033】

欧州特許公開第0 409 227 A2号は，B型肝炎の治療用に，一定の3'-置換β-D-ピリミジンおよびプリンヌクレオシドを開示している。

【0034】

L-FMAU（2'-フルオロ-5-メチル-β-L-アラビノフラノシル-ウラシル）が，効力のある抗HBVおよび抗FBV薬であることも開示されている。Chura，「B型肝炎ウイルスおよびエプスタイン-バーウイルスのための新規抗ウイルス薬としての2'-フルオロ-5-メチル-β-L-アラビノフラノシルウラシルの使用（Use of 2'-Fluoro-5-methyl-β-L-arabinofuranosyl uracil as a Novel Antiviral Agent for Hepatitis B Virus and Epstein-Barr Virus）」，Antimicrobial Agent and Chemotherapy, 4月1995, 979-981；Balakrishnaら，「新規L-ヌクレオシド、2'-フルオロ-5-メチル-β-L-アラビノフラノシルウラシルによるB型肝炎ウイルスの抑制（Inhibition of Hepatitis B Virus by a Novel L-Nucleoside, 2'-Fluoro-5-Methyl-β-L-arabinofuranosyl Uracil）」，Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Feb 1996, 380-356；米国特許第5, 587, 362号、同第5, 567, 688号および同第5, 565, 438号を参照のこと。

【0035】

米国特許第5, 426, 183号および同第5, 424, 416号は，2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオロヌクレオシドおよび2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオシドの調製法を開示している。精製ヒトデオキシシチジンキナーゼおよびシチジンデアミナーゼと2', 2'-ジフルオロデオキシシチジン（ゲムシタビン）との反応速度研究「（Kinetic Studies of 2', 2'-difluorodeoxycytidine（Gemcitabine） with Purified Human Deoxycytidine Kinase and Cytidine Deaminase）」，Biochemical Pharmacology, 第45巻（第9号）4857-1861ページ，1993も参照のこと。

【0036】

E r i k s s o nらの米国特許第5, 446, 029号は、一定の2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロヌクレオシドがB型肝炎活性を有することを開示している。米国特許第5, 128, 458号は、3'置換基がH、アジドまたはフルオロである一定の2', 3'-ジデオキシ-4'-チオリボヌクレオシドを開示している。国際公開公報第94/14831号は、一定の3'-フルオロ-ジヒドロピリミジンヌクレオシドを開示している。国際公開公報第92/08727号は、単純ヘルペス1型および2型の治療用に、 β -L-2'-デオキシ-3'-フルオロ-5-置換ウリジンヌクレオシドを開示している。

【0037】

欧州特許公開第0 352 248号は、HIV、ヘルペスおよび肝炎の治療用の幅広い種類のL-リボフラノシルプリンヌクレオシドを開示している。ある種の2'-フッ素化プリンヌクレオシドは、この幅広い種類の中に入るが、この明細書中のこれらの化合物の製造方法に関する情報は、この明細書中に与えられておらず、それらは、この明細書において特別に開示されているヌクレオシドまたはヌクレオシドの好ましいリストの中にはない。その明細書は、3'-リボフラノシルフッ素化ヌクレオシドの製造法を開示しているものである。類似の明細書は、A k t i e b o l a g e n t A s t r aによって出願された国際公開公報第88/09001号において見出される。

【0038】

欧州特許公開第0 357 571号は、AIDSの治療用の幅広い種類の β -Dおよび α -Dピリミジンヌクレオシドを開示しており、この幅広い種類の中には、一般に、2'位または3'位をフッ素基で置換することができるヌクレオシドが含まれる。しかし、この幅広い種類の中には、2'-フッ素化ヌクレオシドまたはそれらの生成方法の特別な開示はない。

【0039】

欧州特許公開第0 463 470号は、2'-フルオロ-2', 3'-ジデオキシシチジンなどの2'-フルオロ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドを製造する際の公知中間体である、(5S)-3-フルオロ-テトラヒドロ-5-[(ヒドロキシ)メチル]-2-(3H)-フラノンの調製法を開示している。

【0040】

米国特許第5, 817, 799号および同第5, 336, 764号は、2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロアラビノシルヌクレオシドを合成する際の間mediateである、 β -D-2'-フルオロアラビノフラノシルヌクレオシドおよびそれらの生成方法を開示している。

【0041】

米国特許第4, 625, 020号は、1, 3, 5-トリ-O-アシル-リボフラノースから保護エステル基を有する1-ハロ-2'-デオキシ-2'-フルオロアラビノフラノシル誘導体を生成する方法を開示している。

【0042】

米国特許第6, 348, 587号および国際公開公報第99/43619号は、一定の2'-フルオロ-2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジヒドロ-4'-((S, CH₂またはCHF))-ヌクレオシドを含む一定の2'-フルオロヌクレオシド、およびHIV、肝炎(B型またはC型)または増殖性状態の治療のためのそれらの使用を開示している。

【0043】

国際公開公報第01/90121号および同第01/92282号は、一定の2'-ハロ-2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジデヒドロ-4'-(O, S, SO₂またはCH₂)-ヌクレオシドをそれぞれ含む、HCVおよびフラビウイルスおよびペスチウイルスの治療用の多種多様なヌクレオシドを開示している。

【0044】

4'-チオヌクレオシドの最初の例は、1964年にR e i s tらによって報告されてお

り、彼らは、天然アデノシンの4'-チオ相当物を合成した(Reist, E. J.; Gueffroy, D. E.; Goodman, L., 「4-チオ-D-およびL-リボフラノースならびに対応するアデニンスクレオシドの合成(Synthesis of 4-thio-D- & L-ribofuranose and corresponding adenine nucleosides)」, J. Am. Chem. Soc. 1964, 86, 5658-5663)。

【0045】

Youngらによる報告は、L-4'-チオ-d4C類似体が顕著な抗HBVおよび抗HIV活性も示すこの種類のスクレオシドの重要性を強調している(Young, R. J.; Shaw-Ponter, S.; Thomson, J. B.; Miller, J. A.; Cumming, J. G.; Pugh, A. W.; Rider, P., 「エナンチオマー2', 3'-ジデオキシ-および2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-4'-チオスクレオシドの合成および抗ウイルス評価(Synthesis and antiviral evaluation of enantiomeric 2', 3'-dideoxy- and 2', 3'-didehydro-2', 3'-dideoxy-4'-thionucleosides)」, Bioorg, Med, Chem. Lett. 1995, 5, 2599-2604)。

10

【0046】

それ以来、9-(4-チオ-D-キシロフラノシル)アデニン(Reist, E. J.; Fisher, L. V.; Gueffroy, E.; Goodman, L. 「隣接基の関与。チオアシロニウムイオン中間体経由でのジチオ五炭糖の調製(Neighboring-group participation. Preparation of dithiopentose sugars via a thioacylonium ion intermediate)」, J. Org. Chem. 1968, 33, 189-192)、9-(4-チオ-D-アラビノフラノシル)アデニン(Reist, E. J.; Fisher, L. V.; Gueffroy, E.; Goodman, L. 「隣接基の関与。チオアシロニウムイオン中間体経由でのジチオ五炭糖の調製(Neighboring-group participation. Preparation of dithiopentose sugars via a thioacylonium ion intermediate)」, J. Org. Chem. 1968, 33, 189-192)、および4'-thio-araC(Ototani, N.; Whistler, R. L. 「2, 2'-アンヒドロ-1-β-D-アラビノフラノシルシトシンの4'-チオ類似体の調製および抗腫瘍活性(Preparation and antitumor activity of 4'-thio analogs of 2, 2'-anhydro-1-β-D-arabionfuranosylsytosine)」, J. Med. Chem. 1974, 17, 535-537)を含む、幾つかの種類
の4'-チオスクレオシドが報告されている(Whistler, R. L.; Doner, L. W.; Nayak, U. G., 「4-チオ-D-アラビノフラノシルピリミジンスクレオシド(4-Thio-D-arabinofuranosylpyrimidine nucleosides)」, J. Org. Chem. 1971, 36, 108-110; Bobek, M.; Bloch, A.; Parthasarathy, R.; Whistler, R. L., 「5-フルオロ-4'-チオウリジンおよび幾つかの関連スクレオシドの合成および生物活性(Synthesis and biological activity of 5-fluoro-4'-thiouridine and some related nucleosides)」, J. Med. Chem. 1975, 18, 784-787)。

20

30

40

【0047】

しかし、光学的に純粋な4'-チオスクレオシドの合成の難しさが、これらの類似体のさらなる合成の障害となっており、現在までにほんの少しの例しか知られていない(Fu, Y.-L.; Bobek, M., In Nucleic Acid Chemistry;

50

Townsend, L. ; Tipson, R. S. , Eds. ; John Wiley & Sons : New York, 1978 ; pp 317-323)。さらに、1991年に、WalkerおよびSecristが、ピリミジン2'-デオキシ-4'-チオヌクレオシドの合成を独自に報告する [Dyson, M. R. ; Coe, P. L. ; Walker, R. T. , 「E-5-(2-ブロモビニル)-4'-チオ-2'-デオキシウリジンの合成および抗ウイルス特性 (The synthesis and antiviral properties of E-5-(2-bromovinyl)-4'-thio-2'-deoxyuridine)」, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1991, 741-742 ; Dyson, M. R. ; Coe, P. L. ; Walker, R. T. 「幾つかの4'-チオ-2'-デオキシヌクレオシド類似体の合成および抗ウイルス活性 (The synthesis and antiviral activity of some 4'-thio-2'-deoxy nucleoside analogs)」, J. Med. Chem. 1991, 34, 2782-2786 ; Secrist, J. A. ; Tiwari, K. N. ; Riordan, J. M. ; Montgomery, J. A. 「2'-デオキシ-4'-チオピリミジンヌクレオシドの合成および生物活性 (Synthesis and biological activity of 2'-deoxy-4'-thiopyrimidine nucleosides)」, J. Med. Chem. 1991, 34, 2361-2366] までは、生物学的に興味深い2'-デオキシ-4'-チオヌクレオシドは合成されておらず、その後、シャープでない非対称エポキシ化を用いる2'-デオキシ-4'-チオヌクレオシドの代替合成 [Uenishi, J. ; Motoyama, M. ; Nishiyama, Y. ; Wakabayashi, S. , 「環状キサントゲン酸塩の立体制御調製-4-チオフラノースおよび4'-チオヌクレオシドへの新規合成経路 (Stereocontrolled preparation of cyclic xanthate-A novel synthetic route to 4-thiofuranose and 4'-thionucleoside)」, J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1991, 1421-1422 ; Uenishi, J. ; Tahakashi, K. ; Motoyama, M. ; Akashi, H. ; Sasaki, T. 「D-2'-デオキシ-4'-チオおよびL-2'-デオキシ-4'-チオピリミジンヌクレオシドの合成および抗腫瘍活性 (Syntheses and antitumor activities of D-2'-deoxy-4'-thio and L-2'-deoxy-4'-thiopyrimidine nucleosides)」, Nucleosides Nucleotids 1994, 13, 1347-1361]、4'-チオ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの合成 [Secrist, J. A. ; Riggs, R. M. ; Tiwari, K. N. ; Montgomery, J. A. 「4'-チオ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの合成および抗HIV活性 (Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2', 3'-dideoxynucleosides)」, J. Med. Chem. 1992, 35, 533-538] および4'-チオアラビノヌクレオシドの合成 [Secrist, J. A. ; Tiwari, K. W. ; Shortancy-Fowler, A. T. ; Messini, L. ; Riordan, J. M. ; Montgomery, J. A. 「一定の4'-チオ-D-アラビノフラノシルプリンヌクレオシドの合成および生物活性 (Synthesis and biological activity of certain 4'-thio-D-arabinofuranosyl purine nucleosides)」, J. Med. Chem. 1998, 41, 3865-3871 ; Yoshimura, Y. ; Watanabe, M. ; Sato, H. ; Ashida, N. ; Ijichi, K. ; Sakata, S. ; Machida, H. ; Matsuda, A. 「4'-チオアラビノヌクレオシドの容易な代替合成およびそれらの生物活性 (A facile, Alternative synthesis of 4'-thioarabinonucleosides and the

ir biological activities)」、J. Med. Chem. 1997, 40, 2177-2183]、ならびに2'-修飾2'-デオキシ-4'-チオシチジンの合成[Yoshimura, Y.; Kitano, K.; Yamada, K.; Satoh, H.; Watanabe, M.; Miura, S.; Sakata, S.; Sasaki, T.; Matsuda, A. 「D-グルコースからの2'-修飾2'-デオキシ-4'-チオシチジンの新規合成 (A novel synthesis of 2'-modified 2'-deoxy-4'-thiocytidines from D-glucose)」、J. Org. Chem. 1997, 62, 3140-3152]が報告されている。合成4'-チオ-2'-デオキシ、4'-チオ-2', 3'-ジデオキシおよび4'-チオアラビノスクレオシドは、効力のある抗ヘルペス活性、抗 HIV活性および抗サイトメガロウイルス活性をそれぞれ有することが示され、一部の類似体、特に、4'-チオチミジンおよび2'-デオキシ-4'-チオシチジンは、効力のある細胞毒性を示した。4'-チオスクレオシドは、スクレオシドホスホリラーゼによって触媒されるグルコシル結合の加水分解に対して通常は耐性であり、これは、スクレオシドホスホリラーゼについての基質である幾つかの代謝不安定性「4'-オキシ」抗ウイルス薬と比較される4'-チオスクレオシドの利点の一つである[Parks, R. E. Jr.; Stoeckler, J. D.; Cambor, C.; Savarese, T. M.; Crabtree, G. W.; Chu, S.-H., In Molecular Action and Targets for Cancer Chemotherapeutic Agents; Sartorelli, A. C., Lazo, J. S., Bertino, J. R., Eds.; Academic Press: New York, 1981; pp 229-252; Desgranges, C.; Razaka, G.; Rabaud, M.; Bricaud, H.; Blazarini, J.; De Clercq, E. 「精製ヒトチミジンホスホリラーゼおよび無損傷血小板による(E)-5-(2-ブロモビニル)-2'-デオキシウリジン(BVDU)および他の5-置換-2'-デオキシウリジンの加リン酸分解(Phosphorolysis of (E)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine (BVDU) and other 5-substituted-2'-deoxyuridines by purified human thymidine phosphorylase and intact blood-platelet)」、Biochem. Pharmacol. 1983, 32, 3583-3590; Samuel, J.; Gill, M. J.; Iwashina, T.; Tovell, D. R.; Tyrrell, D. L.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I. 「イヌにおけるE-5-(2-[I-131]ヨードビニル)-2'-デオキシウリジンの薬物動態および代謝(Pharmacokinetics and metabolism of E-5-(2-[I-131]iodovinyl)-2'-deoxyuridine in dogs)」、Antimicrob. Agents Chemother. 1986, 29, 320-324]。

【0048】

4'-チオスクレオシドは、可能性のある抗ウイルス薬として、最近、相当注目されているにもかかわらず、多分、合成が難しいからであろうか、それらの2', 3'-不飽和類似体は、十分に研究されていない。公知の合成法は、二硫化物アニオンによるジメシル酸塩の求核攻撃[Yoshimura, Y.; Watanabe, M.; Satoh, H.; Ashida, N.; Ijichi, K.; Sakara, S.; Machida, H.; Matsuda, A. 「4'-チオアラビノスクレオシドの容易な代替合成およびそれらの生物活性(A facile, alternative synthesis of 4'-thioarabinonucleosides and their biological activities)」、J. Med. Chem. 1997, 40, 2177-2183; Yoshimura, Y.; Kitano, K.; Yamada, K.; Satoh, H.; Watanabe, M.; Miura, S.; Sakat

a, S. ; Sasaki, T. ; Matuda, A. 「D-グルコースからの2'-修飾2'-デオキシ-4'-チオシチジンの新規合成 (A novel synthesis of 2'-modified 2'-deoxy-4'-thiocytidine form D-glucose)」, J. Org. Chem. 1997, 62, 3140-3152」、ジチオアセタールの閉環 [Secrist, J. A. ; Tiwari, K. N. ; Shortnacy-Fowler, A. T. ; Messini, L. ; Riordan, J. M. ; Montgomery, J. A. 「一定の4'-チオ-D-アラビノフラノシルプリンヌクレオシドの合成および生物活性 (Synthesis and biological activity of certain 4'-thio-D-arabinofuranosylpurine nucleosides)」, J. Med. chem. 1998, 41, 3865-3871]、またはチオ酢酸エステルの還元環化 [Secrist, J. A. ; Riggs, R. M. ; Tiwari, K. N. ; Montgomery, J. A. 「4'-チオ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの合成および抗HIV活性 (Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2', 3'-dideoxynucleosides)」, J. Med. Chem. 1992, 35, 533-538]のいずれかを用いている。

【0049】

ヒト末梢血単核 (PBM) 細胞において効力のある抗HIV活性 (EC_{50} 0.12 μ M)を示す β -L-2'-F-4'-Sd4Cの立体選択的合成が報告された [Choi, Y. ; Choo, H. ; Chong, Y. ; Lee, S. ; Olgen, S. ; Schinazi, R. F. ; Chu, C. K. 「L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオシチジンの合成および効力のある抗HIV活性 (Synthesis and potent anti-HIV activity of L-2', 3'-didehydro-2', 3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thiocytydine)」, Org. Lett. 2002, 4, 305-307]。

【0050】

後天性免疫不全症候群、AIDS関連複合体、B型肝炎ウイルスおよびC型肝炎ウイルスが、世界的に流行レベルに達しており、感染患者に対して悲惨な影響を及ぼすことを考えると、これらの疾病を治療するために新規で、有効で、宿主に対して毒性が低い製剤の提供が、未だ、強く必要とされている。さらに、新規抗増殖薬の提供も必要とされている。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0051】

従って、本発明の目的は、HIVに感染している人間の患者または他の宿主動物を治療するための方法および組成物を提供することである。

【0052】

本発明のもう一つの目的は、B型またはC型肝炎に感染している人間の患者を治療するための方法および組成物を提供することである。

【0053】

本発明のさらなる目的は、新規抗増殖薬を提供することである。

【0054】

本発明のさらにもう一つの目的は、本発明の β -ハロヌクレオシドの新規調製法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0055】

本発明は、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、そうした化合物を含む医薬組成物、ならびに前記化合物または組成物を投与することを含むHIV感染、HBV感染または異常細胞増殖を治療または予防するための方法を包含する。加えて、本発明は、こ

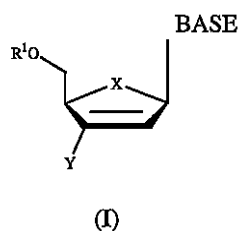
した化合物、ならびに関連 β -D および β -L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法を包含する。

【0056】

本発明の一つの実施形態において、 β -D および β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式 (I) :

【0057】

【化1】



10

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

X は、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

20

Y は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASE は、場合によっては置換されていることもある、またはアルキル化もしくはアシル化形などのプロドラッグ形で提供されることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

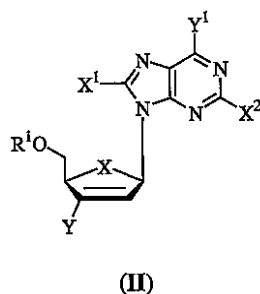
の β -D および β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0058】

本発明の特定の副次的実施態様において、 β -D および β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式 (II) :

【0059】

【化2】



30

(式中、

R^1 、X および Y は、上で定義したとおりであり；

Y^1 は、OH、 OR^2 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^2R^3 、SH、 SR^2 またはハロゲン (F、Cl、Br もしくは I) であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン (F、Cl、Br もしくは I)、OH、 OR^4 、 NH_2 、 NHR^2 、 NR^4R^5 、SH または SR^4 から成る群より独自に選択され；ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル (特にシクロプロピル)、ジアルキルアミノアルキレン (特にジメチルアミノメチレン、CO-

40

50

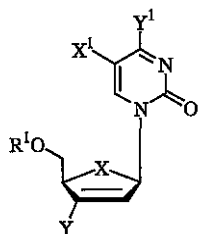
アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である)の β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0060】

本発明のもう一つの副次的実施形態において、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式(III)：

【0061】

【化3】



(III)

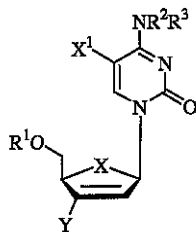
(式中、 R^1 、X、Y、 X^1 および Y^1 は、上で定義したとおりである)の β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0062】

特定の副次的実施形態において、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式(IV)：

【0063】

【化4】



(IV)

(式中、 R^1 、X、Y、 X^1 、 R^2 および R^3 は、上で定義したとおりである)の β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0064】

好ましい実施形態において、式(I)から(IV)の化合物に関するXは、Oである。

【0065】

別の好ましい実施形態において、式(I)から(IV)の化合物に関するXは、Sである。

【0066】

好ましい実施形態において、式(I)から(IV)の化合物に関するYは、Fである。

【0067】

本発明の一つの実施形態において、式(I)から(IV)の化合物は、 β -D立体配置である。本発明の別の実施形態において、式(I)から(IV)の化合物は、 β -L立体配置である。

10

20

30

40

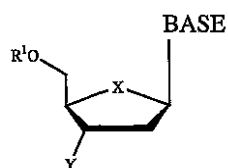
50

【0068】

本発明の第二の実施形態において、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式(V)：

【0069】

【化5】



(V)

10

(式中、 R^1 、YおよびBASEは、上で定義したとおりである)

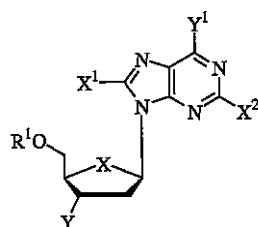
の β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0070】

本発明の特定の副次的実施形態において、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式(VI)：

【0071】

【化6】



(VI)

20

(式中、 R^1 、Y、 X^1 、 X^2 および Y^1 は、上で定義したとおりである)

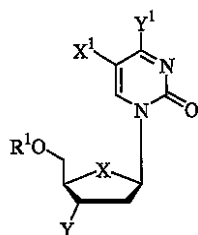
の β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0072】

本発明のもう一つの副次的実施形態において、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式(VII)：

【0073】

【化7】



(VII)

30

40

(式中、 R^1 、X、Y、 X^1 、および Y^1 は、上で定義したとおりである)

の β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

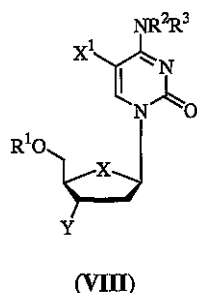
【0074】

50

特定の副次的実施形態において、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式(VIII)：

【0075】

【化8】



10

(式中、 R^1 、X、Y、 X^1 、 R^2 および R^3 は、上で定義したとおりである)
 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0076】

好ましい実施形態において、式(V)から(VIII)の化合物に関するXは、Oである。

【0077】

別の好ましい実施形態において、式(V)から(VIII)の化合物に関するXは、Sである。

20

【0078】

好ましい実施形態において、式(V)から(VIII)の化合物に関するYは、Fである。

【0079】

本発明の一つの実施形態において、式(V)から(VIII)の化合物は、 β -D立体配置である。本発明の別の実施形態において、式(V)から(VIII)の化合物は、 β -L立体配置である。

【0080】

上に示した β -ハロヌクレオシドは、 β -D立体配置であるが、これらの β -ハロヌクレオシドが β -L立体配置、 β -D立体配置のいずれであってもよいことは、理解できよう。

30

【0081】

本発明の β -ハロヌクレオシドは、ウイルス感染、および特に、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染および／またはB型肝炎ウイルス(HBV)感染の治療または予防の際に有用である生物活性分子である。本化合物は、腫瘍および癌を含む異常細胞増殖の治療にも有用である。本発明のもう一つの実施形態において、本活性化合物は、いずれも、HCVの治療に有用である。活性の範囲は、本明細書に記載のアッセイにおいてまたは別の確認アッセイで本化合物を評価することによって、容易に判定することができる。

40

【0082】

例えば、一つの実施形態において、抗ウイルス化合物の効力は、本明細書にさらに詳細に記載されている方法に従って、インビトロでウイルスのプラーク数を50%減少させるために必要な濃度(すなわち、化合物の EC_{50})に基づいて測定される。好ましい実施形態において、本化合物は、インビトロで、15マイクロモル未満、または好ましくは10マイクロモル未満の EC_{50} を示す。

【0083】

もう一つの実施形態において、宿主におけるウイルス感染、および特に、HIVまたはHBV感染を治療または予防するために、上の式のものを含む本活性化合物またはその誘導体もしくは塩は、抗HIV薬または抗肝炎薬などの別の抗ウイルス薬と併用で、また交代

50

で投与される。選択的に、宿主における腫瘍および癌などの異常細胞増殖を治療するために、上の式のものを含む本活性化合物またはその誘導体もしくは塩は、抗腫瘍薬などの別の抗増殖薬と併用また交代で投与される。一般に、併用療法では、有効な用量の二つ以上の薬剤と一緒に投与され、これに対して、交代療法の間、有効な用量の各薬剤が、逐次的に投与される。用量は、その薬物の吸収率、不活性化率および排泄率、ならびに当業者に知られている他の因子に依存するだろう。用量値が、緩和すべき状態の重症度によっても変化するだろうということにご留意いただきたい。さらに、あらゆる個々の被験者のための特定の用法-用量および投与計画が、個々の必要性および組成物を投与するまたは組成物の投与を管理する人の職業的判断に従って時間の経過とともに調整されるべきであることも理解されよう。

10

【0084】

本明細書中で開示されている化合物と併用することができる抗ウイルス薬の非限定的な例には、2-ヒドロキシメチル-5-(5-フルオロシトシン-1-イル)-1, 3-オキサチオラン (FTC) ; 2-ヒドロキシメチル-5-(シトシン-1-イル)-1, 3-オキサチオラン (3TC) の (-)-エナンチオマー ; カルボビル、アシクロビル、インターフェロン、ファムシクロビル、ペンシクロビル、AZT、DDI、DDC、D4T、アバカビル、L-(-)-FMAU、L-DDAリン酸プロドラッグ、およびβ-D-ジオキソランヌクレオシド [β-D-ジオキソラニル-グアニン (DG)、β-D-ジオキソラニル-2, 6-ジアミノプリン (DAPD) およびβ-D-ジオキソラニル-6-クロロプリン (ACP) など]、非ヌクレオシド室温阻害剤 (ネビラピン、MKC-442、DMP-226 (サスティバ) など)、ならびにまた、プロテアーゼ阻害剤 (インジナビル、サキナビル、AZT、DMP-450 など] などが挙げられる。

20

【0085】

本化合物は、ウマ伝染性貧血ウイルス (EIAV)、ネコ免疫不全ウイルス、およびサル免疫不全ウイルスの治療にも用いることができる。[Wang, S., Montelaro, R., Schinazi, R. F., Jagerski, B., and Mellors, J. W. : 「ウマ伝染性貧血ウイルス (EIAV) に対するヌクレオシドおよび非ヌクレオシド逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) の活性 (Activity of nucleoside and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) against equine infectious anemia virus (EIAV))」, First National Conference on Human Retroviruses and Related Infections, Washington, DC, 12月. 12-16, 1993; Sellon D. C., 「ウマ伝染性貧血 (Equine Infectious Anemia)」, Vet. Clin. North Am. Equine Pract. United States, 9:321-336, 1993; Philpott, M. S., Ebner, J. P., Hoover, E. A., 「定量的ポリメラーゼ連鎖反応を用いるネコ免疫不全ウイルスのための9-(2-ホスホニルメトキシエチル) アデニン療法の評価 (Evaluation of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl) adenine therapy for feline immunodeficiency virus using a quantitative polymerase chain reaction)」, Vet. Immunol. Immunopathol. 35:155166, 1992]。

30

40

【0086】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中の、有効量の本発明の活性化合物を含む、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特に、HBVまたはHIV感染の治療および/または予防用の医薬組成物も提供する。

【0087】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中の、有効量の本発明の活性化合物を含む、

50

宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防用の医薬組成物も提供する。

【0088】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中、一つ以上の他の有効な抗ウイルス薬、特に、抗HBV薬または抗HIV薬と併用で有効量の本発明の活性化合物を含む、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特に、HBVまたはHIV感染の治療および／または予防用の医薬組成物も提供する。

【0089】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中、抗腫瘍薬などの一つ以上の他の有効な抗増殖薬と併用で有効量の本発明の活性化合物を含む、宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防用の医薬組成物も提供する。 10

【0090】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中の、有効量の本発明の活性化合物を宿主に投与することを含む、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特に、HBVまたはHIV感染の治療および／または予防法も提供する。

【0091】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中の、有効量の本発明の活性化合物を宿主に投与することを含む、宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防法も提供する。

【0092】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中、一つ以上の他の有効な抗ウイルス薬、特に、抗HBV薬または抗HIV薬と併用で有効量の本発明の活性化合物を宿主に投与することを含む、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特に、HBVまたはHIV感染の治療および／または予防法も提供する。 20

【0093】

本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中、抗腫瘍薬などの一つ以上の他の有効な抗増殖薬と併用で有効量の本発明の活性化合物を宿主に投与することを含む、宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防法も提供する。

【0094】

本発明は、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特にHBVまたはHIV感染の治療および／または予防のための、場合によっては医薬適合性の担体中の、本発明の活性化合物の使用も提供する。 30

【0095】

本発明は、宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防のための、場合によっては医薬適合性の担体中の、本発明の活性化合物の使用も提供する。

【0096】

本発明は、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特にHBVまたはHIV感染の治療および／または予防のための、場合によっては医薬適合性の担体中の、一つ以上の他の有効な抗ウイルス薬、特に、抗HBVまたは抗HIV薬と併用での本発明の活性化合物の使用も提供する。 40

【0097】

本発明は、宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防のための、場合によっては医薬適合性の担体中の、抗腫瘍薬などの一つ以上の他の有効な抗増殖薬との併用での本発明の活性化合物の使用も提供する。

【0098】

本発明は、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特にHBVまたはHIV感染の治療および／または予防用の医薬品を製造する際の、場合によっては医薬適合性の担体中の、本発明の活性化合物の使用も提供する。 50

【0099】

本発明は、宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防用の医薬品を製造する際の、場合によっては医薬適合性の担体中の、本発明の活性化合物の使用も提供する。

【0100】

本発明は、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特にHBVまたはHIV感染の治療および／または予防用の医薬品を製造する際の、場合によっては医薬適合性の担体中の、一つ以上の他の有効な抗ウイルス薬、特に、抗HBVまたは抗HIV薬と併用および／または交代での本発明の活性化合物の使用も提供する。

【0101】

本発明は、宿主、好ましくは人間におけるウイルス感染、特にHCV感染の治療および／または予防用の医薬品を製造する際の、場合によっては医薬適合性の担体中の、一つ以上の他の有効な抗ウイルス薬、特に、抗HCV薬と併用および／または交代での本発明の活性化合物の使用も提供する。

【0102】

本発明は、宿主、好ましくは人間における腫瘍および癌などの異常細胞増殖の治療および／または予防用の医薬品を製造する際の、場合によっては医薬適合性の担体中の、抗腫瘍薬などの一つ以上の他の有効な抗増殖薬と併用および／または代用での本発明の活性化合物の使用も提供する。

【0103】

本発明は、本発明の化合物の調製ならびに本発明の化合物の調製に有用である本明細書中で開示されている中間体の調製に有用な合成方法も提供する。

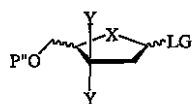
【0104】

詳細には、発明の一つの実施形態において、

(a) 下記式(A)：

【0105】

【化9】



(A)

(この式中、

P''は、独自に、水素、またはアルキル、アシルもしくはシリルなどの適する酸素保護基であり；および

LGは、Oアシル、特にOAcなどの適する脱離基である)

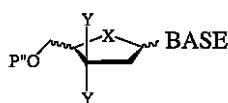
の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式(A)の化合物とプリンまたはピリミジン塩基を結合させて、下記式(B)

：

【0106】

【化10】



(B)

の化合物を得る段階；

(c) 上記式(B)の化合物を脱離させ、必要な場合には脱保護して、下記式(I)の化合物を得る段階

10

20

30

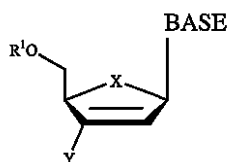
40

50

を含む、下記式 (I) :

【0107】

【化11】



(I)

10

(式中、
Y、R¹ および BASE は、上で定義したとおりであり；ならびに
X は、O、S または SO₂ である)
の β-D もしくは β-L-3'-ハロヌクレオシドの調製法を提供する。

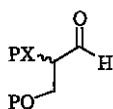
【0108】

本発明のもう一つの特定の実施形態において、

(a) 下記式 (C) :

【0109】

【化12】



(C)

20

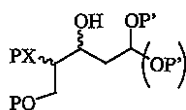
(この式中、各 P は、独自に、H、またはアルキル、アシルもしくはシリルなどの適する保護基である)

の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式 (C) の化合物と場合によっては保護されているアセトアルデヒドとを結合させて、下記式 (D) :

【0110】

【化13】



(D)

30

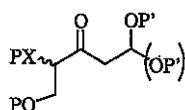
(この式中、各 P' は、独自に、アルキル、アシルもしくはシリルなどの適する酸素保護基である)

を得る段階；

(c) 上記式 (D) の化合物を酸化して、下記式 (E) :

【0111】

【化14】



(E)

40

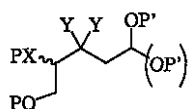
50

の化合物を得る段階；

(d) 上記式 (E) の化合物をハロゲン化して、下記式 (F)：

【0112】

【化15】



(F)

10

(この式中、各 Y は、独自に、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードである)

の化合物を得る段階；

(e) 上記式 (F) の化合物を、必要な場合には選択的に脱保護し、環化し、必要な場合には活性化して、式 (A) の化合物を得る段階を含む、式 (A) の化合物の調製法を提供する。

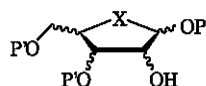
【0113】

選択的に、本発明のもう一つの特の実施形態において、

(a) 下記式 (G)：

【0114】

【化16】



(G)

20

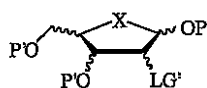
(この式中、各 P および P' は、独自に、アルキル、アシルまたはシリルなどの適する酸素保護基である)

の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式 (G) の化合物を活性化して、下記式 (H)：

【0115】

【化17】



(H)

30

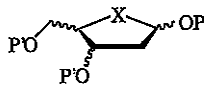
(この式中、LG' は、チオノ蟻酸フェニルなどの適する脱離基である)

の化合物を得る段階；

(c) 上記式 (H) の化合物を還元して、下記式 (J)：

【0116】

【化18】



(J)

40

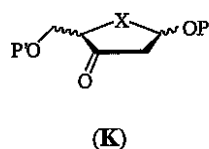
の化合物を得る段階；

(d) 上記式 (J) の化合物を、必要な場合には選択的に脱保護し、酸化して、下記式 (K)：

50

【0117】

【化19】



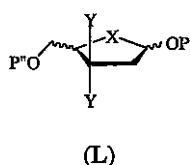
の化合物を得る段階；

(f) 上記式 (K) の化合物をハロゲン化して、下記式 (L)：

10

【0118】

【化20】



の化合物を得る段階；

(g) 上記式 (L) の化合物を、必要な場合には選択的に脱保護し、活性化して、式 (A) 20
) の化合物を得る段階

を含む式 (A) の化合物の調製法を提供する。

【0119】

本発明の一つの実施形態において、式 (I) の化合物を還元して、式 (V) の化合物を得ることができる。

【0120】

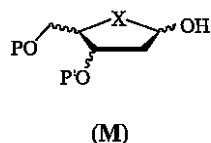
詳細には、本発明の第二の実施形態において、

(a) 下記式 (M)：

【0121】

【化21】

30



(この式中、各 P および P' は、独自に、アルキル、アシルまたはシリルなどの適する酸素保護基である)

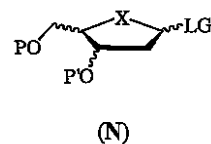
の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式 (M) の化合物を活性化して、下記式 (N)：

【0122】

40

【化22】



(この式中、L G は、O アシル、特に O A c などの適する脱離基である)

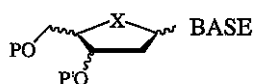
の化合物を得る段階；

(c) 上記式 (N) の化合物とプリンまたはピリジン塩基とを結合させて、下記式 (O)
 ；

50

【0123】

【化23】



(O)

の化合物を得る段階；

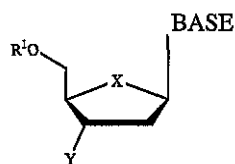
(d) 必要な場合には選択的に脱保護し、ハロゲン基で置換して、式(V)の化合物を得る段階

10

を含む、下記式(V)：

【0124】

【化24】



(V)

20

(この式中、Y、R¹ および B A S E は、上で定義したとおりである)
のβ-Dまたはβ-L-3'-ハロヌクレオシドの調製法を提供する。

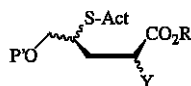
【0125】

詳細には、本発明の第三の実施形態において、

(a) 下記式(P)：

【0126】

【化25】



(P)

30

(この式中、

P' は、アルキル、アシルまたはシリルなどの適する酸素保護基であり；

S-A c t は、S-アシル、特にS-A c などの活性硫黄部分であり；および

O R は、O-アルキル、特にO M e またはO E t などの適する酸素脱離基である)

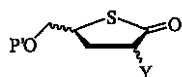
の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

(b) 上記式(P)の化合物を環化して、下記式(Q)：

40

【0127】

【化26】



(Q)

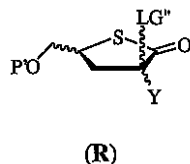
の化合物を得る段階；

(c) 上記式(Q)の化合物を求電子試薬と反応させて、下記式(R)：

【0128】

50

【化 2 7】



(この式中、LG'' は、フェニルセレンまたは硫化フェニルなどの適する脱離基である)

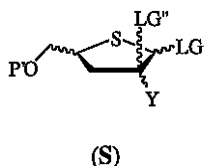
の化合物を得る段階；

10

(d) 上記式 (R) の化合物を活性化して、下記式 (S)：

【0 1 2 9】

【化 2 8】



(この式中、LG は、O アシル、特に O A c などの適する脱離基である)

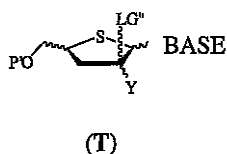
20

の化合物を得る段階；

(e) 上記式 (S) の化合物とプリンまたはピリミジン塩基とを結合させて、下記式 (T)

【0 1 3 0】

【化 2 9】



30

の化合物を得る段階；

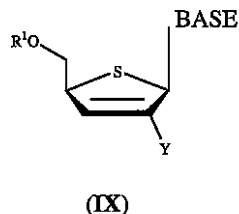
(f) 上記式 (T) の化合物を脱離させ、必要な場合には、場合によっては脱保護して、

下記式 (IX) の化合物を得る段階

を含む、下記式 (IX)：

【0 1 3 1】

【化 3 0】



40

(この式中、

R¹、Y および B A S E は、上で定義したとおりである)

の β-D または β-L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法を提供する。

【0 1 3 2】

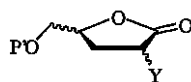
本発明の特定の実施形態において、

(a) 下記式 (U)：

50

【0133】

【化31】



(U)

(この式中、各 P' は、独自に、H、またはアルキル、アシルもしくはシリルなどの適する保護基である)

の場合によっては保護されている化合物を得る段階；

10

(b) 上記式 (U) の化合物を活性硫黄と反応させて、式 (P) の化合物を得る段階を含む、式 (P) の化合物の調製法を提供する。

【0134】

一つの実施形態において、式 (U) の化合物は、(場合によっては、トリフェニルホスフィンの存在下で) ヨウ素などの求核ハロゲンと先ず反応させ、その後、活性硫黄と反応させる。

【0135】

あるいは、本発明のもう一つの特定の実施形態において、適切に保護された D-または L-グルタミン酸から、式 (P) の化合物が得られる。D-または L-グルタミン酸は、購入することができ、これを、その後、当技術分野においてよく知られている手段によってチオ誘導体に転化させることができる。そうしたプロトコルの例は、Cerbvinka, O.; Hub, L., 「不斉反応。XXVII. γ -ブチロラクトン- γ -カルボン酸および γ -バレロラクトン- γ -カルボン酸の絶対配置 (Asymmetric reactions. XXVII. Absolute configurations of γ -butyrolactone- γ -carboxylic acid and γ -valerolactone- γ -carboxylic acid)」, Collect. Czech, Chem. Commun. 1968, 33, 2927-2932; Hanessian, S.; Murray, P. J., 「天然生合成経路の立体化学的制御：単一キラルプロジェニターからポリプロピオン酸塩由来の構造を合成するための一般戦略 (Stereochemical control of nature's biosynthetic pathways: A general strategy for the synthesis of polypropionate-derived structural units from a single chiral progenitor)」, Tetrahedron 1987, 43, 5055-5072; Secrist III, J. A.; Riggs, R. H.; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A., 「4'-チオ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの合成および抗 HIV 活性 (Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2', 3'-dideoxynucleosides)」, J. Med. Chem. 1992, 35, 533-538 である。

20

30

【0136】

本明細書中で開示する本発明は、場合によっては医薬適合性の担体中の、有効量の β -D-もしくは β -L-2'-ハロヌクレオシド、医薬適合性の誘導体 (5' 位、またはプリンもしくはピリミジン上でアルキル化またはアシル化されている化合物を含む)、またはその医薬適合性の塩を投与することを含む、人間または他の宿主動物における HIV、B 型もしくは C 型肝炎、または異常細胞増殖を治療するための方法および組成物である。本発明の化合物は、抗ウイルス (すなわち、抗 HIV-1、抗 HIV-2、抗 B 型肝炎ウイルス) 活性もしくは抗増殖活性のいずれかを有するか、またはそうした活性を示す化合物へと代謝される。本明細書中で開示する本発明は、そうした β -D-または β -L-2'-ハロヌクレオシドの調製法、ならびに β -D-または β -L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法も包含する。

40

50

【0137】

要約すると、本発明は、以下の特徴を包含する：

(a) 本明細書中に記載されているとおりの β -Lおよび β -Dハロヌクレオシド(I)から(VIII)、ならびにそれらの医薬適合性の誘導体および塩；

(b) 本明細書中に記載されているとおりの β -Lおよび β -Dハロヌクレオシド(I)から(VIII)ならびにそれらの医薬適合性の誘導体および塩の合成；

(c) 例えば、HIV、B型(もしくはC型)肝炎ウイルス感染の治療もしくは予防または異常細胞増殖の治療のための、薬物療法の際に使用するための、本明細書中に記載されているとおりの β -Lおよび β -Dハロヌクレオシド(I)から(VIII)ならびにそれらの医薬適合性の誘導体および塩；

10

(d) 医薬適合性の担体または希釈剤と共に β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩を含む医薬調合物；

(e) 別の抗ウイルス薬または抗増殖薬などの別の有効成分と共に β -Lもしくは β -Dハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩を含む医薬調合物；

(f) 有効量の β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩を投与することを含む、HIV感染、B型肝炎ウイルス感染または異常細胞増殖にかかっている宿主を治療する方法；

(g) 別の抗ウイルス薬または抗増殖薬などの別の有効成分と併用または交代で、有効量の β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩を投与することを含む、HIV感染、B型肝炎ウイルス感染または異常細胞増殖にかかっている宿主を治療する方法；

20

(h) 例えば、HIV感染、B型肝炎ウイルス感染または異常細胞増殖の治療または予防のための、薬物療法の際の、 β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩の使用；

(f) 抗ウイルス薬としての β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩の使用；

(g) 抗増殖薬としての β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩の使用；

(h) 例えば、HIV感染、B型肝炎ウイルス感染または異常細胞増殖の治療または予防のための、薬物療法の際、別の抗ウイルス薬または抗増殖薬などの別の有効成分と併用または交代での β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩の使用；

30

(i) HIV感染、B型肝炎ウイルス感染または異常細胞増殖の治療または予防のための、 β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩の使用；

(j) HIV、B型肝炎ウイルス感染または異常細胞増殖の治療または予防用の医薬品を製造する際の、 β -Dもしくは β -Lハロヌクレオシド(I)から(VIII)またはその医薬適合性の誘導体またはその塩の使用；ならびに

(k) 下にさらに詳細に記載するような β -Lおよび β -D-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法。

40

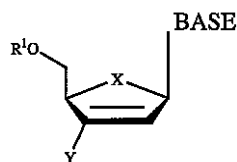
【0138】

I. 活性化化合物

本発明の一つの実施形態において、 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記式(I)：

【0139】

【化32】



(I)

(式中、

R^1 は、水素、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体であり；

Xは、O、S、 SO_2 または CH_2 であり；

Yは、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードであり；および

BASEは、場合によっては置換されていることもあるプリンまたはピリミジン塩基である)

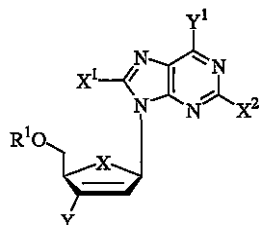
の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0140】

本発明の特定の副次的実施形態において、 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記一般式(II)：

【0141】

【化33】



(II)

(式中、

R^1 、XおよびYは、上で定義したとおりであり；

Y^1 は、 OR^2 、 NR^2R^3 または SR^2 であり；

X^1 および X^2 は、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、ハロゲン、 OR^4 、 NR^4R^5 または SR^4 から成る群より独自に選択され；ならびに

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、独自に、H、直鎖、分枝鎖もしくは環状アルキル（特にシクロプロピル）、ジアルキルアミノアルキレン（特に、ジメチルアミノメチレン、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一、二もしくは三リン酸塩、またはリン酸塩誘導体である）

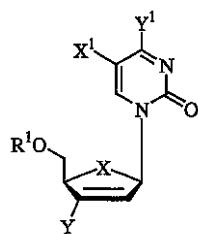
の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0142】

本発明のもう一つの副次的実施形態において、 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記一般式(III)：

【0143】

【化34】



(III)

(式中、 R^1 、 X 、 Y 、 X^1 および Y^1 は、上で定義したとおりである)
 の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、または
 その医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

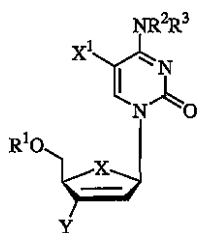
10

【0144】

本発明のもう一つの副次的実施形態において、 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオ
 シドは、下記一般式 (IV) :

【0145】

【化35】



(IV)

20

(式中、 R^1 、 X 、 Y 、 X^1 、 R^2 および R^3 は、上で定義したとおりである)
 の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、または
 その医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0146】

好ましい実施形態において、式 (I) から (IV) の化合物に関する X は、 O である。

30

【0147】

別の好ましい実施形態において、式 (I) から (IV) の化合物に関する X は、 S である。
 。

【0148】

好ましい実施形態において、式 (I) から (IV) の化合物に関する Y は、 F である。

【0149】

本発明の一つの実施形態において、式 (I) から (IV) の化合物は、 β -D 立体配置で
 ある。本発明の別の実施形態において、式 (I) から (IV) の化合物は、 β -L 立体配
 置である。

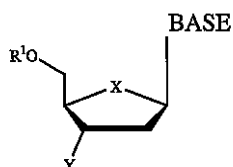
40

【0150】

本発明の第二の実施形態において、 β -D または β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下
 記式 (V) :

【0151】

【化36】



(V)

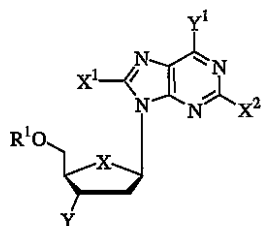
(式中、 R^1 、YおよびBASEは、上で定義したとおりである)
 の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、または
 その医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。 10

【0152】

本発明の特定の副次的実施形態において、 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシド
 は、下記式(VI)：

【0153】

【化37】



(VI)

20

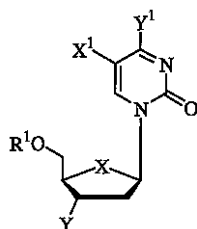
(式中、 R^1 、Y、 X^1 、 X^2 および Y^1 は、上で定義したとおりである)
 の化合物、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグ
 である。

【0154】

本発明のもう一つの副次的実施形態において、 β -Dおよび β -L-3'-ハロヌクレオ
 シドは、下記式(VII)： 30

【0155】

【化38】



(VII)

40

(式中、 R^1 、X、Y、 X^1 および Y^1 は、上で定義したとおりである)
 の β -Dもしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、または
 その医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

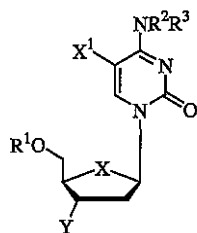
【0156】

特定の副次的実施形態において、 β -Dまたは β -L-3'-ハロヌクレオシドは、下記
 式(VIII)：

【0157】

【化39】

50



(VIII)

(式中、 R^1 、 X 、 Y 、 X^1 、 R^2 および R^3 は、上で定義したとおりである) 10
 の β -D もしくは β -L-3'-ハロヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグである。

【0158】

好ましい実施形態において、式 (V) から (VIII) の化合物に関する X は、 O である。

【0159】

別の好ましい実施形態において、式 (V) から (VIII) の化合物に関する X は、 S である。

【0160】

好ましい実施形態において、式 (V) から (VIII) の化合物に関する Y は、 F である 20

【0161】

本発明の一つの実施形態において、式 (V) から (VIII) の化合物は、 β -D 立体配置である。本発明の別の実施形態において、式 (V) から (VIII) の化合物は、 β -L 立体配置である。

【0162】

一つの重要な実施形態において、プリンまたはピリミジン塩基は、アルキル化形（例えば、シクロプロピルを含む低級アルキル）またはアシル化形（例えば、エステル化形もしくはアセチル化形を含むがそれらに限定されない）で提供される。

【0163】

30

II. 定義

本明細書中で用いられる場合、用語「アルキル」は、特にそれ以外の指定がない限り、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_{10}$ の飽和直鎖、分枝鎖または環状、第一、第二または第三級炭化水素を指し、具体的には、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、シクロプロピル、ブチル、イソブチル、 t -ブチル、ペンチル、シクロペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、イソヘキシル、シクロヘキシル、シクロヘキシルメチル、3-メチルペンチル、2, 2-ジメチルブチル、および 2, 3-ジメチルブチルが挙げられる。アルキル基は、ヒドロキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルコキシ、アリールオキシ、ニトロ、シアノ、スルホン酸、硫酸塩、ホスホン酸、リン酸塩またはホスホン酸塩（これらは、非保護であるか、または必要な場合には、当業者に知られているように、例えば、Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, 第2版, 1991において教示されているように保護されている）から成る群より選択された一つ以上の部分で場合によっては置換されていてもよい。上記文献を参照してここに組み込まれる。 40

【0164】

本明細書中で用いられる場合、特にそれ以外の指定がない限り、用語「低級アルキル」は、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ の飽和直鎖、分枝鎖または適切な場合には環状（例えば、シクロプロピル）アルキル基を指す。

用語「アルキルアミノ」または「アリールアミノ」は、それぞれ、1つまたは2つのアルキルまたはアリール置換基を有するアミノ基をそれぞれ指す。 50

【0165】

本明細書中で用いられる場合、別様に定義されていない限り、用語「保護された」は、酸素、窒素またはリン原子に付加して、そのさらなる反応を防止する、または他の目的のための基を指す。有機合成の当業者には、多種多様な酸素および窒素保護基が知られている。本明細書中で用いられる場合、用語「アリール」は、特にそれ以外の指定がない限り、フェニル、ピフェニルまたはナフチル、好ましくはフェニルを指す。アリール基は、ヒドロキシル、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アルコキシ、アリールオキシ、ニトロ、シアノ、スルホン酸、硫酸塩、ホスホン酸、リン酸塩またはホスホン酸塩（これらは、非保護であるか、または必要な場合には、当業者に知られているように、例えば、Greeneら, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, 第2版, 1991において教示されているように保護されている）から成る群より選択された一つ以上の部分で場合によっては置換されていてもよい。

10

【0166】

用語「アルカリール」または「アルキルアリール」は、アリール置換基を有するアルキル基を指す。用語「アラルキル」または「アリールアルキル」は、アルキル置換基を有するアリール基を指す。

【0167】

本明細書中で用いられる場合、用語「ハロ」には、クロロ、ブロモ、ヨードおよびフルオロが含まれる。

20

【0168】

用語「プリン塩基」または「ピリミジン塩基」には、アデニン、 N^6 -アルキルプリン、 N^6 -アシルプリン（この場合、アシルは、 $C(O)$ （アルキル、アリール、アルキルアリールまたはアリールアルキルである）、 N^6 -ベンジルプリン、 N^6 -ハロプリン、 N^6 -ビニルプリン、 N^6 -アセチレン型プリン、 N^6 -アシルプリン、 N^6 -ヒドロキシアアルキルプリン、 N^6 -チオアルキルプリン、 N^2 -アルキルプリン、 N^2 -アルキル-6-チオプリン、チミン、シトシン、5-フルオロシトシン、5-メチルシトシン、6-アザピリミジン（6-アザシトシンを含む）、2-および/または4-メルカプトピリミジン、ウラシル、5-ハロウラシル（5-フルオロウラシルを含む）、 C^5 -アルキルピリミジン、 C^5 -ベンジルピリミジン、 C^5 -ハロピリミジン、 C^5 -ビニルピリミジン、 C^5 -アセチレン型ピリミジン、 C^5 -アシルピリミジン、 C^5 -ヒドロキシアアルキルプリン、 C^5 -アミドピリミジン、 C^5 -シアノピリミジン、 C^5 -ニトロピリミジン、 C^5 -アミノピリミジン、 N^2 -アルキルプリン、 N^2 -アルキル-6-チオプリン、5-アザシチジニル、5-アザウラシル、トリアゾロピリジニル、イミダゾロピリジニル、ピロロピリミジニルおよびピラゾピリミジニルが含まれるが、それらに限定されない。プリン塩基には、グアニン、アデニン、ヒポキサンチン、2, 6-ジアミノプリン、2-クロロ-2-アミノプリン、イノシンおよび6-クロロプリンが挙げられるが、それらに限定されない。この塩基上の酸素および窒素官能基は、必要な場合または所望される場合には保護することができる。適する保護基は、当業者によく知られており、トリメチルシリル、ジメチルヘキシルシリル、*t*-ブチルジメチルシリルおよび*t*-ブチルジフェニルシリル、トリチル、アルキル基、アシル基（アセチルおよびプロピオニルなど）、メタン

30

40

【0169】

用語「アシル」は、エステル基の非カルボニル部分が、直鎖、分枝鎖または環状のアルキルまたは低級アルキル、アルコキシアアルキル（メトキシメチルを含む）、アラルキル（ベンジルを含む）、アリールオキシアアルキル（フェノキシメチルなど）、アリール（ハロゲンで場合によっては置換されているフェニルを含む）、 $C_1 \sim C_4$ -アルキルまたは $C_1 \sim C_4$ -アルコキシ、スルホン酸エステル（メタンスルホニルを含むアルキルまたはアラルキルスルホニルなど）、一、二または三リン酸エステル、トリチルまたはモノメトキシトリチル、置換ベンジル、トリアルキルシリル（例えば、ジメチル-*t*-ブチルシリル）

50

またはジフェニルメチルシリルから選択される、カルボン酸エステルを指す。前記エステル中のアリール基は、最適にはフェニル基を含む。アシルは、天然または合成アミノ酸部分も含む。

【0170】

本明細書中で用いられる場合、用語「実質的に無い」または「実質的に不在である」は、そのヌクレオシドの指定のエナンチオマーを少なくとも95%から98%またはそれ以上、好ましくは、99%から100%含むヌクレオシド組成物を指す。

【0171】

同様に、用語「単独の」は、少なくとも85または90重量%、好ましくは95重量%から98重量%、さらにいっそう好ましくは99重量%から100重量%のヌクレオシドを含み、残りには他の化学種またはエナンチオマーを含むヌクレオシド組成物を指す。 10

【0172】

本明細書中で用いられる場合、用語「宿主」は、細胞系統および動物、好ましくは人間を含む、ウイルスを複製することができる単細胞もしくは多細胞生物、または異常細胞増殖の状態を模擬することができる単細胞もしくは多細胞生物を指す。例えば、HIV、HBVまたはHCVの場合、宿主は、本発明の化合物が複製または機能を修飾することができるウイルスゲノムの一部を所有することができる、あらゆる単細胞または多細胞生物である。用語「宿主」は、具体的には、感染細胞、ウイルスゲノムの全部または一部でトランスフェクトされた細胞、ならびに動物、特に、霊長類（チンパンジーを含む）および人間を指す。本発明の大部分の動物適用において、宿主は、人間の患者である。しかし、一定 20
の適応症において、本発明による獣医学的適用（チンパンジーなど）が明らかに予想される。

【0173】

用語「医薬適合性の塩またはプロドラッグ」は、患者に投与されるとヌクレオシド化合物を生ずる、ヌクレオシド化合物のあらゆる医薬適合性の形（エステル、リン酸エステル、エステルの塩、アシル化もしくはアルキル化生成物または関連誘導体など）を説明するために、本明細書を通して用いられる。医薬適合性の塩には、医薬適合性の無機塩基および酸または有機塩基および酸から誘導されたものが挙げられる。適する塩には、製薬分野においてよく知られている他の非常に多数の酸の中でも、カリウムおよびナトリウムなどのアルカリ金属、カルシウムおよびマグネシウムなどのアルカリ土類金属から誘導されたもの 30
が挙げられる。医薬適合性のプロドラッグは、宿主体内で代謝され、例えば、加水分解または酸化されて、本発明の化合物を生成する化合物を指す。プロドラッグの典型的な例には、活性化合物の官能基部分に生物学的に不安定な保護基を有する化合物が挙げられる。プロドラッグには、酸化、還元、アミノ化、脱アミノ化、ヒドロキシル化、脱ヒドロキシル化、加水分解、脱加水分解、アルキル化、脱アルキル化、アシル化、脱アシル化、リン酸化、脱リン酸化されて、活性化合物を生じることができる化合物が挙げられる。本発明の化合物は、フラビウイルスもしくはペスチウイルスに対して抗ウイルス活性を有するか、またはそうした活性を示す化合物へと代謝される。

【0174】

III. 医薬適合性の誘導体 40
本活性化合物は、受容者に投与されるとその親化合物を直接または間接的に生じることができるあらゆる誘導体として投与することができる。さらに、化合物の生物活性を修飾し、場合によっては、親化合物より活性を増大させることができる。このことは、誘導体を調製し、本明細書中に記載の方法または当業者に知られている他の方法に従ってその抗ウイルス活性を試験することにより、容易に評価することができる。

【0175】

化合物が、安定で非毒性の酸性または塩基性の塩を生成するために十分に塩基性または酸性である場合、医薬適合性の塩として化合物を投与することが適切であろう。医薬適合性の塩の例は、生理学的に許容されうるアニオンを生成する酸で生成された有機酸付加塩、例えば、トシル酸塩、メタンスルホン酸塩、酢酸塩、クエン酸塩、マロン酸塩、酒石酸塩 50

、コハク酸塩、安息香酸塩、アスコルビン酸塩、 α -ケトグルタル酸塩および α -グリセロリン酸塩である。硫酸塩、硝酸塩、重炭酸塩および炭酸塩を含む適する無機塩を生成することもできる。

【0176】

医薬適合性の塩は、当技術分野においてよく知られている標準的な手順を用いて、例えば、アミンなどの十分に塩基性の化合物と、生理学的に許容されうるアニオンを生じる適する酸とを反応させることによって、得ることができる。カルボン酸のアルカリ金属（例えば、ナトリウム、カリウムもしくはリチウム）塩またはアルカリ土類金属（例えば、カルシウム）塩を作ることにもできる。

【0177】

本明細書に記載のいずれのヌクレオシドも、ヌクレオシドプロドラッグとして投与して、そのヌクレオシドの活性、バイオアベイラビリティ、安定性を増大させるか、または別様にそのヌクレオシドの性質を変化させることができる。多数のヌクレオチドプロドラッグ配位子が知られている。一般に、ヌクレオシドの一、二または三リン酸塩のアルキル化、アシル化または他の親油性修飾は、そのヌクレオチドの安定性を増大させる。そのリン酸部分の一つ以上の水素を置換することができる置換基の例は、アルキル、アリール、ステロイド、炭水化物（糖を含む）、1, 2-ジアシルグリセロールおよびアルコールである。多くが、R. Jones and N. Bischofberger, *Antiviral Research*, 27 (1995) 1-17に記載されている。これらは、いずれも、望ましい効果を達成するために本開示ヌクレオシドと併用することができる。

【0178】

本活性ヌクレオシドは、次の参考文献に開示されているような5'-ホスホエーテル脂質または5'-エーテル脂質として提供することもできる：Kucera, L. S., N. Iyer, E. Leake, A. Raben, Modest E. K., D. L. W., and C. Piantadosi, 1990, 「感染性HIV-1生産を抑制し、欠陥ウイルスの生成をもたらす新規膜相互作用性エーテル脂質類似体 (Novel membrane-interactive ether lipid analogs that inhibit infectious HIV-1 production and induce defective virus formation)」, *AIDS Res. Hum. Retro Viruses*, 6:491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C. J., S. L. Morris-Natschke, K. L. Meyer, F. Gumus, J. R. Surlles, K. S. Ishaq, L. S. Kucera, N. Iyer, C. A. Wallen, S. Piantadosi, and E. J. Modest., 1991, 「新規エーテル脂質ヌクレオシドコンジュゲートの合成および抗HIV活性についての評価 (Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV activity)」, *J. Med. Chem.* 34:1408. 1414; Hosteller, K. Y., D. D. Richman, D. A. Carson, L. M. Stuhmiller, G. M. T. van Wijk, and H. van den Bosch, 1992, 「3'-デオキシチミジン二リン酸ジミリストイルグリセロール、3'-デオキシチミジンの脂質プロドラッグ、によるCEMおよびHT4-6C細胞における1型ヒト免疫不全ウイルス複製の非常に強化された阻害 (Greatly enhanced inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication in CEM and HT4-6C cells by 3'-deoxythymidine diphosphate dimyristoylglycerol, a lipid prodrug of 3'-deoxythymidine)」, *Antimicrob. Agents Chemother.* 36:2025. 2029; Hosetler, K. Y., L. M. Stuhmiller, H. B. Lenting, H. van den Bosch, and D. D. Richm

10

20

30

40

50

an, 1990, 「アジドチミジンおよび他の抗ウイルスヌクレオシドのリン脂質類似体の合成および抗レトロウイルス活性 (Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogues of azidothymidine and other antiviral nucleoside)」, J. Biol. Chem. 265: 61127.

【0179】

ヌクレオシドへの共有結合組み込みを、好ましくはそのヌクレオシドの5'-OH位で行うことができる適する親油性置換基、または親油性製剤を開示している米国特許の非限定的な例は、米国特許第5, 149, 794号(1992年9月22日、Yatvinら) ; 同第5, 194, 654号(1993年3月16日、Hostetlerら) ; 同第5, 223, 263号(1993年6月29日、Hostetlerら) ; 同第5, 256, 641号(1993年10月26日、Yatvinら) ; 同第5, 411, 947号(1995年3月2日、Hostetlerら) ; 同第5, 463, 092号(1995年10月31日、Hostetlerら) ; 同第5, 543, 389号(1996年8月6日、Yatvinら) ; 同第5, 543, 390号(1996年8月6日、Yatvinら) ; 同第5, 543, 391号(1996年8月6日、Yatvinら) ; および同第5, 554, 728号(1996年9月10日、Basavaら) が挙げられる。これらの特許は、すべて、本明細書に参照して組み込まれる。本発明のヌクレオシドに結合することができる親油性置換基、または親油性製剤を開示している外国特許公報には、国際公開公報第89/02733号、同第90/00555号、同第91/16920号、同第91/18914号、同第93/00910号、同第94/26273号、同第96/15132号、欧州特許第0 350 287号、同第93917954. 4号、および国際公開公報第91/19721号が挙げられる。

【0180】

ヌクレオシドプロドラッグの非限定的な例は、次の参考文献に開示されている: Ho, D. H. W. (1973) 「人間およびマウスの組織における1 β -D-アラビノフラノシルシトシンのキナーゼおよびデアミナーゼの分布 (Distribution of Kinase and deaminase of 1 β -D-arabinofuranosylcytosine in tissues of man and mouse)」, Cancer Res. 33, 2816-2820; Holy, A. (1993) 「等極性リン修飾ヌクレオチド類似体 (Isopolar phosphorous-modified nucleotide analogues)」, In: De Clercq (Ed.), Advances in Antiviral Drug Design, 第I巻, JAI Press, pp. 179-231; Hong, C. I., Nechaev, A., and West, C. R. (1979a) 「コルチゾルおよびコルチゾンの1- β -D-アラビノフラノシルシトシンコンジュゲートの合成および抗腫瘍活性 (Synthesis and antitumor activity of 1- β -D-arabino-furanosylcytosine conjugate of cortisol and cortisone)」, Biochem. Biophys. Res. Commun. 88, 1223-1229; Hong, C. I., Nechaev, A., Kirisits, A. J. Buchheit, D. J. and West, C. R. (1980) 「抗腫瘍薬としての可能性を秘めたヌクレオシドコンジュゲート。3. コルチコステロイドおよび選択された親油性アルコールの1-(β -D-アラビノフラノシル)シトシンコンジュゲートの合成および抗腫瘍活性 (Nucleoside conjugates as potential antitumor agents. 3. Synthesis and antitumor activity of 1-(β -D-arabinofuranosyl)cytosine conjugate of corticosteroids and selected lipophilic alcohols)」, J. Med. Chem. 28, 171-177; Hosteller, K. Y., Stuhmiller, L. M., Lenting, H

- . B. M. van den Bosch, H. and Richman J., *Biol. Chem.* 265, 6112-6117; Hosteller, K. Y., Carson, D. A. and Richman, D. D. (1991), 「ホスファチジルアジドチミジン: CEM細胞における抗レトロウイルス作用のメカニズム (Phosphatidylazidothymidine: mechanism of antiretroviral action in CEM cells)」, *J. Biol. Chem.* 266, 11714-11717; Hosteller, K. Y., Korba, B. Sridhar, C., Gardener, M. (1994a) 「マウスでのB型肝炎感染細胞におけるホスファチジル-ジデオキシシチジンの抗ウイルス活性および肝摂取増進 (Antiviral activity of phosphatidyl-dideoxycytidine in hepatitis B-infected cells and enhanced hepatic uptake in mice)」, *Antiviral Res.* 24, 59-67; Hosteller, K. Y., Richman, D. D., Sridhar, C. N., Felger, P. L., Felgner J., Ricci, J., Gardener, M. F., Selleseth, D. W. and Ellis, M. N. (1994b) 「ホスファチジルアジドチミジンおよびホスファチジル-ddC: マウスリンパ組織における吸収ならびにヒト免疫不全ウイルス感染細胞およびラッシャー白血病ウイルス感染マウスにおける抗ウイルス活性の評価 (Phosphatidylazidothymidine and phosphatidyl-ddC: Assessment of uptake in mouse lymphoid tissues and antiviral activities in human immunodeficiency virus-infected cells and in rauscher leukemia virus-infected mice)」, *Antimicrobial Agents Chemother.* 38, 2792-2797; Hunston, R. N., Jones, A. A., McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J., and DeClercq, E. (1984) 「2'-デオキシ-5-フルオロチミジンから誘導された幾つかの環状ホスホトリエステルの合成および生物学的性質 (Synthesis and biological properties of some cyclic phosphotriesters derived from 2'-deoxy-5-fluorouridine)」, *J. Med. Chem.* 27, 440-444; Ji, Y. H., Moog, C., Schmitt, G., Bischoff, P. and Luu, B. (1990); 「抗腫瘍薬としての可能性を秘めた7- β -ヒドロキシコレステロールおよびピリミジンスクレオシドの一リン酸エステル: 合成および抗腫瘍活性の予備評価 (Monophosphoric acid esters of 7- β -hydroxycholesterol and of pyrimidine nucleoside as potential antitumor agents: synthesis and preliminary evaluation of antitumor activity)」, *J. Med. Chem.* 33, 2264-2270; Jone, A. S., McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J. and Declercq, E. (1984) 「幾つかのスクレオシド環状ホスホロアミデートの合成、性質および生物活性 (Synthesis, properties, and biological activity of some nucleoside cyclic phosphoramidates)」, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1471-1474; Juodka, B. A. and Smrt, J. (1974), 「ジリボヌクレオシドホスホ(P $\rightarrow$ N)アミノ酸誘導体の合成 (Synthesis of diribonucleoside phosph(P $\rightarrow$ N) amino acid derivatives)」, *Coll. Czech. Chem. Comm.* 39, 363-968; Kataoka, S., Imai, J., Yamaji, N., Kato, M., Saito, M.,

Kawada, T. and Imai, S. (1989), 「アルキル化 cAMP 誘導体 ; 選択的合成および生物活性 (Alkylated cAMP derivatives ; selective synthesis and biological activities)」, *Nucleic Acid Res. Sym. Ser.* 21, 1-2 ; Kataoka, S., Uchida, 「(cAMP) ベンジルおよびメチルトリエステル ((cAMP) benzyl and methyl triesters)」, *Heterocycles* 32, 1351-1356 ; Kinchington, D., Harvery, J. J., O'Connor, T. J., Jones, B. C. N. M., Devine, K. G., Taylor-Robinson D., Jeffries, D. J. and McGuigan, C. (1992), 「インビトロでの HIV および ULV に対するジドブジンホスホロアミデート誘導体とジホスホロジアミデート誘導体の抗ウイルス作用の比較 (Comparison of antiviral effects of zidovudine phosphoramidate and diphosphorodiamidate derivatives against HIV and ULV in vitro)」, *Antiviral Chem. Chemother.* 3, 107-112 ; Kodama, K., Morozumi, M., Saitoh, K. I., Kuninaka, H., Yoshino, H., and Sane-yoshi, M. (1989), 「1- β -D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ステアリルホスフェートの抗腫瘍活性および薬理学 ; 1- β -D-アラビノフラノシルシトシンの経口活性誘導体 (Antitumor activity and pharmacology of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-5'-stearyl phosphate ; an orally active derivative of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine)」, *Jpn. J. Cancer Res.* 80, 679-685 ; Korty, M. and Engels, J. (1979), 「モルモット心室心筋に対するアデノシンおよびグアノシン 3', 5'リン酸ベンジルエステルおよび酸ベンジルエステルの効果 (The effects of adenosine- and guanosine 3', 5'phosphoric and acid benzyl esters on guinea-pig ventricular myocardium)」, *Naunya-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 310, 103-111 ; Kumar, A., Goe, P. L., Jones, A. S., Walker, R. T., Balzarini, J. and Declercq, E. (1990), 「幾つかの環状ホスホロアミデートヌクレオシド誘導体の合成および生物学的評価 (Synthesis and biological evaluation of some cyclic phosphoramidate nucleoside derivatives)」, *J. Med. Chem.* 33, 2368-2375 ; Le Bec, C., and Huynh-Dinh, T. (1991), 「抗癌剤プロドラッグとしての 5-フルオロウリジンおよびアラビノシチジンの親油性リン酸トリエステル誘導体の合成 (Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs)」, *Tetrahedron Lett.* 32, 6553-6556 ; Lichtenstein, J., Barner, H. D. and Cohen, S. S. (1960), 「大腸菌による外来性ヌクレオチドの代謝 (The metabolism of exogenously supplied nucleotides by *Escherichia coli*)」, *J. Biol. Chem.* 235, 457-465 ; Lucht, J., Von Daeniken, A., Friederich, J., Manthey, B., Zweifel, J., Schlatter, C. and Benn, M. H. (1981), 「3つの天然シアノエピチオアルカンの合成および毒物学的性質 (Synthesis and toxicological properties

s of three naturally occurring cyanoepithioalkanes)」、Mitt. Geg. Lebensmittellunters. Hyg. 72, 131-133 (Chem. Abstr. 95, 127093); McGigan, C. Tollerfield, S. M. and Riley, P. a. (1989), 「抗ウイルス薬Araの幾つかのリン酸トリエステル誘導体の合成および生物学的評価 (Synthesis and biological evaluation of some phosphate triester derivatives of the anti-viral drug Ara)」, Nucleic Acids Res. 17, 6065-6075; McGuigan, C., Devine, K. G., O'Connor, T. J., Galpin, S. A., Jeffries, D. J. and Kinchington, D. (1990a), 「抗HIV化合物としての3'-アジド-3'-デオキシチミジン (AZT) の幾つかの新規ホスホロアミデート誘導体の合成および評価 (Synthesis and evaluation of some novel phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) as anti-HIV compounds)」, Antiviral Chem. Chemother. 1, 107-113; McGuigan, C., O'Connor, T. J., Nicholls, S. R., Nickson, C. and Kinchington, D. (1990b), 「AZTおよびddCydの幾つかの新規置換リン酸ジアルキル誘導体の合成および抗HIV活性 (Synthesis and anti-HIV activity of some novel substituted dialkyl phosphate derivatives of AZT and ddCyd)」, Antiviral Chem. Chemother. 1, 355-360; McGuigan, C., Nicholls, S. R., O'Connor, T. J., and Kinchington, D. (1990), 「抗AIDS薬としての可能性を秘めた3'修飾ヌクレオシドの幾つかの新規リン酸ジアルキル誘導体の合成 (Synthesis of some novel dialkyl phosphate derivative of 3'-modified nucleoside as potential anti-AIDS drug)」, Antiviral Chem. Chemother. 1, 25-33; McGuigan, D., Devin, K. G., O'Connor, T. J., and Kingchington, D. (1991), 「3'-アジド-3'-デオキシチミジン (AZT) の幾つかのハロアルキルホスホロアミデート誘導体の合成および抗HIV活性; トリクロロエチルメトキシアラニル化合物の効力のある活性 (Synthesis and anti-HIV activity of some haloalkyl phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT); potent activity of the trichloroethyl methoxy alaninyl compound)」, Antiviral Res. 15, 255-263; McGuigan, C., Pathirana, R. N., Balzarini, J. and DeClercq, E. (1993b), 「AZTのリン酸アリール誘導体による生体活性AZTヌクレオチドの細胞間送達 (Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT)」, J. Med. Chem. 36, 1048-1052.

【0181】

抗HIV薬AZTのリン酸水素アルキル誘導体は、その親ヌクレオシド類似体より毒性が低いこともある。Antiviral Chem. Chemother. 5, 271-277; Meyer, R. B., Jr., Shuman, D. A. and Robins, R. K. (1973), 「プリンヌクレオシド3', 5'-環状ホスホロアミデートの合成 (Synthesis of prine nucleoside 3', 5'-cyclic phosphoramidate)」, J. Med. Chem. 16, 1048-1052.

clic phosphoramidates)」、Tetrahedron Lett. 269-272; Nagyvary, J., Gohil, R. N., Kirchner, C. R. and Stevens, J. D. (1973), 「環状AMPの中性エステルの研究 (Studies on neutral esters of cyclic AMP)」, Biochem. Biophys. Res. Commun. 55, 1072-1077; Namané, A., Gouyette, C., Fillion, M. P., Fillion, G. and Huynh-Dinh, T. (1992), 「グリコシルリン酸トリエステルプロドラッグを用いるAZTの改善された脳送達 (Improved brain delivery of AZT using a glycosyl phosphotriester prodrug)」, J. Med. Chem. 35, 3039-3044; Nargeot, J., Nerbonne, J. M., Engels, J. and Leser, H. A. (1983) Natl. Acad. Sci. U. S. A. 80, 2395-2399; Nelson, K. A., Bentrude, W. G., Stser, W. N. and Hutchinson, J. P. (1987), 「ヌクレオシド環状3', 5'-リン酸のリン酸環に関するねじれイス型平衡の問題。チミジンフェニル環状3', 5'-リン酸のジアステレオマーの¹H NMRおよびX線結晶学的研究 (The question of chair-twist equilibria for the phosphate rings of nucleoside cyclic 3', 5'-monophosphates. ¹H NMR and x-ray crystallographic study of the diastereomers of thymidine phenyl cyclic 3', 5'-monophosphate)」, J. Am. Chem. Soc. 109, 4058-4064; Nerbonne, J. M., Richard, S., Nargeot, J. and Lester, H. A. (1984), 「新規光活性環状ヌクレオチドは、環状AMPおよび環状GMP濃縮の際に細胞間ジャンプを生じる (New photoactivatable cyclic nucleotides produce intracellular jumps in cyclic AMP and cyclic GMP concentrations)」, Nature 301, 74-76; Neumann, J. M., Hervé, M., Debouzy, J. C., Guerra, F. I., Gouyette, C., Dupraz, B. and Huynh-Dinh, T. (1989), 「チミジンのグルコシルリン脂質の合成およびNMRによる膜間輸送の研究 (Synthesis and transmembrane transport studies by NMR of a glucosyl phospholipid of thymidine)」, J. Am. Chem. Soc. 111, 4270-4277; Ohno, R., Tatsumi, N., Hirano, M., Imai, K., Mizoguchi, H., Nakamura, T., Kosaka, M., Takatuski, K., Yamaya, T., Toyama, K., Yoshida, T., Masaoka, T., Hashimono, S., Ohshima, T., Kimura, I., Yamada, K. and Kimura, J. (1991), 「1-β-D-アラビノウラノシルシトシン・5'-ステアリルリン酸塩の経口投与での脊髄形成異常症候群の治療 (Treatment of myelodysplastic syndromes with orally administered 1-β-D-arabinouranosylcytosine-5'-stearylphosphate)」, Oncology 48, 451-455; Palomino, E., Kessle, D. and Horwitz, J. P. (1989), 「脳への2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの持続性送達のためのジヒドロピリジン担体システム (A dihydropyridine carrier system for sustained delivery of 2', 3'-dideoxynucleosides to the brain)」, J. Med. Chem. 32, 22-625; Perkins, R. M., Barney, S., Wittrock, R., Clark, P. H.

- , Levin, R., Lambert, D. M., Petteway, S. R., Serafinowska, H. T., Bailey, S. M., Jackson, S., Harnden, M. R., Ashton, R., Sutton, D., Harvey, J. J. and Brown, A. G. (1993), 「マウスにおけるラッシューマウス白血病ウイルス感染に対するBRL47927およびその経口プロドラッグ、SB203657Aの活性 (Activity of BRL47927 and its oral prodrug, SB203657A against a raucher murine leukemia virus infection in mice)」, Antiviral Res. 20 (Suppl. 1). 84; Piantadosi, C., Marasco, C. J., Jr., Norris-Natschke, S. L., Meyer, K. L., Gumus, F., Surlles, J. R., Ishaq, K. S., Kucera, L. S., Iyer, N., Wallen, C. A., Piantadosi, S. and Modest, E. J. (1991), 「新規エーテル脂質ヌクレオシドコンジュゲートの合成および抗HIV-1活性についての評価 (Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV-1 activity)」, J. Med. Chem. 34, 1408-1414; Pompon, A., Lefebvre, I., Imbach, J. L., Kahn, S. and Farquhar, D. (1994), 「細胞抽出物および組織培養液中のアジドチミジン-5'-リン酸モノ-およびビス (ピバロイルオキシメチル) エステルの分解経路; オンラインISRPクリーニングHPLC法の適用 (Decomposition pathways of the mono- and bis (pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine-5'-monophosphate in cell extract and in tissue culture medium; an application of the 'on-line ISRP-cleaning HPLC technique)」, Antiviral Chem Chemother. 5, 91-98; Postemark, T (1974), 「環状AMPおよび環状GMP (Cyclic AMP and cyclic GMP)」, Annu. Rev. Pharmacol. 14, 23-33; Prisbe, E. J., Martin, J. C. M., McGhee, D. P. C., Barker, M. F., Smeeth, D. F., Ducke, A. E., Matthews, T. R. and Verheyden, J. P. J. (1986), 「9-[(1,3-ジヒドロキシ-2-プロポキシ)メチル]グアニンのリン酸塩およびホスホン酸塩誘導体の合成および抗ヘルペスウイルス活性 (Synthesis and antiherpes virus activity of phosphate and phosphonate derivatives of 9-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)methyl]guanine)」, J. Med. Chem. 29, 671-675; Pucchi, F., Gosselin, G., Lefebvre, I., Pompon, A., Aubertin, A. M., Dirn, and Imbach, J. L. (1993), 「レダクターゼ媒介活性化法によるヌクレオシドリン酸塩の細胞内送達 (Intracellular delivery of nucleoside monophosphate through a reductase-mediated activation process)」, Antiviral Res. 22, 155-174; Pugaeva, V. P., Klochkeva, S. I., Mashbits, F. D. and Eizengart, R. S (1996), 「工場大気中の硫化エチレンについての毒性評価および健康基準評価 (Toxicological assessment and health standard ratings for ethylene sulfide in the industrial atmosphere)」, Gig. Trf. Prof. Zaboll. 14, 47-48 (Chem. Abstr. 72, 212); Robins, R. K. (1984), 「レトロウイルス

スおよび腫瘍の抑制剤としてのヌクレオチド類似体の可能性 (The potential of nucleotide analogs as inhibitors of Retro viruses and tumors)」、Pharm. Res. 11-18; Rosowsky, A., Kim, S. H., Ross and J. Wick, M. M. (1982), 「1- β -D-アラビノフラノシルシトシンの親油性5'- (アルキルリン酸) エステルならびにプロドラッグとしての可能性を秘めたそのN⁴-アシルおよび2, 2'-アンヒドロ-3'-O-アシル誘導体 (Lipophilic 5'- (alkylphosphate) esters of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine and its N⁴-acyl and 2, 2'-anhydro-3'-O-acyl derivatives as potential prodrugs)」、J. Med. Chem. 25, 171-178; Ross, W. (1996), 「グルコース前処理後に塩基性副鎖を有する芳香族ナイトロジェンマスタードに対する感受性が増大した歩行者用装備 (Increased sensitivity of the walker turnout towards aromatic nitrogen mustards carrying basic side chains following glucose pretreatment)」、Biochem. Pharm. 8, 235-240; Rye E. K., Ross, R. J., Matsushita, T., MacCoss, M., Hong, C. I. and West, C. R. (1982), 「リン脂質-ヌクレオシドコンジュゲート。3. 1- β -D-アラビノフラノシルシトシン5'-ニリン酸 [-], 2-ジアシルグリセロールの合成および生物学的予備評価 (Phospholipid-nucleoside conjugates. 3. Synthesis and preliminary biological evaluation of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine 5'-diphosphate [-], 2-diacylglycerols)」、J. Med. Chem. 25, 1322-1329; Saffhill, R. and Hume, W. J. (1986), 「異なる供給源からの血清による5-ヨードデオキシウリジンおよび5-ブロモエトキシウリジンの分解ならびにDNAへの組み込みにこれらの化合物を使用するためのその重要性 (The degradation of 5-iododeoxyuridine and 5-bromoethoxyuridine by serum from different sources and its consequences for the use of these compounds for incorporation into DNA)」、Chem. Biol. Interact. 57, 347-355; Saneyoshi, M., Morozumi, M., Kodama, K., Machida, J., Kunitaka, A. and Yoshino, H. (1980), 「ヌクレオシドおよびヌクレオチドの合成。XVI. 一連の1- β -D-アラビノフラノシルシトシン5'-アルキルまたはアリールリン酸塩の合成および生物学的評価 (Synthesis nucleosides and nucleotides. XVI. Synthesis and biological evaluations of a series of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine 5'-alkyl or arylphosphates)」、Chem. Pharm. Bull. 28, 2915-2923; Sastry, J. K., Nehete, P. N., Khan, S., Nowak, B. J., Plunkett, W., Arlinghaus, R. B. and Farquhar, D. (1992), 「膜透過性ジデオキシウリジン5'-リン酸塩類似体は、ヒト免疫不全ウイルス感染を抑制する (Membrane-permeable dideoxyuridine 5'-monophosphate analogue inhibits human immunodeficiency virus infection)」、Mol. Pharmacol. 41, 441-445; Shaw, J. P., Jones, R. J., Arimilli, M. N., Louie, M. S., Lee, W. A. and Cundy, K. C. (19

94), 「雄 Sprague-Dawley ラットにおける PMA プロドラッグからの PMEA の経口バイオアベイラビリティ (Oral bioavailability of PMEA from PMEA prodrugs in male Sprague-Dawley rats)」, 9th Annual AAPS Meeting, San Diego, CA (abstract); Shutō, S., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K., Matsuda, A. and Ueda, T. (1987), 「酵素性二層反応による 5'-ホスファチジルヌクレオシドの簡便一段合成 (A Facile one-step synthesis of 5'-Phosphatidyl nucleosides by an enzymatic two-phase reaction)」, Tetrahedron Lett. 28, 199-202; Shutō, S., Itoh, H., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. and Ueda, T. (1998) Pharm. Bull. 36, 209-217。有用なリン酸塩プロドラッグ基の例は、S-アシル-2-チオエチル基 (「SATE」とも呼ばれる) である。

【0182】

IV. HIV または HBV のための併用および交代療法

HIV および HBV の薬物耐性変種が、抗ウイルス薬での長期治療後に出現することは、認知されている。薬物耐性は、最も典型的には、ウイルス複製に用いられる酵素をコードしている遺伝子の突然変異によって発生し、前記酵素は、最も典型的には、HIV の場合、逆転写酵素、プロテアーゼまたは DNA ポリメラーゼであり、HBV の場合には、DNA ポリメラーゼである。最近、主薬によってもたらされる異なる突然変異形を誘導する第二の、およびことによると第三の抗ウイルス化合物と併用または交代でその化合物を投与することによって、HIV 感染に対する薬物の効力を持続、増大または再生できることが、証明された。選択的に、そうした併用または交代療法によって、薬物の薬物動態、生体内分布または他のパラメータを変化させることができる。一般に、併用療法は、ウイルスに対して同時に複数のストレスを誘導するため、典型的には交代療法より好ましい。

【0183】

一つの実施形態において、HIV 治療用の第二の抗ウイルス薬は、逆転写酵素阻害剤 (「RTI」) でありうる、これは、合成ヌクレオシド化合物 (「NRTI」) であってもよいし、非ヌクレオシド化合物 (「NNRTI」) であってもよい。別の実施形態において、HIV の場合、第二 (または第三) の抗ウイルス薬は、プロテアーゼ阻害剤でありうる。他の実施形態において、第二 (または第三) の化合物は、ピロリン酸塩類似体、すなわち、融合結合型阻害剤でありうる。多数の抗ウイルス化合物に関するインビトロおよびインビボで収集された耐性データを集めたリストは、Schinazi ら, 「薬物耐性を随伴するレトロウイルス遺伝の突然変異 (Mutation in retroviral gene associated with drug resistance)」, International Antiviral News, 1997 において見出すことができる。

【0184】

HBV の治療のための併用または交代療法に好ましい化合物には、3TC、FTC、L-FMAU、インターフェロン、 β -D-ジオキソラニル-グアニン (DXG)、 β -D-ジオキソラニル-2, 6-ジアミノプリン (DAPD)、および β -D-ジオキソラニル-6-クロロプリン (ACP)、ファミシクロビル、ペンシクロビル、BMS-200475、ビスボムPMEA (アデホビル、ジピボキシル); ロブカビル、ガンシクロビル、およびリババリンが挙げられる。

【0185】

HIV 治療のために本明細書中で開示されている化合物と併用または交代で用いることができる抗ウイルス薬の好ましい例には、cis-2-ヒドロキシメチル-5- (5-フルオロシトシン-1-イル)-1, 3-オキサチオラン (FTC); 2-ヒドロキシメチル

－5－（シトシン－1－イル）－1，3－オキサチオラン（3TC）の（－）－エナンチオマー；カルボビル、アシクロビル、ホスカルネット、インターフェロン、AZT、DDI、DDC、D4C、CS－87（3’－アジド－2’，3’－ジデオキシ－ウリジン）、およびβ－D－ジオキソラニル－グアニン（DXG）、β－D－ジオキソラニル－2，6－ジアミノプリン（DAPD）およびβ－D－ジオキソラニル－6－クロロプリン（ACP）などのβ－D－ジオキソランヌクレオシド、MKC－442（6－ベンジル－1－（エトキシメチル）－5－イソプロピルウラシル）が挙げられる。

【0186】

好ましいプロテアーゼ阻害剤には、クリキシバン（Merck）、ネルフィナビル（Agouron）、リトナビル（Abbott）、サキナビル（Roche）、DMP－226（Sustiva）およびDMP－450（DuPont Merck）が挙げられる。

【0187】

開示されているヌクレオシドのいずれかと併用または交代で投与することができる化合物のさらに包括的なリストには、コハク酸（1S，4R）－4－[2－アミノ－6－クロロプロピル－アミノ）－9H－プリン－9－イル]－2－シクロペンテン－1－メタノール（「1592」、カルボビル類似体；GlaxoWellcome）；3TC：（－）－β－L－2’，3’－ジデオキシ－3’－チアシチジン（GlaxoWellcome）；a－APA R18893：a－ニトロ－アニリン－フェニルアセトアミド；A－77003；C2不斉系プロテアーゼ阻害剤（Abbott）；A－75925：C2不斉系プロテアーゼ阻害剤（Abbott）；AAP－BHAP：ビスヘテロアリアルピペラジン類似体（Upjohn）；ABT－538：C2不斉系プロテアーゼ阻害剤（Abbott）；AzddU：3’－アジド－2’，3’－ジデオキシウリジン；AZT：3’－アジド－3’－デオキシチミジン（GlaxoWellcome）；AZT－p－ddI：3’－アジド－3’－デオキシチミジリル－（5’，5’）－2’，3’－ジデオキシイノシン酸（Ivax）；BHAP：ビスヘテロアリアルピペラジン；BILA 1906：N－{1S－[[[3－[2S－{（1，1－ジメチルエチル）アミノ]カルボニル}－4R]－3－ピリジニルメチル）チオ]－1－ピペリジニル]－2R－ヒドロキシ－1S－（フェニルメチル）－プロピル]アミノ]－カルボニル]－2－メチルプロピル}－2－キノリンカルボキサミド（Bio Mega/Boehringer－Ingelheim）；BILA 2185：N－（1，1－ジメチルエチル）－1－[2S－[[2－2，6－ジメチルフェノキシ）－1－オキソエチル]アミノ]－2R－ヒドロキシ－4－フェニルブチル]4R－ピリジニルチオ）－2－ピペリジニルカルボキサミド（Bio Mega/Boehringer－Ingelheim）；BM+51.0836：チアゾロイソインドリノン誘導体；BMS 186，318：アミノジオール誘導体HIV－1プロテアーゼ阻害剤（Bristol－Myers－Squibb）；d4API：9－[2，5－ジヒドロ－5－（ホスホノメトキシ）－2－フラネル]アデニン（Gilead）；d4C：2’，3’－ジデヒドロ－2’，3’－ジデオキシシチジン；d4T：2’，3’－ジデヒドロ－3’－デオキシチミジン（Bristol－Myers－Squibb）；ddC：2’，3’－ジデヒドロシチジン（Roche）；ddI：2’，3’－ジデヒドロイノシン（Bristol－Myers－Squibb）；DMP－266：1，4－ジヒドロ－2H－3，1－ベンズオキサジン－2－オン；DMP－450：{[4R－（4－a，5－a，6－b，7－b）]－ヘキサヒドロ－5，6－ビス（ヒドロキシ）－1，3－ビス（3－アミノ）フェニル]－メチル）－4，7－ビス（フェニルメチル）－2H－1，3－ジアゼピン－2－オン}－ビスメシレート（Avid）；DXG：（－）－β－D－ジオキソラン－グアノシン（Triangle）；EBU－dM：5－エチル－1－エトキシメチル－6－（3，5－ジメチルベンジル）－ウラシル；E－EBU：5－エチル－1－エトキシメチル－6－ベンジルウラシル；DS：硫酸デキストラン；E－EPSeU：1－（エトキシメチル）－（6－フェニルセレニル）－5－エチルウラシル；E－EPU：1－（エトキシメチル）－（6－フェニルチオ）－5－

エチルウラシル；FTC： β -2', 3'-ジデオキシ-5-フルオロ-3'-チアシチジン (Triangle)；HBY097：S-4-イソプロポキシカルボニル-6-メトキシ-3-(メチルチオ-メチル)-3, 4-ジヒドロキノキサニル-2 (1H)-チオン；HEPT：1-[(2-ヒドロキシエトキシ)メチル]-6-(フェニルチオ)チミン；HIV-1：ヒト免疫不全ウイルス1型；JM2763：1, 1'-(1, 3-プロパンジイル)-ビス-1, 4, 8, 11-テトラアザシクロテトラデカン (Johnson Matthey)；JM3100：1, 1'-[1, 4-フェニレンビス-(メチレン)]-ビス-1, 4, 8, 11-テトラアザシクロテトラデカン (Johnson Matthey)；KNI-272：(2S, 3S)-3-アミノ-2-ヒドロキシ-4-フェニル酪酸含有トリペプチド；L-697, 593；5-エチル-6-メチル-3-(2-フタルイミド-エチル)ピリジン-2 (1H)-オン；L-735, 524：ヒドロキシ-アミノ-ペンタンアミドHIV-1プロテアーゼ阻害剤 (Merck)；L-697, 661；3-{ [(-4, 7-ジクロロ-1, 3-ベンゾオキサゾール-2-イル)メチル]アミノ}-5-エチル-6-メチルピリジン-2 (1H)-オン；L-FDDC：(-)- β -L-5-フルオロ-2', 3'-ジデオキシシチジン；L-FDOC：(-)- β -L-5-フルオロ-ジデオキシランシトシン；MKC442：6-ベンジル-1-エトキシメチル-5-イソプロピルウラシル (IEBU；Triangle/Mitsubishi)；Nevirapine：11-シクロプロピル-5, 11-ジヒドロ-4-メチル-6H-ジピリドール-[3, 2-b:2', 3'-e]-ジアゼピン-6-オン (Boehringer-Ingelheim)；NSC648400：1-ベンジルオキシメチル-5-エチル-6-(α -ピリジルチオ)ウラシル (EBPTU)；P9941：[2-ピリジルアセチル-IlePheAla-y (CHOH)]₂ (Dupont Merck)；PFA：ホスホノホルメート (foscarnet；Astra)；PMEA：9-(2-ホスホニルメトキシエチル)アデニン (Gilead)；PMPA：(R)-9-(2-ホスホニルメトキシプロピル)アデニン (Gilead)；Ro31-8959：ヒドロキシエチルアミン誘導体HIV-1プロテアーゼ阻害剤 (Roche)；RPI-312：ペプチジルプロテアーゼ阻害剤、1-[(3s)-3-(n- α -ベンジルオキシカルボニル)-1-アスパラギニル]-アミノ-2-ヒドロキシ-4-フェニルブチリル]-n- α -ブチル-1-プロリンアミド；2720：6-クロロ-3, 3-ジメチル-4-(イソプロペニルオキシカルボニル)-3, 4-ジヒドロキノキサリン-2-(1H)-チオン；SC-52151：ヒドロキシエチル尿素同配体プロテアーゼ阻害剤 (Searle)；SC-55389A：ヒドロキシエチル尿素同配体プロテアーゼ阻害剤 (Searle)；TIBO R82150：(+)- (5S)-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-5-メチル-6-(3-メチル-2-ブテニル)イミダゾ [4, 5, 1-jk] [1, 4]-ベンゾジアゼピン-2 (1H)-チオン (Janssen)；TIBO 82913：(+)- (5S)-4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-9-クロロ-5-メチル-6-(3-メチル-2-ブテニル)イミダゾ [4, 5, 1-jk]-[1, 4]-ベンゾジアゼピン-2 (1H)-チオン (Janssen)；TSAO-m3T：[2', 5'-ビス-O-(α -ブチルジメチルシリル)-3'-スピロ-5'-(4'-アミノ-1', 2'-オキサチオール-2', 2'-ジオキシド)]- β -D-ペントフラノシル-N3-メチルチミン；U90152：1-[3-[(1-メチルエチル)-アミノ]-2-ピリジニル]-4-[[5-[(メチルスルホニル)-アミノ]-1H-インドール-2-イル]カルボニル]ピペラジン；UC：チオカルボキシアニリド誘導体 (Uniroyal)；UC-781：N-[4-クロロ-3-(3-メチル-2-ブテニルオキシ)フェニル]-2-メチル-3-フラノカルボチオアミド；UC-82：N-[4-クロロ-3-(3-メチル-2-ブテニルオキシ)フェニル]-2-メチル-3-チオフエンカルボチオアミド；VB 11, 328：ヒドロキシエチルスルホンアミドプロテアーゼ阻害剤 (Vertex)；VX-478：ヒドロキシエチルスルホンアミドプロテアーゼ阻害剤 (Vertex)；XM 323：環状尿素プロテアーゼ阻害剤 (Dupont Merck)が含まれる。

【0188】

本活性化化合物は、リババリン、インターフェロン、インターロイキンまたはそれらいずれかの安定化プロドラッグと併用または交代で投与することもできる。さらに広く説明すると、本化合物は、下に挙げる薬物のいずれかと併用または交代で投与することができる。

【0189】

【表1】

現在臨床開発中のC型肝炎薬の表

薬物名	薬物のカテゴリー	製薬会社
PEGASYS ペギル化インターフェロンアルファ2a	長時間作用性インターフェロン	Roche
INGERGEN インターフェロンアルファ con-1	インターフェロン、長時間作用性インターフェロン	InterMune
OMINIFERON 天然インターフェロン	インターフェロン、長時間作用性インターフェロン	Viragen
ALBUFERON	長時間作用性インターフェロン	Human Genome Sciences
REBIF エロンベータ1a	インターフェロン	Ares-Serono
オメガインターフェロン	インターフェロン	BioMedicine
オーラルインターフェロンアルファ	経口用インターフェロン	Amarillo Biosciences
インターフェロニン1b	抗繊維症性	InterMune
インターロイキン-10	抗繊維症性	Schering-Plough
IP-501	抗繊維症性	Interneuron
Merimebodib VX-497	IMPDH 阻害剤(イノシン酸デヒドロゲナーゼ)	Vertex
AMANTADINE(シメトリル)	広域抗ウイルス薬	Endo Labs Solvay
HEPTAZYME	リボザイムを用いる RNA 阻害剤	RPI
IDN-6556	アポアポトーシス調節	Idun Pharma
XTL-002	モノクローナル抗体	XTL
HCV/MF59	ワクチン	Chiron
CIVACIR	モノクローナル抗体	NABI
	治療用ワクチン	Innogenetics
LEVOVIRIN	ヌクレオチド類似体	ICN
VIRAMIDINE	ヌクレオチド類似体	ICN
ZADAXIN(チロシンアルファ-1)	免疫調節薬	Sci Clone
CEPLENE 二塩酸ヒスタミン	免疫調節薬	Maxim
VX950/LY570310	プロテアーゼ阻害剤	Vertex/Eli Lilly
ISIS 14803	アンチセンス	Isis Pharmaceutical Elan
IDN-6556	キヌリン阻害剤	Idun Pharmaceuticals, Inc. http://www.idun.com
JTL 003	ポリメラーゼ阻害剤	AKROS Pharma

10

20

30

【0190】

V. 増殖状態の治療のための併用療法

もう一つの実施形態において、本化合物は、抗増殖薬として用いられる時、治療の有効性を増す別の化合物と併用で投与することができる。こうした別の化合物には、抗葉酸剤、5-フルオロピリミジン（5-フルオロウラシルを含む）、 β -L-1, 3-ジオキサニルシチジンまたは β -L-1, 3-ジオキサニル5-フルオロシチジンなどのシチジン類似体、代謝拮抗物質（プリン代謝拮抗物質、シタラビン、フダラビン、フロキシウリジン、6-メルカプトプリン、メトトレキサートおよび6-チオグアニンを含む）、ヒドロキシル尿素、分裂阻害剤（CPT-11、Etoposide（VP-21）、タキソール、ならびにビンクリスチンおよびビンブラスチンなどのビンカアルカロイドを含む）、アルキル化剤（ブスルファン、クロラムブシル、シクロホスファミド、イホファミド、メクロレタミン、メルファランおよびチオテパを含むが、これらに限定されない）、非古典的アルキル化剤、白金含有化合物、ブレオマイシン、抗腫瘍性抗生物質、アントラサイクリン（ドキソルビシンおよびダンノマイシンなど）、アントラセンジオン、トポイソメラーゼ II 型阻害剤、ホルモン薬 [コルチコステロイド（デキサメタゾン、プレドニゾンおよ

40

50

びメチルプレドニゾン)、アンドロゲン(フルオキシメステロンおよびメチルテストステロンなど)、エストロゲン(ジェチルスチルベストロールなど)、抗エストロゲン(タモキシフェンなど)、LHRH類似体(ロイプロリドなど)、抗アンドロゲン(フルタミドなど)、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール、およびメドロキシプロゲステロンを含むが、これらに限定されない]、アスパラギナーゼ、カルムスチン、ロムスチン、ヘキサメチルメラニン、ダカルバジン、ミトーテン、ストレプトゾシン、シスプラチン、カルボプラチン、レバミゾール、およびロイコボリンが挙げられるが、これらに限定されない。本発明の化合物は、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子、マクロファージコロニー刺激因子およびコロニー刺激因子などの酵素治療薬および免疫系調節薬と併用することもできる。

10

【0191】

V I . 活性化化合物の調製法

A. β -3'-ハロ-2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジデヒドロヌクレオシドの調製方法

グリセルアルデヒドから

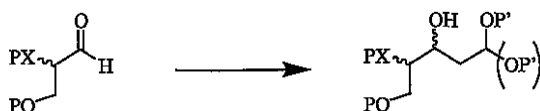
この方法に重要な出発原料は、適切に保護されたD-またはL-グリセルアルデヒドである。D-またはL-グリセルアルデヒド、またはその硫黄類似体は、購入することができる。これを、その後、標準的なケトンを用いて保護することができる。一つの実施形態において、前記D-もしくはL-グリセルアルデヒド、またはその硫黄類似体は、Green 20
e r , P r o t e c t i v e G r o u p i n O r g a n i c S y n t h e s i s , J o h n W i l e y a n d S o n s , 第2版, 1991に教示されているようにアセトンを用いて保護される。

【0192】

その後、下に示すようeに、前記保護グリセルアルデヒドまたはその硫黄類似体を、適切に保護されている求核アセトアルデヒド、例えば、適切に保護されている有機金属試薬と結合させて、アルコールを得ることができる。この有機金属試薬は、リチウム、銅またはマグネシウムなどのいずれかの実行可能な金属(しかし、最も好ましくはマグネシウム)から誘導することができる。好ましい実施形態において、適切に保護された求核アセトアルデヒドは、臭化(1, 3-ジオキソラン-2-イルメチル)-マグネシウムである。

【0193】

【化40】



30

【0194】

必要な温度を達成することができ、反応成分を可溶化することができるあらゆる反応溶媒を選択することができる。非限定的な例は、ヘキサンおよびシクロヘキサンなどのアルキル溶媒、トルエン、アセトン、酢酸エチル、ジチアン、THF、ジオキサン、アセトニトリル、ジクロロメタン、ジクロロエタン、ジェチルエーテル、ピリジン、ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ジメチルアセトアミドまたはそれらのあらゆる組合せを含む(しかし、これらに限定されない)いずれかの非プロトン性溶媒であり、好ましくは、無水THFである。

40

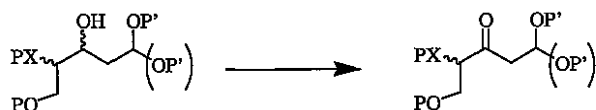
【0195】

結合反応は、望ましい結果を達成するあらゆる温度、すなわち、分解の促進または過剰な副生成物を伴うことなく許容されうる速度で反応が進行するために適するあらゆる温度で行うことができる。好ましい温度は、THFを用いた還流状態である。

【0196】

【化41】

50



【0197】

その後、その結合生成物を、当業者に知られている第二アルコールをケトンに酸化するいずれかの酸化法を用いて、適切なケトンに酸化することができる。適する酸化方法論の例には、クロメート酸化、マンガネートおよび過マンガネート酸化、ジョーンズ試薬での酸化、コリン試薬での酸化、コーリー試薬での酸化、オペナウアー酸化およびスウェルン酸化が挙げられるが、好ましくは、温和な条件のスウェルン酸化を用いる。

10

【0198】

【化42】



【0199】

二ハロゲン化に適する当技術分野において知られているいずれかのハロゲン化試薬を用いて、ケトンハロゲン化することができる。特定の実施形態では、フッ素化生成物が望ましく、従って、三フッ化（ジエチルアミノ）硫黄（DAST）を用いてフッ素化を達成することができる。ハロゲン化後、化合物を選択的に脱保護することができる。

20

【0200】

【化43】



【0201】

選択的脱保護は、Greeneら、Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, 第2版, 1991において教示されているものを含む、当技術分野において知られているいずれかの手段を用いて達成することができる。例えば、XがOである時には、脱保護された第一ヒドロキシルは、Greeneら、Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, 第2版, 1991において教示されているように、温和な条件を用いて、第二ヒドロキシルで選択的に再び保護することができる。

30

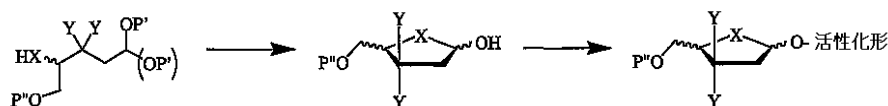
【0202】

その選択的に保護された生成物を、酸性条件下で環化し（すなわち、アルデヒドを脱保護し、第二アルコールと結合させ）、場合によっては、その後、得られた第二アルコールを活性化することができる。例えば、HClの1M溶液、続いて濃硫酸、および無水酢酸を伴う酢酸の処理は、化合物を環化し、得られたアルコールを活性化してアセテートにするために充分である。

40

【0203】

【化44】



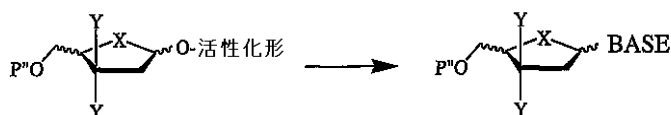
50

【0204】

その活性化された環化生成物を、その後、当技術分野において知られているいずれかの手段を用いて、プリンまたはピリミジン塩基に結合させて、保護された β -Dまたは β -L-3', 3'-ジハロヌクレオシドを得ることができる。例えば、好ましくは塩基のシリル化によって活性化されたプリンまたはピリミジン塩基を、四塩化スズおよび四塩化チタンなどのルイス酸、またはトリメチルシリルトリフレートを用いて、その環に結合させる。

【0205】

【化45】



10

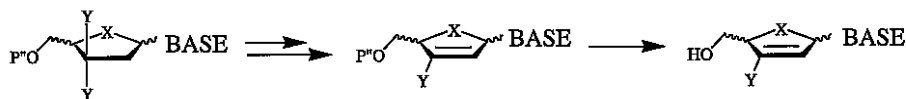
【0206】

次に、前記 β -Dまたは β -L-3', 3'-ジハロヌクレオシドを、当技術分野において知られているいずれかの方法によって、場合によっては脱保護することができ、その後、ハロゲンのうちの一つを当技術分野において知られている、または本明細書中、実施例に開示されているいずれかの手段によって脱離させて、所望の β -2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジデヒドロハロヌクレオシドを得ることができる。最終的に、当技術分野において知られているいずれかの手段によって、その5'-ヒドロキシルを脱保護することができる。

20

【0207】

【化46】



【0208】

糖環から

この方法に重要な出発原料は、適切に保護された5-炭素D-またはL-糖環、またはその硫黄類似体である。前記D-またはL-糖、またはその硫黄類似体は、ピラノースまたはフラノース、好ましくはフラノースとして購入することができる。しかし、糖がピラノースである場合、Maら, J. Med. Chem. 1996, 39 (14), 2835およびCooperwoodら, Nucleosides Nucleotides 2000, 19 (1 & 2), 219に教示されているように、その4'および5'を選択的に保護して、フラノースを得ることができる。

30

【0209】

【化47】



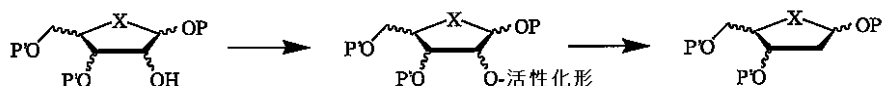
40

【0210】

その後、前記保護フラノース、またはその硫黄類似体を活性化して、活性化ヒドロキシルを生じることができ、これは、その後、脱離させることができる。

【0211】

【化48】



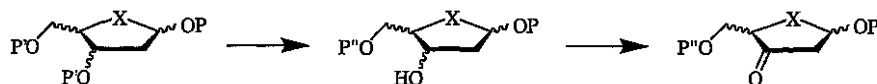
【0212】

その後、前記デヒドロ生成物を選択的に脱保護して、遊離第二ヒドロキシルを得ることができ、これを、その後、当業者に知られている第二アルコールをケトンに酸化するいずれかの酸化法を用いて適切なケトンに酸化することができる。適する酸化方法論の例には、クロメート酸化、マンガネートおよび過マンガネート酸化、ジョーンズ試薬での酸化、コリン試薬での酸化、コーリー試薬での酸化、オペナウアー酸化およびスウェルン酸化が挙げられるが、好ましくは、無水クロムを用いる。

10

【0213】

【化49】



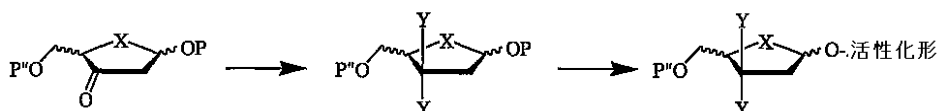
【0214】

前記ケトンは、二ハロゲン化に適する当技術分野において知られているいずれかのハロゲン化剤を用いて、ハロゲン化することができる。特定の実施形態では、フッ素化生成物が望ましく、従って、フッ素化は、DASTを用いて達成することができる。ハロゲン化後、化合物を選択的に脱保護し、好ましくは一反応釜で活性化する。

20

【0215】

【化50】



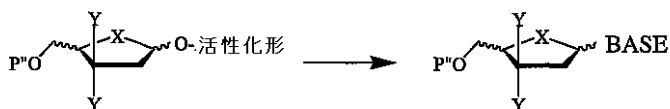
【0216】

その後、当技術分野において知られている手段を用いて、前記活性化環化生成物をプリンまたはピリミジン塩基に結合させて、保護β-Dまたはβ-L-3', 3'-ジハロヌクレオシドを得ることができる。例えば、好ましくは塩基のシリル化によって活性化されたプリンまたはピリミジン塩基を、四塩化スズおよび四塩化チタンなどのルイス酸、またはトリメチルシリルトリフレートを用いて、その環に結合させる。

30

【0217】

【化51】



40

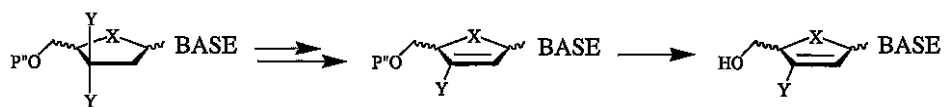
【0218】

その後、前記β-Dまたはβ-L-3', 3'-ジハロヌクレオシドを当技術分野において知られているいずれかの手段によって、場合によっては保護し、その後、当技術分野において知られている、または本明細書中、実施例に開示されているいずれかの手段によって、ハロゲンのうちの一つを脱離させて、所望のβ-2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジデヒドロハロヌクレオシドを得ることができる。最終的に、当技術分野において知られているいずれかの手段によって、その5'-ヒドロキシルを脱保護することができる。

【0219】

50

【化 5 2】



【0 2 2 0】

B. β -3'-ハロヌクレオシドの調製方法

ラクトールから

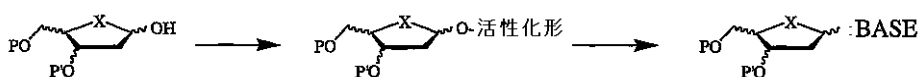
この方法に重要な出発原料は、適切に保護されたD-またはL-ラクトールである。前記D-またはL-ラクトールは、購入することができ、または当技術分野において知られているいずれかの手段によって製造することができる。一つの実施形態では、チオラクトールが望ましく、これは、Secrist III, J. A.; Tiwari, K. N.; Riordan, J. M.; Montgomery, J. A., 「2'-デオキシ-4-チオピリジンヌクレオシドの合成および生物活性 (Synthesis and biological activity of 2'-deoxy-4-thio pyrimidine nucleosides)」, J. Med. Chem. 1991, 34, 2361-2366; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A.; Secrist III, J. A., 「1-(2-デオキシ-4-チオ- α -L-トレオ-ペンタフラノシル)チミンの合成および生物活性 (The synthesis and biological activity of 1-(2-deoxy-4-thio- α -L-threo-pentofuranosyl) thymine)」, Nucleosides & Nucleotides, 1993, 12 (8), 841-846 が記載しているプロトコルを用いて、製造することができる。

【0 2 2 1】

その後、ラクトールを活性化し、当技術分野において知られているいずれかの手段を用いて、プリンまたはピリミジン塩基に結合させて、保護 β -Dまたは β -L-3', 3'-ジハロヌクレオシドを得ることができる。例えば、好ましくは塩基のシリル化によって活性化されたプリンまたはピリミジン塩基を、四塩化スズおよび四塩化チタンなどのルイス酸、またはトリメチルシリルトリフレートを用いて、その環に結合させる。

【0 2 2 2】

【化 5 3】

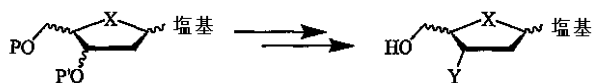


【0 2 2 3】

その後、前記 β -Dまたは β -Lヌクレオシドを場合によって脱保護することができ、また、その第二アルコールを、当技術分野において知られているいずれかの手段または本発明に記載の方法論によって、適切なハロゲンで置換することができる。

【0 2 2 4】

【化 5 4】



【0 2 2 5】

C. β -2'-ハロ-2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジデヒドロチオヌクレオシドの調製方法

グリセルアルデヒドから

この方法に重要な出発原料は、適切に保護されたD-またはL-グリセルアルデヒドであ

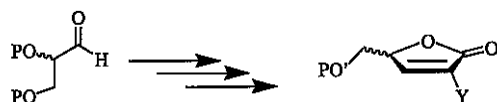
る。前記D-またはL-ラクトールは、購入することができ、これを、その後、標準的なケトンを用いて保護することができる。一つの実施形態において、前記D-またはL-グリセルアルデヒドは、Greeneら, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, 第2版, 1991において教示されているようにアセトンを用いて保護される。

【0226】

その後、前記保護グリセルアルデヒドを、当技術分野においてよく知られている手段または本明細書に開示されている方法によって結合および環化することができる。例えば、環化化合物は、Chong, Y.; Gumina, G.; Chu, C. K., *Tetrahedron Asymmetry*, 2000, 11, 4853-4875に記載されている手順に従って、製造することができる。

【0227】

【化55】

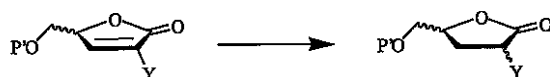


【0228】

その後、当技術分野において知られているいずれかの還元剤を用いて、前記環化生成物を選択的に還元して、2', 3'-ヒドロ生成物を得ることができる。例えば、炭素担持パラジウムを用いて、ラク톤を選択的に還元することができる。

【0229】

【化56】

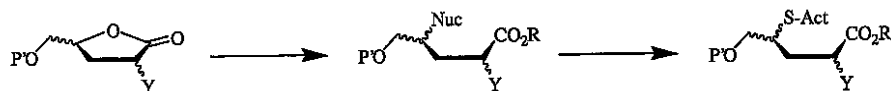


【0230】

その後、例えば、トリフェニルホスフィンおよびイミダゾールの存在下、ヨウ素での、ラク톤の4'位に対する選択的求核攻撃によって、前記還元生成物を脱環化することができる。その後、その求核因子は、当技術分野において知られている簡単な置換反応によって、求核性硫黄、好ましくは、KSAcなどの硫化物で置換することができる。

【0231】

【化57】



【0232】

得られた活性化エステルは、その後、酸無水物などで場合によっては活性化された、DIBAL-Hなどの当技術分野において知られている実行可能な還元剤を用いて還元して、アシル部分（例えば、無水酢酸を用いて）を得、環化して、チオラク톤を得ることができる。

【0233】

【化58】

10

20

30

40



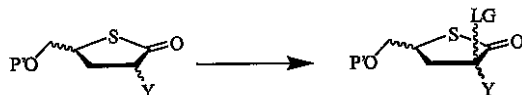
【0234】

その後、前記チオラクトンを、LiHMDSなどの強塩基でエノール化し、簡単な操作で溶離に脱離させることができる求電子試薬(LG)に結合させる。こうした部分には、フェニルセレンおよび硫化フェニルが挙げられる。

【0235】

10

【化59】



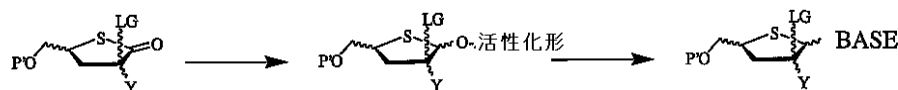
【0236】

その後、前記チオラクトンを酸無水物などで場合によっては活性化されたDIBAL-Hなどの当技術分野において知られているいずれかの還元剤で還元して、アシル部分(例えば、無水酢酸を用いて)を得、当技術分野において知られているいずれかの手段を用いてプリンまたはピリミジン塩基に結合させて、保護β-Dまたはβ-L-3', 3'-ジハロヌクレオシドを得ることができる。例えば、好ましくは塩基のシリル化によって活性化されたプリンまたはピリミジン塩基を、四塩化スズおよび四塩化チタンなどのルイス酸、またはトリメチルシリルトリフレートを用いて、その環に結合させる。

20

【0237】

【化60】



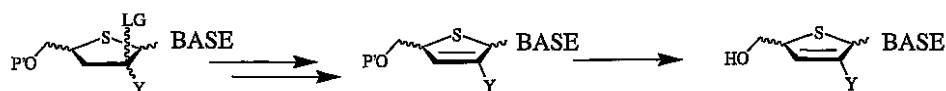
【0238】

30

チオラクトンを塩基に結合させた後、LGを操作し、すなわち、フェニルセレンの場合には、mCPBAなどの酸化剤で酸化し、脱離させて、保護β-2'ハロ-2', 3'-ジデオキシ-2', 3'-ジデヒドロチオヌクレオシドを得、これを、当技術分野において知られているいずれかの手段によって、場合によっては脱保護することができる。

【0239】

【化61】



40

【0240】

グルタミン酸から

この方法に重要な出発原料は、適切に保護されたD-またはL-グルタミン酸である。前記D-またはL-グルタミン酸は、購入することができ、その後、これを、当技術分野においてよく知られている手段によってチオ誘導体に転化させる。こうしたプロトコルの例は、Cervinka, O.; Hub, L., 「不斉反応. XXVII. γ-ブチロラクトン-γ-カルボン酸およびγ-バレロラクトン-γ-カルボン酸の絶対配置 (Asymmetric reactions. XXVII. Absolute configurations of γ-butyrolactone-γ-carboxylic acid and γ-valerolactone-γ-carboxylic acid

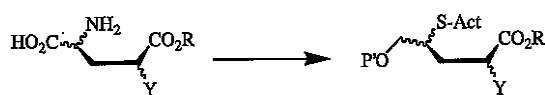
50

id)」, Collect. Czech. Chem. Commun. 1968, 33, 2927-2932; Hanessian, S.; Murray, P. J., 「天然生合成経路の立体化学的制御：単一キラルプロジェニターからポリプロピオン酸塩由来の構造を合成するための一般戦略 (Stereochemical control of nature's biosynthetic pathways: A general strategy for the synthesis of polypropionate-derived structural units from a single chiral progenitor)」, Tetrahedron 1987, 43, 5055-5072; Secrist III, J. A.; Riggs, R. H.; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A., 「4'-チオ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの合成および抗HIV活性 (Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2', 3'-dideoxynucleosides)」, J. Med. Chem. 1992, 35, 533-538である。

10

【0241】

【化62】



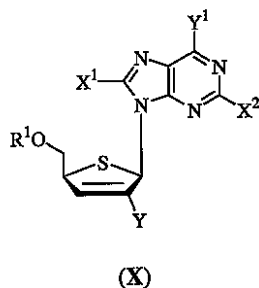
20

【0242】

本発明の特定の副次的実施形態において、 β -D-または β -L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法は、下記式(X)：

【0243】

【化63】



30

(式中、 R^1 、Y、 X^1 、 X^2 および Y^1 は、上で定義したとおりである) の β -D-または β -L-2'-ハロ-4'-チオプリン、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグの調製法である。

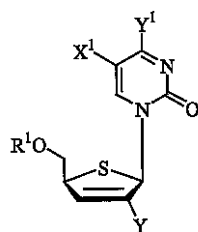
【0244】

本発明のもう一つの副次的実施形態において、 β -D-または β -L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法は、下記式(XI)：

40

【0245】

【化64】



(XI)

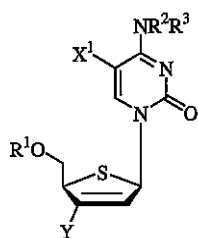
(式中、 R^1 、 Y 、 X^1 および Y^1 は、上で定義したとおりである) 10
 の β -D-または β -L-2'-ハロ-4'-チオピリミジン、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグの調製法である。

【0246】

特定の副次的実施形態において、 β -D-または β -L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシドの調製法は、下記式 (XII) :

【0247】

【化65】



(XII)

(式中、 R^1 、 X 、 Y 、 X^1 、 R^2 および R^3 は、上で定義したとおりである) 20
 の β -D-または β -L-2'-ハロ-4'-チオヌクレオシド、またはそのエナンチオマー、またはその医薬適合性の塩もしくはプロドラッグの調製法である。

【0248】

好ましい実施形態において、式 (IX) から (XII) の化合物に関する Y は、 F である。 30

【0249】

別の好ましい実施形態において、式 (IX) から (XII) の化合物に関する Y は、 F である。

【0250】

上に示した β -ハロヌクレオシドは、 β -D 立体配置であるが、これらの β -ハロヌクレオシドが β -L 立体配置、 β -D 立体配置のいずれであってもよいことは、ご理解いただ

【0251】

本発明の一つの実施形態において、式 (IX) から (XII) の化合物は、 β -D 立体配置である。本発明の別の実施形態において、式 (IX) から (XII) の化合物は、 β -L 立体配置である。 40

【0252】

本発明の方法をさらに理解するために以下の操作実施例を提供する。これらの実施例は、説明のためのものであり、本発明の範囲を制限する意味は持たない。本合成法の一般的な範囲を逸脱することなく、本明細書に記載する特定の溶媒、試薬または反応条件を、同等の、類似のまたは適する溶媒、試薬または反応条件に換えることができる。

【0253】

実施例

融点は、Mel-temp II 装置で測定し、未補正である。NMRスペクトルは、TMSを初期標準物質として、 ^1H NMRについては400MHzで、 ^{13}C NMRについては100MHzで、Bruker 400 AMX スペクトロメータを用いて記録した。化学シフト (δ) は、百万分率 (ppm) で報告し、シグナルは、s (一重線)、d (二重線)、t (三重線)、q (四重線)、m (多重線)、またはbs (広い一重線) として報告する。IRスペクトルは、Nicolet 510P FT-IRスペクトロメータを用いて測定した。質量スペクトルは、Micromass Autospec 高分解能質量スペクトロメータで記録した。TLCは、Analtech Co. から購入したUniplate (シリカゲル) を用いて行った。カラムクロマトグラフィーは、フラッシュクロマトグラフィーについてはシリカゲルー60 (220メッシュから440メッシュ) を用い、または真空フラッシュカラムクロマトグラフィーについてはシリカゲルG (TLCグレード、>440メッシュ) を用い、行った。UVスペクトルは、Beckman DU 650分光光度計を用いて得た。元素分析は、Atlantic Microlab, Inc., Norcross, GA、またはGalbraith Laboratories, Inc., Knoxville, TNが行った。HPLCは、Model 600コントローラ、Model 996光ダイオードアレー探知機およびModel 717プラス自動型サンプラーを装備したWaters HPLC システム (Millipore Corporation, Milford, MA) で行った。Millennium 2010 ソフトウェアを、システム制御、データ収集および処理のために用いた。旋光度の測定には、キラライザー旋光検出器、Perkin-Elmer Model 241MC旋光計 (Wilton, CT) を用いた。

【実施例1】

【0254】

1-[(S)-2, 2-ジメチル-(1, 3)-ジオキソラン-4-イル]-4-(1, 3-ジオキソラン-2-イル)-2-オール (2、図1)
60℃の臭化 (1, 3-ジオキソラン-2-イルメチル)-マグネシウム (THF中0.5M、325mL、162.5mmol) の溶液に、THF (100mL) 中のD-グリセルアルデヒド (19.1g、147mmol) の溶液を45分かけて一滴ずつ添加した。得られた溶液をもう一時間攪拌し、その後、氷/水浴に移し、その後、塩化アンモニウム飽和水溶液で処理した。その反応混合物をジエチルエーテルによって徹底的に抽出した。有機相を MgSO_4 で乾燥させた。溶媒除去後、残留物を、フラッシュシリカゲルカラム (35% EtOAc/ヘキサン) によって精製して、アルコール2 (黄色の油、30.1g、94%) を生じた。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.339、1.356、1.401、1.429 (s, 6H)、1.75-1.90 (m, 2H)、2.834 (d, $J=3.28\text{Hz}$ 、 D_2O 交換可能0.57H)、3.062 (br s, D_2O 交換可能、0.43H)、3.755-4.113 (m, 8H)、5.070 (m, 1H)、MS (FAB) m/z 218 (M^+)。

【実施例2】

【0255】

1-[(S)-2, 2-ジメチル-(1, 3)-ジオキソラン-4-イル]-4-(1, 3-ジオキソラン-2-イル)-2-オール (3、図1)
乾燥 CH_2Cl_2 中のDMSOの溶液 (8.58mL) に、-78℃の $(\text{ClCO})_2$ (5.25mL) を一滴ずつ添加した。5分後、その溶液に、 CH_2Cl_2 中の2 (12.0g、54.9mmol) を一滴ずつ、5分間で添加した。さらに15分後、トリエチルアミン (38.2mL) を得られた溶液に添加した。その後、その反応溶液を温めた。標準的な処理の後、残留物をフラッシュシリカゲルカラム (20% EtOAc/ヘキサン) によって精製して、3 (黄色の油、11.4g、95%) を生じた。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.354 (s, 3H), 1.453 (s, 3H), 2.953 (m, 2H), 3.83 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 4.027 (m, 1H), 4.154 (m, 1H), 4.417 (m, 1H), 5.268 (m, 1H), MS (FAB) m/z

z 216 (M^+)。

【実施例 3】

【0256】

1-[(S)-2, 2-ジメチル-(1, 3)-ジオキソラン-4-イル]-4-(1, 3-ジオキソラン-2-イル)ペンタン(4、図1)

0℃で、乾燥 CH_2Cl_2 中のDAST(15mL)の溶液に、 CH_2Cl_2 中の3(8.5g、39.4mmol)を一滴ずつ添加した。得られた溶液を室温で24時間攪拌した。その後、その反応混合物を0℃の重炭酸ナトリウム飽和溶液に注入した。標準的な処理の後、残留物をフラッシュシリカゲルカラム(10%EtOAc/ヘキサン)によって精製して、4(黄色の油、4.8g、51.3%)を生じた。 ^1H NMR($CDCl_3$) δ 1.340(s, 3H), 1.424(s, 3H), 2.23-2.41(m, 2H), 3.85(m, 2H), 3.97(m, 2H), 4.09(m, 2H), 4.24-4.33(m, 1H), 5.121(t, 1H), MS(FAB) m/z 238(M^+)。 10

【実施例 4】

【0257】

3-ジフルオロ-5-(1, 3-ジオキソラン-2-イル)-2S-1, 2-ジオール(5、図1)

0℃、1, 4-ジオキサン中の4(4.8g、20.2mmol)の溶液に、2.5% HCl水溶液を添加した。得られた溶液を室温で一晩攪拌し、その後、重炭酸ナトリウムによって中和した。標準的な処理の後、残留物をフラッシュシリカゲルカラム(60%EtOAc/ヘキサン)によって精製して、5(無色の油、3.6g、90%)を生じた。 ^1H NMR($CDCl_3$) δ 2.30-2.52(m, 2H), 3.577(d, J=5.88Hz, D_2O 交換可能, 1H), 3.83-4.10(m, 7H), 5.090(q, 1H), MS(FAB) m/z 198(M^+)。 20

【実施例 5】

【0258】

1-ベンズオキシ-3-フルオロ-5-(1, 3-ジオキソラン-2-イル)-2S-オール(6、図1)

乾燥ピリジン(5mL)中の5(3.1g)の溶液に、0℃の塩化ベンゾイル(1.82mL)を一滴ずつ添加した。得られた溶液を室温で1時間攪拌した。ピリジンを除去した後、残留物を CH_2Cl_2 に溶解し、 $NaHCO_3$ 飽和水溶液によって洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥させた。濃縮後、残留物をフラッシュシリカゲルカラム(30%EtOAc/ヘキサン)によって精製して、6(無色の油、4.0g、85%)を生じた。 ^1H NMR($CDCl_3$) δ 2.43(m, 2H), 3.84(m, 2H), 3.95(m, 2H), 4.03(m, 1H), 4.19(m, 1H), 4.48(m, 1H), 4.59(m, 1H), 5.08(m, 1H), 7.38(m, 2H), 7.51(m, 1H), 8.01(m, 1H), MS(FAB) m/z 302(M^+)。 30

【実施例 6】

【0259】

1-アセチル-5-O-ベンゾイル-2, 3-ジデオキシ-3, 3-ジフルオロ-D-リボフラノース(7、図1)

メタノール(15mL)中の6(1.6g、5.3mmol)の溶液に、HCl/ジエチルエーテル溶液(1.0M、15mL)を添加した。得られた溶液を攪拌し、1時間還流させた。冷却後、その反応溶液を $NaHCO_3$ で中和した。標準的な処理の後、残留物を次の段階に用いた。濃硫酸(40 μ L、0.75mmol)を、氷酢酸(15mL)中の得られた残留物と無水酢酸(3mL、32.0mmol)の氷冷溶液に添加した。得られた溶液を室温で30分間攪拌した。その後、その反応混合物を重炭酸ナトリウムの氷冷飽和溶液(100mL)に注入し、ジクロロメタン(3x100mL)で抽出した。標準的な処理の後、残留物をフラッシュシリカゲルカラム(10%EtOAc/ヘキサン)によ 40 50

って精製して、アノマー混合物（2：1）7（黄色の油、1.5g、95%）を生じた。
 ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ 2.02, 2.10 (s, 3H), 2.53–2.65 (m, 1H), 2.74–2.88 (m, 1H), 4.46–4.66 (m, 3H), 6.442, 6.399 (d, $J=5.85$, 5.76 Hz, 1H), 7.38–7.51 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.98–8.12 (m, 2H), MS (FAB) m/z 301 (MH^+)。

【実施例7】

【0260】

N^4 －ベンゾイル－1－（5－O－ベンジル－2, 3－ジデオキシ－3, 3－ジフルオロ－ β －L－リボフラノシル）シトシン（8、図1）

1, 1, 1, 3, 3, 3－ヘキサメチルジシラザン（HMDS）（30mL）中の N^4 －ベンゾイルシトシン（900mg、4.20mmol）および硫酸アンモニウム（28mg、0.212mmol）の混合物を4時間還流させ、その後、真空下、30℃から35℃で溶媒を除去した。その残留油に、無水アセトニトリル（15mL）中の7（630mg、2.1mmol）の溶液を添加し、その後、0℃に冷却しすると同時に、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル（TMSOTf、0.60mL、3.2mmol）を添加した。得られた混合物を室温で3時間攪拌し、その後、重炭酸ナトリウムの氷冷飽和溶液（25mL）に注入した。有機相を分離して、ブライン（5mL）で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させて、濾過し、濃縮して、粗生成物を得、それをフラッシュシリカゲルカラム（50% EtOAc／ヘキサン）によって精製して、8（白色の固体、350mg、36%）を得た。融点166℃から167℃（分解）； $[\alpha]^{24}_{\text{D}}$ 80.50°（c 0.50, CHCl_3 ）；UV (MeOH) λ_{max} 259.5, 301.0； ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.57 (m, $J=15.6$, 10.5, 5.3 Hz, 1H, $\text{H}_{2-\beta}$), 3.26 (m, $J=15.6$, 12.8, 7.0 Hz, 1H, $\text{H}_{2-\alpha}$), 4.57 (ddd, $J=18.0$, 9.7, 4.8 Hz, 1H, H_4), 4.71 (dd, $J=12.5$, 5.5 Hz, 1H, $\text{H}_{5-\beta}$), 4.75 (dd, $J=12.5$, 4.3 Hz, 1H, $\text{H}_{5-\alpha}$), 6.30 (t, $J=6.1$ Hz, 1H, H_1), 7.65–7.44 (m, 7H), 8.10–7.88 (m, 5H), 8.81 (bs, 1H)；HRMS (FAB) 実測値, m/z 456.1377, 計算値 $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_5$, m/z 456.1371 (MH^+)。元素分析. 計算値 $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_5$: C, 60.66；H, 4.21；N, 9.23。実測値：C, 60.50, H, 4.19, N, 9.00。

【実施例8】

【0261】

1－（2, 3－ジデオキシ－3, 3－ジフルオロ－ β －L－リボフラノシル）シトシン（9、図1）

飽和アンモニア／メタノール溶液（10mL）中の8（140mg、0.30mmol）の混合物を室温で4時間攪拌し、その後、減圧下で濃縮乾固させた。残留物をフラッシュシリカゲルカラム（10% メタノール／クロロホルム）によって精製して、9（白色の固体、80mg、100%）を得た。融点194℃から196℃（分解）； $[\alpha]^{24}_{\text{D}}$ 45.56°（c 1.0, MeOH）；UV (MeOH) λ_{max} 276.5 (ϵ 18160) (pH 2), 268.0 (ϵ 13280) (pH 7), 268.5 (ϵ 13580) (pH 11)； ^1H NMR (CD_3OD) δ 2.51 (m, 1H, H_2), 2.90 (m, 1H, H_2), 3.83 (m, 2H, H_5), 4.17 (m, 1H, H_4), 5.93 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H_5), 6.27 (t, $J=6.8$ Hz, 1H, H_1), 7.97 (d, $J=7.3$ Hz, 1H, H_6)；HRMS (FAB) 実測値, m/z 248.0841, 計算値 $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$, m/z 248.0847 (MH^+)。元素分析. 計算値 $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 0.1 \text{H}_2\text{O}$: C, 43.41；H, 4.53；N, 16.88。実測値：C, 43.45；H, 4.50；N, 16.54。

10

20

30

40

50

【実施例 9】

【0262】

1-(2,3-ジデオキシ-3-フルオロ-β-L-グリセロペント-2-エノ-フラノシル)シトシン(10、図1)

無水DMF(3mL)中の9(90mg、0.36mmol)およびナトリウムメトキシド(150mg、1.1mmol)の混合物を室温で一晩攪拌し、その後、Dowex 50 wx 8(H⁺)によって中和した。濾過および濃縮後、その粗製固体をシリカゲルカラム(10%メタノール/クロロホルム)によって精製して、10(白色の固体、54mg、60%)を得た。融点182℃から183℃(分解); [α]_D²² -5.34°(c 0.39, MeOH); UV(MeOH) λ_{max} 276.0(ε 11990)(pH 2), 267.5(ε 8010)(pH 7), 264.5(ε 8060)(pH 11); ¹H NMR(CD₃OD) δ 3.766, 3.771(m, 2H, H5'), 4.733(m, 1H, H4'), 5.438(m, 1H, H2'), 5.887(d, J=7.5Hz, 1H, H5), 6.975(m, 1H, H1'), 8.137(d, J=7.5Hz, 1H, H6'), HRMS(FAB) 実測値, m/z 228.0776, 計算値C₉H₁₁FN₃O₃, m/z 228.0784(MH⁺)。元素分析. 計算値C₉H₁₀FN₃O₃: C, 47.58; H, 4.44; N, 18.50。実測値: 47.34; H, 4.45; N, 18.27。

【実施例 10】

【0263】

5-O-ベンゾイル-1,2-O-イソプロピリデン-α-L-リボフラノース(11、図2a)

Maら, J. Med. Chem, 1996, 39(14), 2835およびCooper woodら, Nucleosides Nucleotides 2000, 19(1&2), 219-236 参照。

【実施例 11】

【0264】

5-O-ベンゾイル-3-O-ベンジル-1,2-O-イソプロピリデン-α-L-リボフラノース(12、図2a)

無水THF(120mL)中の11(20.00g、67.96mmol)の溶液を0℃の水素化ナトリウム(鈹物油中60%分散物、4.00g、100mmol)の懸濁液にゆっくりと添加し、その混合物を室温で1時間攪拌した。得られた懸濁液にヨウ化テトラブチルアンモニウム(2.50g、6.77mmol)を添加し、その後、0℃に再び冷却すると同時に、臭化ベンジル(9.0mL、75.67mmol)を添加した。その反応混合物を室温で9時間、暗所で攪拌し、その後、0℃に冷却して、氷冷水(100mL)で注意深く(発泡に注意)反応を停止させ、その後、酢酸エチル(3x350mL)で抽出した。併せた有機抽出物をブライン(100mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム(MgSO₄)で乾燥させて、濾過し、減圧下で濃縮乾固させた。得られた粗製12(暗黄色の油、34.40g、理論収率の132%)を、さらに精製せずに、次の段階で用いた。

【0265】

12. 黄色の油: ¹H NMR(CDCl₃, 400MHz) δ 7.93(m, 2H), 7.56(m, 1H), 7.43-7.21(m, 7H), 5.78(d, 1H, H₁, J=3.7Hz), 4.81(d, 1H, J=12, 1Hz), 4.66-4.62(m, 2H, H₂, H₄), 4.57(d, 1H, J=12.1Hz), 4.39-4.33(m, 2H, H₅), 3.79(dd, 1H, H₃, J=8.9, 4.3Hz), 1.63(s, 3H), 1.39(s, 3H); ¹³C NMR(CDCl₃, 100MHz) δ 166.11, 137.08, 132.97, 129.65, 128.45, 128.21, 128.05, 127.97, 113.06, 104.09, 77.22, 76.92, 76.31, 72.11, 62.87, 26.72, 26.43; MS(FAB) m/z 385(MM⁺)。

【実施例 12】

【0266】

5-O-ベンゾイル-3-O-ベンジル-1-メチル-β-L-リボフラノース (13、図2a)

メタノール (700 mL) 中の粗製 12 (33.24 g) の氷冷溶液に、ジオキサン (350 mL) 中の HCl の 4.0 M 溶液を添加して、その混合物を室温で 90 分間攪拌し、その後、重炭酸ナトリウム飽和溶液 (200 mL)、続いて固体重炭酸ナトリウム (125 g) で反応を停止させた。減圧下で揮発成分を蒸発させて約 250 mL にし、その水性残留物を酢酸エチル (3 x 500 mL) で抽出した。併せた有機抽出物を MgSO₄ で乾燥させて、濾過し、減圧下で濃縮して、粗製生成物を得、これを真空 TLC グレードシリカゲルカラムクロマトグラフィー (ヘキサンから 1:3 の酢酸エチル/ヘキサン) によって精製して、21.46 g (11 から 91%) の 13 を黄色の油として得た。 10

【0267】

13. 黄色の油: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.04 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.38-7.26 (m, 5H), 4.90 (s, 1H, H₁), 4.63 (d, 1H, J = 11.6 Hz), 4.58 (d, 1H, J = 11.6 Hz), 4.50 (dd, 1H, J = 11.1, 3.2 Hz), 4.38-4.29 (m, 2H, H₅), 4.24 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.30 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 166.28, 136.71, 133.08, 129.82, 129.66, 128.66, 128.40, 128.34, 128.01, 108.27, 79.06, 78.98, 73.06, 72.94, 64.98, 55.00; HRMS (FAB) 実測値, m/z 359.1517, 計算値 C₂₀H₂₃O₆, m/z 359.1495 (MH⁺)。元素分析. 計算値 C₂₀H₂₂O₆: C, 67.03; H, 6.19。実測値: C, 66.87, H, 6.22。 20

【実施例 13】

【0268】

5-O-ベンゾイル-3-O-ベンジル-2-デオキシ-1-メチル-β-L-リボフラノース (14、図2a) 30

クロロチオノ蟻酸フェニル (9.3 mL、67.24 mmol) を無水トルエン (700 mL) 中の 13 および 4-(ジメチルアミノ)ピリジン (16.32 g、133.58 mmol) の溶液に添加し、得られた明黄色のスラリーを 90 °C で 3 時間攪拌した。その反応混合物を、その後、0 °C に冷却し、黄色の固体を濾過して取り出し、少量の無水トルエンで洗浄した。その有機濾液に 2, 2'-アゾビスイソブチロニトリル (AIBN、0.92 g、5.60 mmol) を添加し、その後、還流させながら、無水トルエン中の水素化トリブチル錫 (37.4 mL、139.04 mmol) および AIBN (0.92 g、5.60 mmol) の溶液を 30 分かけて添加した。その反応混合物をさらに 30 分還流させて、無色の濁った混合物を得、これを減圧下で濃縮乾固させた。この粗製生成物を真空カラム TLC グレードシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサンから 1:9 の酢酸エチル/ヘキサン) によって精製して、14.14 g (74%) の 14 を無色の油として得た。 40

【0269】

14. 無色の油: [α]_D²² 45.11° (c 5.58, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.05 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.32-7.26 (m, 5H), 5.12 (dd, 1H, H₁, J = 5.3, 1.3 Hz), 4.53 (s, 2H), 4.46-4.33 (m, 3H, H₃, H₄), 4.30 (td, 1H, H₃, J = 6.6, 3.8 Hz), 3.32 (s, 3H), 2.33 (ddd, 1H, H_{2β}, J = 13.2, 6.9, 1.3), 2.16 (ddd, 1H, H_{2α}, J = 13.2, 6.5, 5.3); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 166.30, 137.61, 133.04, 129.93, 12 50

9. 67, 128. 44, 128. 35, 127. 82, 127. 67, 105. 41, 81. 60, 79. 32, 71. 88, 65. 62, 54. 93, 39. 38; HRMS (FAB) 実測値, m/z 343. 1543, 計算値 $C_{20}H_{23}O_5$, m/z 343. 1545 (MH^+)。元素分析. 計算値 $C_{20}H_{22}O_5$: C, 70. 16; H, 6. 48。実測値: C, 69. 90, H, 6. 42。

【実施例 14】

【0270】

5-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ-1-メチル- β -L-リボフラノース (15、図 2 a)

無水エタノール (200 mL) 中の 14 (4. 27 g、12. 47 mmol) および 10 % Pd/C (2. 65 g、2. 49 mmol) の混合物を、室温、 H_2 圧 50 psi で 72 時間水素化した。得られた混合物を Celite で濾過して、エタノールで洗浄し、真空下で濃縮して粗製生成物を得、これをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (1:2 酢酸エチル/ヘキサン) によって精製して、1. 88 g (60%) の 15 を淡黄色の油として得た。

【0271】

15. 淡黄色の油: $[\alpha]^{23}_D$ 65. 85° (c 5. 23, $CHCl_3$); ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8. 07 (m, 2H), 7. 57 (m, 1H), 7. 46–7. 41 (m, 2H), 5. 10 (dd, 1H, H_1 , $J=5. 2, 1. 3$ Hz), 4. 56 (m, 1H, H_3), 4. 48 (dd, 1H, H_{5a} , $J=11. 6, 4. 9$ Hz), 4. 38 (dd, 1H, H_{5b} , $J=11. 6, 5. 7$ Hz), 4. 20 (dd, 1H, H_4 , $J=10. 2, 5. 1$ Hz), 3. 31 (s, 3H), 2. 76 (m, 交換可能, 3'-OH), 2. 31 (ddd, 1H, $H_{2\beta}$, $J=13. 3, 6. 8, 1. 3$), 2. 12 (ddd, 1H, $H_{2\alpha}$, $J=13. 3, 6. 8, 5. 2$); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 166. 59, 133. 07, 129. 66, 129. 58, 128. 28, 104. 97, 83. 53, 71. 93, 65. 25, 54. 85, 41. 39; HRMS (FAB) 実測値, m/z 253. 1083, 計算値 $C_{13}H_{17}O_5$, m/z 253. 1076 (MH^+)。元素分析. 計算値 $C_{13}H_{16}O_5$: C, 61. 90; H, 6. 39。実測値: C, 61. 57, H, 6. 38。

【実施例 15】

【0272】

メチル 5-*O*-ベンゾイル-2-デオキシ- β -L-グリセローペントフラノシド-3-ウロース (15、図 2 a)

三酸化クロム (2. 73 g、27. 30 mmol) を室温で無水ピリジン (4. 5 mL、55. 64 mmol) と無水ジクロロメタン (50 mL) の攪拌混合物に添加し、室温で 15 分間攪拌を継続した。その後、無水ジクロロメタン (20 mL) 中の 15 (1. 72 g、6. 82 mmol) の溶液を添加し、続いて直ちに無水酢酸 (2. 6 mL、27. 51 mmol) を添加した。15 分後、その暗褐色の溶液を酢酸エチル (400 mL) で処理して、得られた混合物を TLC グレードシリカゲルパッドに通して濾過し、それを酢酸エチル (1 回分 500 mL) で洗浄した。濾液を減圧下で濃縮し、トルエン (3 x 100 mL) と共に蒸発させて、真空下で溶媒を除去して、1. 50 g (88%) の 16 を橙色の油として得た。

【0273】

16. 橙色の油: $[\alpha]^{23}_D$ 64. 89° (c 1. 25, $OHC l_3$); ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8. 08 (m, 2H), 7. 57 (m, 1H) 7. 46–7. 42 (m, 2H), 5. 37 (d, 1H, H_1 , $J=5. 6$ Hz), 4. 66 (dd, 1H, H_{5a} , $J=11. 7, 3. 2$ Hz), 4. 46 (dd, 1H, H_{5b} , $J=11. 7, 6. 1$ Hz), 4. 40 (dd, 1H, H_4 , $J=6. 1, 3. 2$ Hz), 3. 40 (s, 3H), 2. 82, (dd, 1H, $H_{2\alpha}$, $J=18. 3, 5. 6$), 2. 12 (d, 1H, $H_{2\beta}$, $J=18. 3$); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 M 30

H z) δ 210.70, 166.17, 133.11, 129.73, 129.69, 128.33, 102.36, 77.63, 64.55, 55.07, 43.54; HRMS (FAB) 実測値, m/z 251.0920, 計算値 $C_{13}H_{15}O_5$, m/z 251.0919 (MH^+)。元素分析. 計算値 $C_{13}H_{14}O_5 \cdot 0.07 Tol$: C, 63.12; H, 5.72。実測値: C, 63.51, H, 5.37。

【実施例 16】

【0274】

5-*O*-ベンゾイル-2, 3-ジデオキシ-3, 3-ジフルオロ-1-メチル- β -L-リボフラノース (17、図 2a)

三フッ化 (ジエチルアミノ) 硫黄 (3.0 mL、22.71 mmol) を無水ジクロロメタン (25 mL) 中の 16 (1.40 g、5.59 mmol) の溶液に添加し、その反応混合物を 36 時間還流させた。得られた溶液を、その後、重炭酸ナトリウムの氷冷飽和溶液 (50 mL) に注意深く注入し、ジエチルエーテル (4 x 100 mL) で抽出した。併せた有機抽出物をブライン (50 mL) で洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥させて、濾過し、濃縮して粗製油を得、それをシリカゲルフラッシュカラムクロマトグラフィー (1:9 酢酸エチル/ヘキサン) によって精製して、1.01 g (66%) の 17 を黄色の油として得た。

【0275】

17. 黄色の油: $[\alpha]^{23}_D$ 40.78° (c 4.28, $CHCl_3$); ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.08 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.45 (m, 2H), 5.15 (dt, 1H, H_1 , $J=5.7, 1.7$ Hz), 4.63–4.41 (m, 3H, H_4, H_5), 3.40 (s, 3H), 2.67 (tdd, 1H, $H_{2\alpha}$, $J=16.6, 15.0, 5.7$ Hz), 2.49 (tdd, 1H, $H_{2\beta}$, $J=15.0, 9.0, 2.0$ Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 166.05, 133.14, 129.71, 128.38, 128.32 (t, $J_{C-F}=252.8$ Hz), 103.70 (dd, $J_{C-F}=7.1, 4.2$ Hz), 79.46 (dd, $J_{C-F}=32.1, 24.9$ Hz), 62.94 (dd, $J_{C-F}=7.5, 4.5$ Hz), 55.38, 42.26 (t, $J_{C-F}=24.3$ Hz); HRMS (FAB) 実測値, m/z 273.0950, 計算値 $C_{13}H_{15}F_2O_4$, m/z 273.0938 (MH^+)。元素分析. 計算値 $C_{13}H_{14}F_2O_4$: C, 57.35; H, 5.18。実測値: C, 57.64, H, 5.30。

【実施例 17】

【0276】

1-アセチル-5-*O*-ベンゾイル-2, 3-ジデオキシ-3, 3-ジフルオロ- β -L-リボフラノース (18、図 2a)

濃硫酸 (80 μ L、1.50 mmol) を氷酢酸中の 17 (200 mg、0.73 mmol) および無水酢酸 (300 μ L、3.20 mmol) の氷冷溶液に添加し、その反応混合物を 0°C で 5 分間、その後、室温でさらに 10 分間攪拌した。得られた混合物を重炭酸ナトリウムの氷冷飽和溶液 (100 mL) に注入し、ジクロロメタン (3 x 100 mL) で抽出した。併せた抽出物を水 (30 mL)、ブライン (30 mL) で洗浄して、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過して、濃縮し、トルエン (3 x 10 mL) と共に蒸発させて、210 mg (95%) の 5:3 のエピマー混合物 18 を黄色の粗製油として得、これを、さらに精製せずに、次の反応で用いた。

【0277】

18. 黄色の油: ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.06–8.02 (m, 4H), 7.57 (m, 2H), 7.47–7.43 (m, 4H), 6.45 [d, 1H, H_1 (主異性体), $J=5.3$ Hz], 6.41 [d, 1H, H_1 (副異性体), $J=5.9$ Hz], 4.65–4.49 (m, 6H, H_4, H_5), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) (主異性体) δ 169.72, 165.91, 133.28, 129.68, 128.43, 127.5

0 (dd, $J_{C-F} = 254.9, 251.6 \text{ Hz}$), 95.34 (dd, $J_{C-F} = 7.7, 4.5 \text{ Hz}$), 79.10 (dd, $J_{C-F} = 33.0, 24.7 \text{ Hz}$), 61.01 (dd, $J_{C-F} = 7.7, 2.4 \text{ Hz}$), $41, 91$ (t, $J_{C-F} = 25.1 \text{ Hz}$), 21.03 ; (副異性体) $\delta 169.62, 165.91, 133.27, 129.73, 128.41, 127.35$ (dd, $J_{C-F} = 255.1, 251.3 \text{ Hz}$), 95.83 (dd, $J_{C-F} = 7.6, 3.8 \text{ Hz}$), 80.31 (dd, $J_{C-F} = 32.0, 25.0 \text{ Hz}$), 62.12 (dd, $J_{C-F} = 7.8, 3.5 \text{ Hz}$), 41.27 (t, $J_{C-F} = 24.8 \text{ Hz}$), 21.00 ; MS (FAB) m/z 301 (MH^+)。

【実施例 18】

10

【0278】

N^4 -ベンゾイル-1-(5-オ-ベンゾイル-2, 3-ジデオキシ-3, 3-ジフルオロ- β -L-リボフラノシル)シトシン (19、図 2a) および N^4 -ベンゾイル-1-(5-オ-ベンゾイル-2, 3-ジデオキシ-3, 3-ジフルオロ- α -L-リボフラノシル)シトシン (20、図 2a)

1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサメチルジシラザン (HMDS) 中の N^4 -ベンゾイルシトシン (225 mg 、 1.05 mmol) および硫酸アンモニウム (7 mg 、 0.053 mmol) の混合物を 4 時間還流させ、その後、真空下、 30°C から 35°C で溶媒を除去した。その残留油に、無水アセトニトリル (10 mL) 中の 18 (210 mg 、 0.70 mmol) の溶液を添加し、その後、 0°C に冷却しすると同時に、トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (TMSOTf、 0.19 mL 、 1.05 mmol) を添加した。得られた混合物を室温で一晩攪拌し、その後、ジクロロメタンで 50 mL に希釈して、重炭酸ナトリウムの氷冷飽和溶液 (25 mL) に注入した。有機相を分離して、ブライン (5 mL) で洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥させて、濾過し、濃縮して、粗生成物を得、それをフラッシュカラムクロマトグラフィー (3:97 メタノール/クロロホルム) によって精製して、第一溶離生成物として 80 mg の 20 (25%) および第二溶離生成物として 100 mg の 19 (31%) を得た。両方の異性体は、無色の油であり、これらは、ジエチルエーテルおよび一滴のメタノールと研和すると、白色の固体になった。

20

【0279】

19. 白色の固体：融点 166°C から 167°C (分解); $[\alpha]^{24}_D -89.75^\circ$ (c 0.31 , $CHCl_3$); UV (MeOH) λ_{max} $259.5, 301.0$; ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.81 (bs, $1H$), $8.10-7.88$ (m, $5H$), $7.65-7.44$ (m, $7H$), 6.30 (t, $1H$, $H_{1'}$, 6.1 Hz), 4.75 (dd, $1H$, $H_{5'a}$, $J=12.5, 4.3 \text{ Hz}$), 4.71 (dd, $1H$, $H_{5'b}$, $J=12.5, 5.5 \text{ Hz}$), 4.57 (ddd, $1H$, $H_{4'}$, $J=18.0, 9.7, 4.8 \text{ Hz}$), 3.26 (dtd, $1H$, $J=15.6, 12.8, 7.0 \text{ Hz}$), 2.57 (m, $1H$, $H_{2'\beta}$, $J=15.6, 10.5, 5.3 \text{ Hz}$); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ $166.48, 165.91, 162.58, 154.55, 143.35, 133.59, 133.31, 129.63, 129.07, 128.60, 127.53, 125.71$ (t, $J_{C-F} = 253.6 \text{ Hz}$), $96.90, 84.39$ (dd, $J_{C-F} = 6.6, 3.6 \text{ Hz}$), 79.80 (dd, $J_{C-F} = 31.5, 25.1 \text{ Hz}$), 60.77 (d, $J_{C-F} = 4.8 \text{ Hz}$), 41.69 (t, $J_{C-F} = 23.7 \text{ Hz}$); HRMS (FAB) 実測値, m/z 456.1377 , 計算値 $C_{23}H_{20}F_2N_3O_5$, m/z 456.1371 (MH^+)。

30

40

【0280】

20. 白色の固体：融点 176°C から 178°C (分解); $[\alpha]^{24}_D -42.61^\circ$ (c 1.19 , $CHCl_3$); UV (MeOH) λ_{max} 259.0 ; ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.89 (bs, $1H$), $8.06-7.89$ (m, $5H$), $7.65-7.47$ (m, $7H$), 6.29 (dd, $1H$, $H_{1'}$, $J=7.3, 3.3$

50

2 Hz), 4.82 (m, 1H, $H_{4 \cdot}$), 4.69 (dd, 1H, $H_{5 \cdot a}$, $J = 12.4, 3.8$ Hz), 4.57 (dd, 1H, $H_{5 \cdot b}$, $J = 12.4, 4.6$ Hz), 3.21 (dddd, 1H, $H_{2 \cdot \beta}$, $J = 15.4, 12.8, 7.3, 5.4$ Hz), 2.82 (dtd, 1H, $H_{2 \cdot a}$, $J = 15.4, 7.5, 3.2$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 166.54, 165.80, 162.77, 154.62, 143.48, 133.51, 133.19, 129.58, 128.94, 128.60, 127.58, 126.51 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 255.7, 249.3$ Hz), 96.71, 86.83 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 8.1, 2.0$ Hz), 80.78 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 31.7, 25.2$ Hz), 61.47 (t, $J_{\text{C}-\text{F}} = 5.3$ Hz), 41.14 (t, $J_{\text{C}-\text{F}} = 24.0$ Hz); HRMS (FAB) 実測値, m/z 456.1374, 計算値 $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}$, m/z 456.1371 (MH^+)。 10

【実施例 19】

【0281】

N^4 -ベンゾイル-1-(5-オ-ベンゾイル-2, 3-ジデオキシ-3, 3-ジフルオロ- α/β -L-リボフラノシル)チミン (25、図 2b)
 替わりに、無水アセトニトリル (10 mL) 中の 17 (170 mg、0.62 mmol)、チミン (160 mg、1.27 mmol) および N, O-ビス-トリメチルシリルトリフルオロアセトアミド (0.83 mL、3.12 mmol) の混合物を室温で 3 時間攪拌した。得られた透明な溶液を 0℃ の TMSOTf (0.17 mL、0.94 mmol) で 20
 処理し、その後、放置して室温にし、72 時間攪拌した。得られた混合物をジクロロメタンで 100 mL に希釈し、重炭酸ナトリウム (50 mL) の氷冷飽和溶液 (50 mL) に注入した。有機相を分離し、水 (20 mL) およびブライン (20 mL) で洗浄し、その後、 MgSO_4 で乾燥させて、濾過し、濃縮して粗製生成物を得、それをフラッシュカラムクロマトグラフィー (1:49 メタノール/クロロホルム) によって精製して、120 mg の 25 (53%) を黄色の油として得た。

【0282】

25. 黄色の油: UV (MeOH) λ_{max} 263.5; ^1H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 9.60 [bs, 1H (主異性体)], 9.55 (bs, 1H (副異性体)), 8.04 (m, 4H), 7.59 (m, 2H), 7.49 (m, 4H), 7.22 30
 [d, 1H, H_6 (副異性体), $J = 1.2$ Hz], 7.18 [d, 1H, H_6 (主異性体), $J = 1.2$ Hz], 6.42 [t, 1H, H_1 , (副異性体), $J = 7.0$ Hz], 6.33 (dd, 1H, $H_1 \cdot$ (主異性体), $J = 7.5, 5.0$ Hz), 4.81-4.73 (m, 2H, $H_{4 \cdot}$), 4.62-4.53 (m, 4H, $H_{5 \cdot}$), 3.10-2.94 (m, 2H, $H_{2 \cdot}$), 2.83-2.76 (m, 1H, $H_{2 \cdot}$), 2.57-2.43 (m, 1H, $H_{2 \cdot}$); ^{13}C NMR (CDCl₃, 100 MHz) (主異性体) δ 165.87, 163.78, 150.25, 135.05, 133.47, 126.67 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 255.7, 251.1$ Hz), 111.71, 84.84 (t, $J_{\text{C}-\text{F}} = 5.9$ Hz), 80.15 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 31.3, 24.5$ Hz), 61.51 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 6.7, 4.1$ Hz), 40.34 (t, $J_{\text{C}-\text{F}} = 24.3$ Hz), 12.59; (副異性体) δ 165.84, 163.45, 150.25, 133.82, 133.59, 125.91 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 255.1, 252.3$ Hz), 112.39, 81.18 (t, $J_{\text{C}-\text{F}} = 5.9$ Hz), 79.11 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 31.6, 24.6$ Hz), 60.88 (dd, $J_{\text{C}-\text{F}} = 6.1, 3.1$ Hz), 40.47 (t, $J_{\text{C}-\text{F}} = 23.9$ Hz), 12.32; HRMS (FAB) obsd, m/z 367.1122, 計算値 $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_5$, m/z 367.1106 (MH^+)。元素分析. 計算値 $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_5 \cdot 0.03 \text{CHCl}_3$: C, 55.30; H, 4.37; N, 7.57。実測値: C, 54.92; H, 4.40; N, 7.37。 40

【実施例 20】

【0283】

1-(2,3-ジデオキシ-3,3-ジフルオロ-β-L-リボフラノシル)シトシン(21、図2a)および1-(2,3-ジデオキシ-3,3-ジフルオロ-α-L-リボフラノシル)シトシン(22、図2a)

飽和アンモニア/メタノール溶液(それぞれ、10または5mL)中の19(70mg、0.15mmol)または20(40mg、0.09mmol)の混合物を室温で4時間攪拌し、その後、減圧下で濃縮乾固させた。残留物を分取TLC(1:9 メタノール/クロロホルム)によって精製して、38mgの21(100%)または20mgの22(100%)を白色の固体として得た。

【0284】

10

21. 白色の固体: 融点194℃から196℃(分解); $[\alpha]_D^{24}$ 51.89° (c 1.15, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 276.5 (ε 18160) (pH 2), 268.0 (pH 7) (ε 13280) (pH 7), 268.5 (ε 13580) (pH 11); ^1H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 7.97 (d, 1H, H₆, J=7.3Hz), 6.27 (t, 1H, H₁′, J=6.8Hz), 5.93 (d, 1H, H₅, J=7.3Hz), 4.17 (m, 1H, H₄′), 3.83 (m, 2H, H₅′), 2.90 (m, 1H, H₂′), 2.51 (m, 1H, H₂′); ^{13}C NMR (DMSO-d₆, 100MHz) δ 168.19, 158.46, 142.62, 128.71 (dd, J_{C-F}=255.1, 247.4Hz), 97.04, 84.73 (dd, J_{C-F}=6.7, 4.9Hz), 83.74 (dd, J_{C-F}=29.5, 25.0Hz), 60.73 (t, J_{C-F}=4.8Hz), 42.14 (t, J_{C-F}=23.4Hz), 12.29; HRMS (FAB) 実測値, m/z 248.0850, 計算値 C₉H₁₂F₂N₃O₃, m/z 248.0847 (MH⁺)。元素分析. 計算値 C₉H₁₁F₂N₃O₃ · 0.1 H₂O 43.41; H, 4.53; N, 16.88。実測値: C, 43.63; H, 4.50; N, 16.48。

20

【0285】

22. 白色の固体: $[\alpha]_D^{25}$ 28.23° (c 0.27, MeOH) UV (MeOH) λ_{max} 277.5 (ε 15010) (pH 2), 269.0 (ε 10130) (pH 7), 269.0 (ε 10150) (pH 11) ^1H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 7.69 (d, 1H, H₆, J=7.5Hz), 6.21 (dd, 1H, H₁′, J=7.4, 3.6Hz), 5.90 (d, 1H, H₅, J=7.5Hz), 4.49 (m, 1H, H₄′), 3.79 (dd, 1H, H₅′, J=12.5, 3.6Hz), 3.74 (ddd, 1H, H₅′, J=12.5, 4.0, 1.5Hz), 3.01 (m, 1H, H₂′), 2.63 (m, 1H, H₂′); ^{13}C NMR (CD₃OD, 100MHz) δ 168.37, 158.54, 142.57, 129.28 (dd, J_{C-F}=254.3, 247.2Hz), 96.48, 87.75 (dd, J_{C-F}=8.7, 3.6Hz), 84.93 (dd, J_{C-F}=29.3, 25.3Hz), 61.24 (t, J_{C-F}=5.4Hz), 42.63 (t, J_{C-F}=23.9Hz), 12.29; HRMS (MB) obsd, m/z 248.0829, calcd for C₉H₁₂F₂N₃O₃, m/z 248.0847 (MH⁺)。

30

40

【0286】

化合物21から22と類似に、1-(2,3-ジデオキシ-3,3-ジフルオロ-β-L-リボフラノシル)チミン(26、図2b)および1-(2,3-ジデオキシ-3,3-ジフルオロ-α-L-リボフラノシル)チミン(27、図2b)を得た。

【0287】

26. 白色の固体: 融点140℃(分解); UV (MeOH) λ_{max} 264.0 (ε 11700) (pH 2), 263.5 (ε 12170) (pH 7), 264.0 (ε 8660) (pH 11); ^1H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) δ 11.43 (bs, 1H), 7.64 (s, 1H, H₆), 6.21 (t, 1H, H₁, J=7.2), 5.25 (t, 1H, 5′-OH), 4.11 (m, 1H, H₄′), 3.67 (m, 2H

50

, H_5 '), 2.83 (m, 1H, H_2 '), 2.65 (m, 1H, H_2 '), 1.78 (s, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100MHz) δ 163.59, 150.36, 135.40, 127.26 (dd, J_{C-F} = 255.8, 246.7 Hz), 110.20, 80.97 (dd, J_{C-F} = 28.5, 24.4 Hz), 80.32 (dd, J_{C-F} = 7.1, 4.1 Hz), 58.50, 38.54 (t, J_{C-F} = 23.6 Hz), 12.29; HRMS (FAB) 実測値, m/z 263.0849, 計算値 $C_{10}H_{13}F_2N_2O_4$, m/z 263.0843 (MH^+). 元素分析. 計算値 $C_{10}H_{12}F_2N_2O_4 \cdot 0.14 Et_2O$: C, 46.53; H, 4.95; N, 10.28. 実測値: C, 46.28; H, 4.90; N, 9.88.

【0288】

27. 白色の固体: 融点 145°C から 148°C (分解) $[\alpha]_D^{25}$ 26.50° (c 0.15, CHCl₃); UV (MeOH) λ_{max} 265.5 (ϵ 12820) (pH 2), 263.5 (ϵ 12590) (pH 7), 264.0 (ϵ 10030) (pH 11); ^1H NMR (DMSO- d_6 , 400Hz) δ 11.41 (bs, 1H), 7.52 (s, 1H, H_6), 6.21 (t, 1H, H_1 ', J = 6.4), 5.13 (t, 1H, 5'-OH), 4.50 (m, 1H, H_4 '), 3.59 (m, 2H, H_5 '), 2.97-2.73 (m, 2H, H_2 '), 1.78 (s, 3H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 100MHz) δ 163.77, 150.38, 136.32, 127.77 (dd, J_{C-F} = 252.3, 249.2 Hz), 109.82, 83.47 (t, J_{C-F} = 6.0 Hz), 81.75 (dd, J_{C-F} = 28.5, 24.3 Hz), 58.76, 38.57 (t, J_{C-F} = 23.6 Hz), 12.17; HRMS (FAB) 実測値, m/z 263.0835, 計算値 $C_{10}H_{13}F_2N_2O_4$, m/z 263.0843 (MH^+). 元素分析. 計算値 $C_{10}H_{12}F_2N_2O_4 \cdot 0.5 MeOH$: C, 45.33; H, 5.07; N, 10.07. 実測値: C, 45.49; H, 4.96; N, 9.76.

【実施例 21】

【0289】

1-(2, 3-ジデオキシ-3-フルオロ- β -L-グリセロ-ペンター-2-エノ-フラノシル)シトシン (23、図 2a)

無水 DMF (5 mL) 中の 21 (30 mg、0.12 mmol) とナトリウムメトキシド (50 mg、0.37 mmol) の混合物を室温で一晩攪拌し、その後、1 mL の塩化アンモニウム飽和水溶液で反応を停止させた。真空下で揮発成分を蒸発させることによって、粗製固体を得、それを非常に短いシリカゲルフラッシュカラムでのクロマトグラフィー (クロロホルムから 1:15 のメタノール/クロロホルム) によって精製して、15 mg (54%) の 23 を白色の固体として生じた。

【0290】

23. 白色の固体: 融点 182°C から 183°C (分解); $[\alpha]_D^{25}$ 6.67° (c 0.54, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 276.0 (ϵ 11990) (pH 2), 267.5 (ϵ 8010) (pH 7), 264.5 (ϵ 8060) (pH 11); ^1H NMR (CD₃OD, 400MHz) δ 8.14 (d, 1H, H_6 , J = 7.5 Hz), 7.01 (m, 1H, H_1 '), 5.90 (d, 1H, H_5 ', J = 7.5 Hz), 5.46 (m, 1H, H_2 '), 4.76 (m, 1H, H_4 '), 3.80 (m, 1H, H_5'), 3.79 (m, 1H, H_5'); ^{13}C NMR (CD₃OD, 100MHz) δ 168.31, 163.40 (d, J_{C-F} = 284.8 Hz), 159.05, 144.05, 102.34 (d, J_{C-F} = 9.7 Hz), 95.68, 88.42 (d, J_{C-F} = 14.9 Hz), 81.96 (d, J_{C-F} = 24.7 Hz), 61.82 (d, J_{C-F} = 2.2 Hz); HRMS (FAR) 実測値, m/z 228.0778, 計算値 $C_9H_{11}FN_3O_3$, m/z 228.0784 (MH^+). 元素分析. 計算値 $C_9H_{10}FN_3O_3$: C, 47.58; H, 4.44; N, 18.50. 実測値: C, 47.47; H, 4.44; N, 18.17.

10

20

30

40

50

【0291】

化合物23と類似に、1-(2,3-ジデオキシ-3-フルオロ-β-L-グリセロペンント-2-エノ-フラノシル)チミン(28、図2b)を得た。

【0292】

28. 白色の固体：融点146℃から148℃(分解)； $[\alpha]^{22}_D$ 32.19°(c 0.20, CHCl₃)；UV(MeOH) λ_{max} 264.0(ε 10080)(pH 2), 264.5(ε 10130)(pH 7), 264.5(ε 7710)(pH 11)；¹H NMR(CDCl₃, 400MHz) δ 8.94(bs, 1H), 7.70(s, 1H, H₆), 7.05(s, 1H, H₁), 5.26(s, 1H, H₂), 4.73(s, 1H, H₄), 3.94(m, 2H, H₅), 3.30(bs, 1H, 5'-OH) 1.86(s, 3H)；¹³C NMR(CDCl₃, 100MHz) δ 164.01, 161.54(d, J_{C-F} = 287.8 Hz), 150.50, 136.85, 110.83, 99.64(d, J_{C-F} = 10.2 Hz), 85.65(d, J_{C-F} = 14.8 Hz), 79.98(d, J_{C-F} = 24.5 Hz), 60.56(d, J_{C-F} = 1.8 Hz), 12.28；HRMS(FAB) 実測値, m/z 243.0789, 計算値 C₁₀H₁₂FN₂O₄, m/z 243.0781(MH⁺)。元素分析. 計算値 C₁₀H₁₁FN₂O₄ : C, 49.59 ; H, 4.58 ; N, 11.57。実測値 : C, 49.33 ; H, 4.30 ; N, 11.78。

【実施例22】

【0293】

(S)-(-)-4-tert-ブチルジフェニルシリルオキシメチル-2-フルオロ-2-ブテン-4-オリド(D-2、図3a)

この化合物を調製するための詳細な方法は、次の文献に記載されている：「抗ウイルス薬としての可能性を秘めたD-およびL-炭素環式4'-フルオロ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの異なる合成 (A divergent synthesis of D- and L-carbocyclic 4'-fluoro-2', 3'-dideoxynucleosides as potential antiviral agent)」, Chong, Y. ; Gumin, G. ; Chu, C. K. , Tetrahedron Asymmetry, 2000, 11, 4863-4875。

【実施例23】

【0294】

(R)-(+)-4-tert-ブチルジフェニルシリルオキシメチル-2-フルオロ-2-ブテン-4-オリド(L-2、図4a)

この化合物を調製するための詳細な方法は、次の文献に記載されている：「2'-フルオロ-2', 3'-不飽和L-ヌクレオシドの合成ならびに抗HIVおよび抗HBV活性 (Synthesis and anti-HIV and anti-HBV activities of 2'-fluoro-2', 3'-unsaturated L-nucleosides)」, Lee, K. ; Choi, Y. ; Gullen, E. ; Schlueder-Wirtz, S. ; Schinazi, R. F. ; Cheng, Y. C. ; Chu, C. K. , J. Med. Chem. 1999, 42, 1320-1328

【実施例24】

【0295】

(2S, 4S)-(+)-4-tert-ブチルジフェニルシリルオキシメチル-2-フルオロ-γ-ブチロラクトン(D-3、図3a)

EtOAc 200mL中のラクトンD-2(14.8g、39.9mmol)の溶液に、H₂ 雰囲気下で3時間、2.0gのPd/C(5% w/w)を添加した。その反応混合物をセライトパッドに通して濾過した後、濾液を濃縮し、ヘキサン中5%のEtOAcでのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物D-3(13.9g、37.5mmol、収率94%)を白色の固体として得た。融点87℃から89℃；

$[\alpha]^{24}_D$ 15.5° (c 0.85, CHCl₃) ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.70–7.35 (m, 10H), 5.26 (dt, J=51.2, 8.8 Hz, 1H), 4.54–4.47 (m, 1H), 3.93 (dd, J=11.4, 2.3 Hz, 1H), 3.71 (dd, J=11.4, 3.6 Hz, 1H), 2.65 (ddt, J=13.1, 8.4, 6.6 Hz, 1H), 2.54 (ddt, J=24.2, 13.2, 9.0 Hz, 1H), 1.04 (s, 9H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.30 (d, J=21.3 Hz), 135.59, 135.30, 132.52, 132.20, 129.76, 129.35, 127.82, 127.63, 89.30 (d, J=191.0 Hz), 76.24 (d, J=6.1 Hz), 63.73, 30.14 (d, J=20.0 Hz), 26.58, 19.12 ; 元素分析. 計算値 C₂₁H₂₅FO₃Si : C, 67.71 ; H, 6.76。実測値 : C, 67.70 ; H, 6.79。

【実施例 25】

【0296】

(2R, 4R) – (–) – 4 – t – ブチルジフェニルシリルオキシメチル – 2 – フルオロ – γ – ブチロラクトン (L – 3、図 4 a)
EtOAc 500 mL 中の化合物 L – 2 (25 g、67.5 mmol) の溶液を、H₂ 雰囲気下で 3 時間、2.5 g の炭素担持パラジウム (5% w/w) で処理した。セライトパッドに通して濾過した後、濾液を濃縮し、ヘキサン中 7% の EtOAc でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物 L – 3 (23.8 g、64.1 mmol、収率 95%) を白色の固体として得た。融点 88°C から 89°C ; $[\alpha]^{24}_D$ – 15.3° (c 0.835, CHCl₃) ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.69–7.38 (m, 10H), 5.27 (dt, J=51.4, 8.9 Hz, 1H), 4.54–4.47 (m, 1H), 3.92 (dd, J=11.7, 2.4 Hz, 1H), 3.74 (dd, J=11.7, 3.7 Hz, 1H), 2.67 (ddt, J=13.2, 8.6, 6.6 Hz, 1H), 2.54 (ddt, J=24.4, 13.2, 9.0 Hz, 1H), 1.06 (s, 9H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.19 (d, J=21.3 Hz), 135.62, 135.51, 132.73, 132.40, 129.97, 129.95, 127.97, 127.84, 89.82 (d, J=193.0 Hz), 76.31 (d, J=6.1 Hz), 63.94, 30, 26 (d, J=20.0 Hz), 26.64, 19.21 ; FABMS m/z 373 (M+H)⁺ ; 元素分析. 計算値 C₂₁H₂₅FO₃Si : C, 67.71 ; H, 6.76。実測値 : C, 67.71 ; H, 6.78。

【実施例 26】

【0297】

(2S, 4S/R) – 5 – t – ブチルジフェニルシリルオキシ – 2 – フルオロ – 4 – ヨードペンタン酸メチルエステル (D – 4、図 3 a) および (2R, 4R/S) – 5 – t – ブチルジフェニルシリルオキシ – 2 – フルオロ – 4 – ヨードペンタン酸メチルエステル (L – 4、図 4 a)
EtOH の 5% 水溶液中の化合物 D – 3 (7.49 g、20.1 mmol) の混合物を、室温で 2 時間、固体 NaOH (0.885 g、22.1 mmol) で処理した。得られた混合物を濃縮し、250 mL のトルエンと共に 2 回蒸発させて、乾固させた。その粗製カルボン酸ナトリウム塩を 15 mL の DMSO に溶解し、0°C の硫酸ジメチル (2.29 mL、24.2 mmol) で処理した。添加後、氷浴を取外した。その反応混合物を 1 時間攪拌し、その後、氷冷水 (500 mL) に注入して、エチルエーテル (3 x 200 mL) で抽出した。併せた有機相を水 (3 x 200 mL) で洗浄し、MgSO₄ で乾燥させて、濃縮乾固させた。その粗製メチルエステルを、60°C で 4 時間、トルエン (300 mL) 中の I₂ (7.65 g、30.1 mmol)、イミダゾール (4.11 g、60.4 mmol) および Ph₃P (10.55 g、40.2 mmol) で処理した。得られた混合物に NaHCO₃ (200 mL) 水溶液を添加し、ヨウ素色が持続するまでヨウ素を少しずつ添加して、残留する Ph₃P を除去した。ヨウ素色が消えるまで Na₂S₂O₃ 水溶液

を一滴ずつ添加して、残留するヨウ素を除去した。得られた混合物を分取漏斗に注入して、300 mLのトルエンで希釈し、ブラインで洗浄して、MgSO₄で乾燥させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中7%のEtOAcでのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物D-4 (7.52 g、14.6 mmol、収率73%)を薄黄色の油として得た。¹H NMR (CDCl₃) 主生成物について: δ 7.71–7.33 (m, 10H), 5.08 (ddd, J = 47.9, 7.2, 5.0 Hz, 1H), 4.31–4.17 (m, 1H), 3.96–3.76 (m, 2H), 3.79 (s, 3H), 2.75–2.08 (m, 2H), 1.10 (s, 9H), 副生成物について: δ 7.71–7.33 (m, 10H), 5.16 (ddd, J = 48.2, 10.3, 2.1 Hz, 1H), 4.31–4.17 (m, 1H), 3.96–3.76 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.75–2.08 (m, 2H), 1.08 (s, 9H); HRMS (FAB) 実測値, m/z 515.0945, 計算値 C₂₂H₂₉FI₃OSi, m/z 515.0915 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値: C₂₂H₂₈FI₃OSi · 0.2 C₆H₁₄: C, 52.41; H, 5.84; I, 23.87。実測値: C, 52.30; H, 5.55; I, 23.83。

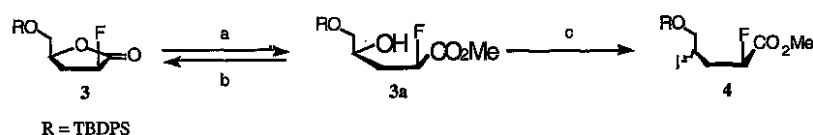
【0298】

粗製化合物D-3の¹H NMRは、C2でのエピマーによる汚染が無いことを示していた。

【0299】

【化66】

図式1. ヨウ素化中のC4でのエピマー化^α



^αキー: (a) i) NaOH, EtOH, ii) 硫酸メチル, DMSO, (b) ピリジン、室温、
(c) I₂, Ph₃P, イミダゾール、トルエン

【0300】

どの炭素中心がエピマー化されているかを確認するために、ヒドロキシメチルエステルD-3aを塩基性条件下で再び閉環して、出発2-フルオロブテノリドD-3を得た(図式1)。この化合物のスペクトルデータ(¹Hおよび¹³C NMR)は、出発化合物のものとマッチし、これは、鹼化およびその後のメチル化中に有意なエピマー化が存在しなかったことを示唆していた。しかし、幾つかの異なる反応条件下でのヨウ素化によって、高温およびより長い時間ではC4において一部エピマー化が生じることが確認された。4時間、60℃、ミツノブ条件下のヒドロキシメチルエステルD-3aの処理は、エピマー化を最小にする最適条件であることがわかった。ヨードエステル4のエピマー混合物を、DMF中、チオ酢酸カリウムによる求核攻撃に付して、チオアセテートのエピマー混合物D-5を得た。チオアセテート5のDIBAL媒介還元、その後のモファット型の酸化によって、対応するチオラクトンD-6およびD-6aを収率54%で生じた。この段階で、二つのエピマーをシリカゲルでのカラムクロマトグラフィーによって分離することができた。フェニルセレニル化を確実にしている間、シリルエノールエーテルとしてエノラートを捕捉することによって、C2位をsp²-混成化した。そのフェニルセレニル基がそのシリルエノールエーテルの最小制約α面に近づいて、対応するエナンチオマーD-7およびL-7を得る(図3a)。これらの二つの化合物の旋光度の値は、反対符合とマッチした{D-7について; [α]_D²⁴ 54.0° (c 0.606, CHCl₃)、およびL-7について; [α]_D²⁴ -56.4° (c 0.542, CHCl₃)}。これらは、ミツノブ条件下でのヨウ素化中、C4でのエピマー化が、最終的に確認された。従って、エピマー化生成物L-7は、L-鏡像異性体の合成のための重要な中間体として再利用することができる。

【0301】

固体NaOH (1.44 g、36.0 mmol) で処理した化合物L-3 (12.2 g、32.6 mmol) を用い、同様の手順に従って、化合物L-4 (13.7 g、26.6 mmol、収率82%) を薄黄色の油として得た。¹H NMR (CDCl₃) 主生成物についてδ 7.75-7.35 (m, 10H), 5.10 (dddd, J=48.4, 7.5, 5.2 Hz, 1H), 4.33-4.18 (m, 1H), 3.95-3.78 (m, 2H), 3.82 (s, 3H) 2.80-2.40 (m, 2H), 1.10 (s, 9H), 副生成物についてδ 7.75-7.35 (m, 10H), 5.18 (dddd, J=49, 2, 10.8, 2.3 Hz, 1H), 4.33-4.18 (m, 1H), 3.95-3.78 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 2.45-2.10 (m, 2H), 1.09 (s, 9H); HRMS (FAB) 実測値, m/z 515.0972, 計算値C₂₂H₂₉FIOSi, m/z 515.0915 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値C₂₂H₂₈FIOSi·0.05C₆H₁₄: C, 51.63; H, 5.58; I, 24.46。実測値: C, 51.84; H, 5.53; I, 24.52。

【実施例27】

【0302】

(2S, 4R/S)-4-アセチルスルファニル-5-tert-ブチルジフェニルシリルオキシ-2-フルオロペンタン酸メチルエステル (D-5、図3a) および (2R, 4S/R)-4-アセチルスルファニル-5-tert-ブチルジフェニルシリルオキシ-2-フルオロペンタン酸メチルエステル (L-5、図4a)

DMF 12 mL中の化合物D-4 (11.72 g、22.8 mmol) の溶液を、室温で8時間、固体KSAc (5.2 g、45.7 mmol) で処理した。得られた混合物をEtOAc (500 mL) で希釈し、水 (2x200 mL) で洗浄して、MgSO₄ で乾燥させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中10%のEtOAcでのカラムクロマトグラフィーによって精製して、生成物D-5 (9.2 g、19.9 mmol、収率87%) を赤褐色の油として得た。¹H NMR (CDCl₃) 主生成物についてδ 7.61-7.32 (m, 10H), 5.22-4.88 (m, 11H), 3.89-3.65 (m, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.41-2.07 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 1.05 (s, 9H), 主生成物についてδ 7.61-7.32 (m, 10H), 5.22-4.88 (m, 1H), 3.89-3.65 (m, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.41-2.07 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.06 (s, 9H); HRMS (FAB) 実測値, m/z 463.1770, 計算値C₂₄H₃₂FO₄SSi, m/z 463.1775 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値C₂₄H₃₁FO₄SSi: C, 62.31; H, 6.75; S, 6.93。実測値: C, 62.03; H, 6.03; S, 6.98。

【0303】

固体KSAc (6.08 g、53.2 mmol) で処理した20 mLのDMF中の化合物L-4 (13.7 g、26.6 mmol) を用い、同様の手順に従って、生成物L-5 (11.14 g、24.1 mmol、収率91%) を赤褐色の油として得た。¹H NMR (CDCl₃) 主生成物についてδ 7.67-7.35 (m, 10H), 5.12-4.92 (m, 1H), 3.93-3.68 (m, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.44-2.10 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 1.057 (s, 9H), 主生成物についてδ 7.67-7.35 (m, 10H), 5.12-4.92 (m, 1H), 3.93-3.68 (m, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.44-2.10 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 1.062 (s, 9H); HRMS (FAB) 実測値, m/z 463.1789, 計算値C₂₄H₃₂FO₄SSi, m/z 463.1775 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値C₂₄H₃₁FO₄SSi: C, 62.31; H, 6.75; S, 6.93。実測値: C, 62.36; H, 6.69; S, 7.04。

【実施例28】

【0304】

(2S, 4S) - (+) - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 2 - フルオロ - γ - チオブチロラクトン (D-6、図3a) および (2R, 4R) - (-) - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 2 - フルオロ - γ - チオブチロラクトン (L-6、図4a)

トルエン (200 mL) 中の化合物 D-5 (9.2 g、19.9 mmol) の溶液を、-78 °C で1時間、ヘキサン中1MのDIBAL-H 43.7 mLで処理した。9.6 mLのMeOHで反応を停止させ、1時間、室温まで温めて、NaHCO₃ 水溶液 (19 mL) およびEtOAc (200 mL) をその混合物に添加した。得られた混合物を濾過し、濾液を濃縮乾固させた。その粗製チオラクトールを、室温で24時間、Ac₂O (19 mL) およびDMSO (20 mL) で処理した。その反応混合物を、氷冷水 (300 mL) を入れた分液漏斗に注入し、エチルエーテル (3 x 300 mL) で抽出した。併せた有機相を水 (3 x 300 mL) で洗浄して、MgSO₄ で乾燥させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中5%のEt₂Oでのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、生成物 D-6 (4.2 g、10.8 mmol、収率54%) および D-6a (0.7 g、1.8 mmol、収率9%) を黄色の油として得た。D-6 について: $[\alpha]_D^{25} +28.2^\circ$ (c 1.08, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.68-7.37 (m, 10H), 5.07 (ddd, J = 50.5, 10.2, 6.9 MHz, 1H), 3.96-3.78 (m, 3H), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.18-2.05 (m, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 200.69 (d, J = 18.0 MHz), 135.53, 132.68, 132.60, 130.01, 127.86, 93.27 (d, J = 197.0 MHz), 66.64, 43.98 (d, J = 7.0 MHz), 32.61 (d, J = 19.4 MHz), 26.69, 19.23; 元素分析. 計算値 C₂₁H₂₃FO₂SSi: C, 64.91; H, 6.48; S, 8.25。実測値: C, 64.88; H, 6.51; S, 8.15。D-6a について: $[\alpha]_D^{27} -46.7^\circ$ (c 0.5, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.66-7.40 (m, 10H), 5.18 (dt, J = 44.4, 7.0 Hz, 1H), 4.02 (quint, J = 5.0 Hz), 3.86 (dd, J = 10.8, 5.0 Hz, 1H), 3.84 (dd, J = 10.8, 5.0 Hz, 1H), 2.88-2.78 (m, 2H), 1.07 (s, 9H); 元素分析. (C₂₁H₂₅FO₂SSi) C, H, S.

【0305】

同様に、(2R, 4R) - (-) - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 2 - フルオロ - γ - チオブチロラクトン (L-6、図4a) を製造した。トルエン (200 mL) 中の化合物 L-5 (11.1 g、24.1 mmol) の溶液を、-78 °C で1時間、ヘキサン中1MのDIBAL-H 53 mLで処理した。12 mLのMeOHで反応を停止させ、1時間、室温まで温めて、NaHCO₃ 水溶液 (23 mL) およびEtOAc (200 mL) をその混合物に添加した。得られた混合物を濾過し、濾液を濃縮乾固させた。その粗製チオラクトールを、室温で24時間、Ac₂O (34 mL) およびDMSO (35 mL) で処理した。その反応混合物を、氷冷水 (300 mL) を入れた分液漏斗に注入し、エチルエーテル (3 x 300 mL) で抽出した。併せた有機相を水 (3 x 300 mL) で洗浄して、MgSO₄ で乾燥させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中5%のEt₂Oでのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、生成物 L-6 (5.08 g、13.1 mmol、収率54%) を黄色の油として得た: $[\alpha]_D^{25} +29.4^\circ$ (c 1.18, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.68-7.37 (m, 10H), 5.07 (ddd, J = 50.5, 10.2, 6.9 MHz, 1H), 3.96-3.78 (m, 3H), 2.72-2.62 (m, 1H), 2.18-2.07 (m, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 200.70 (d, J = 17.4 MHz), 135.50, 132.66, 132.58, 129.99, 127.85, 93.26 (d, J = 196.9 MHz), 66.61, 43.97 (d, J = 7.1 MHz), 32.58 (d, J = 19.6 MHz), 26.68, 19.2

1 ; 元素分析. 計算値 $C_{21}H_{25}FO_2SSi$: C, 64.91 ; H, 6.48 ; S, 8.25。実測値 : C, 65.15 ; H, 6.58 ; S, 8.12。

【実施例 29】

【0306】

(2R, 4S) - (+) - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 2 - フルオロ - 2 - フェニルセレニル - γ - チオブチロ - ラクトン (D-7、図 3a) および (2S, 4R) - (-) - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 2 - フルオロ - 2 - フェニルセレニル - γ - チオブチロ - ラクトン (L-7、図 4a)

THF (60 mL) 中の化合物 D-6 (4.74 g、12.2 mmol) の溶液に、THF 中 1 M の LiHMDS 14.7 mL を、 -78°C でゆっくりと添加し、その反応混合物を同温で 1 時間攪拌した。TMSCl (2.01 mL、15.9 mmol) を反応混合物に一滴ずつ添加し、その混合物を放置して室温に温めた。得られた混合物を室温で 30 分間攪拌し、 -78°C に冷却した。THF (20 mL) 中の PhSeBr (4.37 g、18.3 mmol) の溶液を迅速に添加し、その混合物を -78°C で 1 時間攪拌した。混合物をエチルエーテル (300 mL) で希釈し、水 (4 x 100 mL) で洗浄して、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中 3% の Et_2O でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 D-7 (4.77 g、8.76 mmol、収率 72%) を薄黄色のシロップとして得た。 $[\alpha]_D^{24} = 54.0^{\circ}$ (c 0.606, $CHCl_3$) ; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7.68 - 7.35 (m, 15 H), 3.96 - 3.89 (m, 1H), 3.87 (dd, $J = 10.2, 5.1$ Hz, 1H), 3.80 (dd, $J = 10.1, 7.1$ Hz, 1H), 2.49 (dd, $J = 13.4, 4.0$ Hz, 1H), 2.22 (td, $J = 13.5, 10.5$ Hz, 1H), 1.06 (s, 9H) ; ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 196.32 (d, $J = 23.1$ Hz), 137.01, 135.52, 132.63, 132.50, 130.02, 129.99, 129.38, 127.87, 124.78, 105.12 (d, $J = 260.6$ Hz), 65.66, 44.58 (d, $J = 2.9$ Hz), 39.13 (d, $J = 21.4$ Hz), 26.69, 19.20 ; 元素分析. 計算値 $C_{27}H_{29}FO_2SSeSi$: C, 59.65 ; H, 5.38 ; S, 5.90。実測値 : C, 60.10 ; H, 5.46 ; S, 5.85。

【0307】

同様に、THF (60 mL) 中の化合物 L-6 (5.08 g、13.1 mmol) の溶液に、THF 中 1 M の LiHMDS 15.7 mL を、 -78°C でゆっくりと添加し、その反応混合物を同温で 1 時間攪拌した。TMSCl (2.16 mL、17 mmol) を反応混合物に一滴ずつ添加し、その混合物を放置して室温に温めた。得られた混合物を室温で 30 分間攪拌し、 -78°C に冷却した。THF (20 mL) 中の PhSeBr (4.69 g、19.6 mmol) の溶液を迅速に添加し、その混合物を -78°C で 1 時間攪拌した。混合物をエチルエーテル (300 mL) で希釈し、水 (4 x 100 mL) で洗浄して、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中 3% の Et_2O でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、所望の生成物 L-7 (5.28 g、9.69 mmol、収率 74%) を薄黄色のシロップとして得た。 $[\alpha]_D^{24} = 56.4^{\circ}$ (c 0.542, $CHCl_3$) ; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 7.70 - 7.35 (m, 15 H), 3.97 - 3.77 (m, 3H), 2.49 (dd, $J = 13.3, 4.5$ Hz, 1H), 2.22 (td, $J = 14.4, 10.5$ Hz, 1H), 1.05 (s, 9H) ; ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 196.34 (d, $J = 22.7$ Hz), 137.03, 135.53, 132.63, 132.50, 130.03, 129.39, 127.87, 124.79, 105.13 (d, $J = 260.6$ Hz), 65.67, 44.59 (d, $J = 2.9$ Hz), 39.13 (d, $J = 21.4$ Hz), 26.70, 19.21 ; HRMS (FAB)。実測値, m/z 545.0873, 計算値 $C_{27}H_{30}FO_2SSeSi$, m/z 545.0885 ($M+H$)⁺ ; 元素分析. 計算値 $C_{27}H_{29}FO_2SSeSi \cdot 0.15CHCl_3$: C, 58.07 ; H, 5.23 ; S,

5. 70。実測値：C, 57. 88 ; H, 5. 36 ; S, 5, 76。

【0308】

替わりに、L-6を、9. 69 mmolスケールで、D-6aから同じように調製した。D-7aを収率74%で薄黄色のシロップとして得た： $[\alpha]^{24}_D$ 56. 4° (c 0. 542, CHCl₃) ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7. 70-7. 35 (m, 15H), 3. 97-3. 77 (m, 3H), 2. 49 (dd, J=13. 3, 4. 5 Hz, 1H), 2. 22 (td, J=14. 4, 10. 5 Hz, 1H), 1. 05 (s, 9H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) δ 196. 34 (d, J=22. 7 Hz), 137. 03, 135. 53, 132. 63, 132. 50, 130. 03, 129. 39, 127. 87, 124. 79, 105. 13 (d, J=260. 6 Hz), 65. 67, 44. 59 (d, J=2. 9 Hz), 39. 13 (d, J=21. 4 Hz), 26. 70, 19. 21 ; HRMS (FAB) 実測値, m/z 545. 0873, 計算値 C₂₇H₃₀FO₂SSeSi, m/z 545. 0885 (M+H)⁺ ; 元素分析 (C₂₇H₂₉FO₂SSeSi · 0. 15CHCl₃) C, H, S。

【実施例30】

【0309】

(1R/S, 2R, 4S)-1-O-アセチル-5-O-(t-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレニル-4-チオ-β-D-リボフラノシド (D-8、図3a)

トルエン (100 mL) 中の化合物 D-7 (4. 77 g、8. 76 mmol) の溶液を、-78 °Cで1時間、ヘキサン中1MのDIBAL-H 17. 5 mLで処理した。4 mLのMeOHで反応を停止させ、1時間、室温まで温めて、NaHCO₃ 水溶液 (8 mL) およびEtOAc (100 mL) をその混合物に添加した。得られた混合物を濾過し、濾液を濃縮乾固させた。CH₂Cl₂ (100 mL) 中のその粗製チオラクトールの溶液を、室温で3時間、Ac₂O (2. 48 mL、26. 3 mmol)、TEA (3. 66 mL、26. 3 mmol) および触媒量の4-DMPAで処理した。得られた混合物を濃縮し、ヘキサン中3%のEt₂Oでのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、アセテート D-8 (4. 4 g、7. 48 mmol、収率85%) を薄黄色の油として得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 7. 70-7. 32 (m, 15H), 6. 03, 5. 99 (d & s, J=7. 6 Hz, 1H), 3. 76-3. 60 (m, 3H), 2. 60-2. 53 (m, 1H), 2. 41-2. 31 (m, 1H), 2. 13, 2. 01 (2s, 3H), 1. 04, 0. 99 (2s, 9H) ; 元素分析. 計算値 C₂₉H₂₈FO₃SSeSi : C, 59. 27 ; H, 5. 66 ; S, 5. 46。実測値 : C, 59. 61 ; H, 5. 72 ; S, 5. 57。

【実施例31】

【0310】

(1S/R, 2S, 4R)-1-O-アセチル-5-O-(t-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレニル-4-チオ-β-L-リボフラノシド (L-8、図4a)

トルエン (100 mL) 中の L-7 (4. 98 g、9. 14 mmol) の溶液を、-78 °Cで1時間、ヘキサン中1MのDIBAL-H 18. 3 mLで処理した。4 mLのMeOHで反応を停止させ、1時間、室温まで温めて、NaHCO₃ 水溶液 (8 mL) およびEtOAc (100 mL) をその混合物に添加した。得られた混合物を濾過し、濾液を濃縮乾固させた。CH₂Cl₂ (100 mL) 中のその粗製チオラクトールの溶液を、室温で3時間、Ac₂O (2. 6 mL、28 mmol)、TEA (3. 8 mL、28 mmol) および触媒量の4-DMPAで処理した。得られた混合物を濃縮し、ヘキサン中3%のEt₂Oでのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、アセテート L-8 (4. 48 g、7. 61 mmol、収率83%) を薄黄色の油として得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 7. 70-7. 32 (m, 15H), 6. 03, 5. 99 (d & s, J=7. 6 Hz, 1H), 3. 76-3. 60 (m, 3H), 2. 60-2. 53 (m, 1

H), 2.41–2.31 (m, 1H) 2.13, 2.01 (2s, 3H), 1.04, 0.99 (2s, 9H); 元素分析. 計算値 $C_{29}H_{28}FO_3SSeSi$: C, 59.27; H, 5.66; S, 5.46。実測値: C, 59.24; H, 5.68; S, 5.42。

【実施例 32】

【0311】

(+)– N^4 –ベンゾイル–1–[(1S, 2S, 4R)–5–O–(t–ブチルジフェニルシリル)–2, 3–ジデオキシ–2–フルオロ–2–フェニル–セレニル–4–チオ– β –D–リボフラノシル] シトシン (D–9、図 3a)

HMDs (15 mL) および CH_3CN (15 mL) 中の N^4 –ベンゾイルシトシン (0.505 g、2.35 mmol) の混合物を 5 時間還流させた。真空ポンプを用いて溶媒を除去した後、 CH_3CN 15 mL 中のアセテート D–8 (0.460 g、0.786 mmol) の溶液を、そのシリル化 N^4 –ベンゾイルシトシンが入った反応フラスコに添加し、その後、TMSOTf (0.28 mL、1.4 mmol) を室温で一滴ずつ添加した。16 時間後、1 mL の飽和 $NaHCO_3$ で反応を停止させ、得られた混合物を濃縮した。その粗製混合物を 100 mL の CH_2Cl_2 で希釈し、 $NaHCO_3$ 水溶液で洗浄して、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過して、濃縮した。その粗製生成物をヘキサン中 30% の EtOAc でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、シトシン誘導体 D–9 (0.269 g、0.362 mmol、収率 46%) を泡沫として得た。濃縮すると、バルキーな α –フェニルセレニル基のために、 β –アノマーが過剰に生じた (Chen, D. K.; Babu, J. R.; Beach, W.; Ahn, S. K.; Huang, H.; Jeong, L. S.; Lee, S. J., 「チミンでの 2–(フェニルセレニル)–2', 3'–ジデオキシリボース誘導体の高立体選択的グリコシル化: 3'–デオキシ–2', 3'–ジデヒドロチミジンおよび 3'–デオキシチミジンの合成 (A highly stereoselective glycosylation of 2–(phenylselenenyl)–2, 3–dideoxyribose derivative with thymine: Synthesis of 3'–deoxy–2', 3'–didehydrothymidine and 3'–deoxythymidine)」, J. Org. Chem. 1990, 55, 1418–1420)。[α] $^{24}_D$ 179.0° (c 0.50, CH_2Cl_2); UV (MeOH) λ_{max} 308 nm; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, $J=6.5$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.69–7.27 (m, 19H), 6.91 (d, $J=15.6$ Hz, 1H), 3.87–3.72 (m, 2H), 3.68–3.58 (m, 1H), 2.62–2.47 (m, 2H), 1.02 (s, 9H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 161.94, 155.42, 147.17, 136.96, 135.60, 135.54, 133.21, 132.83, 129.96, 129.92, 129.41, 129.20, 129.03, 127.78, 127.60, 125.73, 106.39 (d, $J=248.8$ Hz), 96.87, 66.74 (d, $J=17.6$ Hz), 66.29, 47.21, 42.39 (d, $J=22.2$ Hz), 26.73, 19.15; 元素分析. 計算値 $C_{38}H_{38}FN_3O_3SSeSi$: C, 61.44; H, 5.16; N, 5.66; S, 4.32。実測値: C, 61.52; H, 5.42; N, 5.47; S, 4.21。

【0312】

アセテート D–8 と様々なピリミジンの縮合のために、同様の手順を行って、様々な他の (+)– N^4 –ベンゾイル–1–[(1S, 2S, 4R)–5–O–(t–ブチルジフェニルシリル)–2, 3–ジデオキシ–2–フルオロ–2–フェニル–セレニル–4–チオ– β –D–リボフラノシル] ピリミジンを得ることができる。

【0313】

例えば、アセテート D–8 とピリミジンの縮合反応のための上記一般手順を用いて、(+) N^4 –ベンゾイル–1–[(1S, 2S, 4R)–5–O–(t–ブチルジフェニル

シリル) - 2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニル-セレンル-4-チオ-β-D-リボフラノシル] - 5-フルオロシトシン (D-10、図3a) を製造した。化合物 D-10 は、0.850 mmol スケールでは収率 52% で得られた。[α]²⁴_D 202.6° (c 0.410, CH₂Cl₂) ; UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 332.5 nm ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.87 (dd, J = 5.9, 1.7 Hz, 1H), 7.72-7.28 (m, 18H), 6.73 (d, J = 16.3 Hz, 1H), 3.92-3.76 (m, 2H), 3.67-3.58 (dt J = 11.5, 6.8 Hz, 1H), 2.63-2.46 (m, 2H), 1.07 (s, 9H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) δ 151.88 (d J = 19.2 Hz), 147.15, 139.01 (d, J = 237.9 Hz), 136.78, 235.90, 135.49, 135.47, 133.00, 132.71, 130.01, 129.96, 129.91, 129.51, 129.18, 128.24, 127.76, 126.85 (d, J = 34.4 Hz), 124.74, 105.60 (d, J = 247.5 Hz), 67.01 (d, J = 18.6), 66.43, 47.19, 41.64 (d, J = 21.0 Hz), 26.68, 19.09。

【0314】

加えて、アセテート D-8 とピリミジンの縮合反応のための上記一般手順を用いて、チミン類似体 (D-11、図3a) を製造した。化合物 D-11 は、0.850 mmol スケールでは収率 45% で得られた。[α]²⁵_D 137.8° (c 0.42, CH₂Cl₂) ; UV (CH₂Cl₂) λ_{max} (CH₂Cl₂) 266.0 nm ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.13 (br s, 1H), 7.74-7.25 (m, 16H), 6.72 (d, J = 18.1 Hz, 1H), 3.87-3.73 (m, 2H), 3.67-3.57 (m, 1H), 2.62-2.44 (m, 2H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) δ 163.25, 150.93, 137.22 (d, J = 6.1 Hz), 136.88, 135.48, 132.94, 132.90, 129.87, 129.46, 129.15, 127.74, 125.16, 110.67, 106.15 (d, J = 247.03 Hz), 66.76, 65.85 (d, J = 18.3 Hz), 46.79, 42.04 (d, J = 21.0 Hz), 26.70, 19.17, 12.59。

【0315】

同様に、アセテート D-8 とピリミジンの縮合反応のための上記一般手順を用いて、ウラシル類似体 (D-12、図3a) を製造した。化合物 D-12 は、0.766 mmol スケールでは収率 53% で得られた。[α]²³_D 136.5° (c 0.36, CH₂Cl₂) ; UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 262.5 nm ; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 3.87-3.72 (m, 2H), 3.62-3.58 (ps quin, J = 6.2 Hz, 1H), 2.55-2.41 (m, 2H), 1.03 (s, 9H) ; ¹³C NMR (CDCl₃) δ 162.77, 150.77, 141.80 (d, J = 5.0 Hz), 136.94, 135.58, 135.51, 132.80, 132.77, 129.93, 129.61, 129.26, 127.79, 125.12, 106.24 (d, J = 248.7 Hz), 102.31, 66.06, 65.99 (d, J = 14.6 Hz), 46.86, 41.58 (d, J = 21.8 Hz), 26.75, 19.18。

【0316】

プリン類似体の合成にはさらに注意深い処理が必要であった。重要な中間体 D-8 を 6-クロロプリンおよび 2-フルオロ-6-クロロプリンと縮合して、対応するヌクレオシド D-21 および D-22 をそれぞれ収率 65% および 66% で得た。クリーンで高収率の転化を達成するためには、0℃での TMSOTf の添加後、反応混合物を 6 時間、室温で攪拌し、その後、2 時間 60℃で攪拌するといったように、反応混合物温度の注意深い制御が必要だった。6-クロロプリン誘導体 D-21 を、mCPBA、ピリジンで順次処理

することによりシン脱離させて (syn-eliminated)、2', 3'-不飽和ヌクレオシド D-23 とその $\Delta^{1,2}$ -異性体 D-24 の不可分混合物 (^1H NMR により 3:1 と判定された) を収率 81% で得た。スチールボンベ中、100℃ のアンモニアメタノール溶液での処理による D-23 と D-24 の混合物のアミノ化によって、アデノシン類似体を得、これを、THF 中、TBAF によって脱保護して、2'-フルオロ-4'-チオ-2', 3'-不飽和アデノシン 24 を収率 61% で得た。しかし、 $\Delta^{1,2}$ -異性体 D-24 は、その不安定さに起因して、反応条件下およびシリカゲルカラムクロマトグラフィーのもとで生き残れなかった。同様に、2'-フルオロ-6-クロロプリン誘導体 D-22 を mCPBA で処理し、続いてピリジンで処理して、シン脱離生成物 D-25 とその $\Delta^{1,2}$ -異性体 D-26 の不可分混合物を収率 71% で得た。乾燥アンモニアガスを、室温で 16 時間、エチレングリコールジメチルエーテル (DME) 中の D-25 および D-26 の溶液中でバブリングして、2-アミノ-6-クロロプリン誘導体 D-29 および 2-フルオロ-6-アミノプリン誘導体 D-30 をそれぞれ収率 45% および 25% で得、これらを、シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって迅速に分離した。 $\Delta^{1,2}$ -異性体 D-26 は、反応条件および精製条件で生き残れるほど安定ではなかった。

10

【実施例 33】

【0317】

(-) -N⁴-ベンゾイル-1-[(1S, 2S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレンル-4-チオ- β -D-リボフラノシル] シトシン (L-9、図 4a)

20

HMD S (15 mL) および CH₃CN (15 mL) 中の N⁴-ベンゾイルシトシン (0.548 g、2.55 mmol) の混合物を 5 時間還流させた。真空ポンプを用いて溶媒を除去した後、CH₃CN 15 mL 中のアセテート L-8 (0.500 g、0.849 mmol) の溶液を、そのシリル化 N⁴-ベンゾイルシトシンが入った反応フラスコに添加し、その後、TMSOTf (0.31 mL、1.7 mmol) を室温で一滴ずつ添加した。16 時間後、1 mL の飽和 NaHCO₃ で反応を停止させ、得られた混合物を 5 分の 1 の体積に濃縮した。その粗製混合物を 100 mL の CH₂Cl₂ で希釈し、NaHCO₃ 水溶液で洗浄して、MgSO₄ で乾燥させ、濾過して、濃縮した。その粗製生成物をヘキササン中 30% の EtOAc でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、シトシン誘導体 L-9 (0.330 g、0.404 mmol、収率 48%) を泡沫として得た。[α]_D²⁴ -16.38° (c 0.486, CH₂Cl₂) ; UV (MeOH) λ_{max} 308 nm; ^1H NMR (CDCl₃) δ 8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, J=6.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J=7.3 Hz, 2H), 7.69-7.27 (m, 19H), 6.91 (d, J=15.6 Hz, 1H), 3.87-3.72 (m, 2H), 3.68-3.58 (m, 1H), 2.62-2.47 (m, 2H), 1.02 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl₃) δ 161.94, 155.42, 147.17, 136.96, 135.60, 135.54, 133.21, 132.83, 129.96, 129.92, 129.41, 129.20, 129.03, 127.78, 127.60, 125.73, 106.39 (d, J=248.8 Hz), 96.87, 66.74 (d, J=17.6 Hz), 66.29, 47.21, 42.39 (d, J=22.2 Hz), 26.73, 19.15; 元素分析. 計算値 C₃₈H₃₈FN₃O₃SSeSi·0.2Et₂O: C, 61.51; H, 5.32; N, 5.55; S, 4.23。実測値: C, 61.88; H, 5.55; N, 5.56; S, 4.21。

30

40

【0318】

アセテート L-8 とピリミジンの縮合反応のための上記一般手順を用いて、(-) -N⁴-ベンゾイル-1-[(1S, 2S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレンル-4-チオ- β -L-リボフラノシル] -5-フルオロシトシン (L-10、図 4a) を製造した。化合物 L-10

50

は、0.849 mmol スケールでは収率 59% で得られた： $[\alpha]^{24}_D -209.1^\circ$ (c 0.693, CH₂Cl₂)；UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 332.5 nm；¹H NMR (CDCl₃) δ 12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, J=7.5 Hz, 2H), 7.87 (dd, J=5.9, 1.7 Hz, 1H), 7.72–7.28 (m, 18H), 6.73 (d, J=16.3 Hz, 1H), 3.92–3.76 (m, 2H), 3.67–3.58 (dt J=11.5, 6.8 Hz, 1H), 2.63–2.46 (m, 2H), 1.07 (s, 9H)；¹³C NMR (CDCl₃) δ 151.88 (d J=19.2 Hz), 147.15, 139.01 (d, J=237.9 Hz), 136.78, 135.90, 135.49, 135.47, 133.00, 132.71, 130.01, 129.96, 129.91, 129.51, 129.18, 128.24, 127.76, 126.85, (d, J=34.4 Hz), 124.74, 105.60 (d, J=247.5 Hz), 67.01 (d, J=18.6 Hz), 66.43, 47.19, 41.64 (d, J=21.0 Hz) 26.68, 19.09；FABMS m/z 762 (MH)⁺；元素分析．計算値 C₃₈H₃₇F₂N₃O₃SSeSi：C, 59.99；H, 4.90；N, 5.52；S, 4.21。実測値：C, 59.97；H, 5.05；N, 5.44；S, 4.23。

【0319】

アセテート L-8 の縮合反応のためのこの一般手順は、様々なピリミジンとの縮合に適用可能である。

【0320】

アセテート L-8 とピリミジンの縮合反応のための上記一般手順を用いて、(–)–1–[(1S, 2S, 4R)–5–O–(t-ブチルジフェニルシリル)–2, 3-ジデオキシ–2-フルオロ–2-フェニルセレニル–4-チオ–β-L-リボフラノシル]チミン (L-11、図 4a) を製造した。化合物 L-11 は、0.849 mmol スケールでは収率 38% で得られた： $[\alpha]^{26}_D -130.6^\circ$ (c 0.464, CH₂Cl₂)；UV (CH₂Cl₂) λ_{max} (CH₂Cl₂) 266.0 nm；¹H NMR (CDCl₃) δ 9.13 (br s, 1H), 7.74–7.25 (m, 16H), 6.72 (d, J=18.1 Hz, 1H), 3.87–3.73 (m, 2H), 3.67–3.57 (m, 1H), 2.62–2.44 (m, 2H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H)；¹³C NMR (CDCl₃) δ 163.25, 150.93, 137.22 (d, J=6.1 Hz), 136.88, 135.48, 132.94, 132.90, 129.87, 129.46, 129.15, 127.74, 125.16, 110.67, 106.15 (d, J=247.03 Hz), 66.76, 65.85 (d, J=18.3 Hz), 46.79, 42.04 (d, J=21.0 Hz), 26.70, 19.17, 12.59；FABMS m/z 655 (M+H)⁺；元素分析．計算値 C₃₂H₃₅FN₂O₃SSeSi·0.1CH₂Cl₂：C, 58.22；H, 5.36；N, 4.23；S, 4.84。実測値：C, 58.05；H, 5.46；N, 4.20；S, 4.98。

【0321】

アセテート L-8 とピリミジンの縮合反応のための上記一般手順を用いて、(–)–1–[(1S, 2S, 4R)–5–O–(t-ブチルジフェニルシリル)–2, 3-ジデオキシ–2-フルオロ–2-フェニルセレニル–4-チオ–β-L-リボフラノシル]ウラシル (L-12、図 4a) を製造した。化合物 L-12 は、0.849 mmol スケールでは収率 48% で得られた： $[\alpha]^{23}_D -129.2^\circ$ (c 0.578, CH₂Cl₂)；UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 262.5 nm；¹H NMR (CDCl₃) δ 9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, J=8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.68–7.30 (m, 15H), 6.63 (d, J=17.4 Hz, 1H), 5.56 (dd, J=8.2, 1.9 Hz, 1H), 3.87–3.72 (m, 2H), 3.62–3.58 (ps quin, J=6.2 Hz, 1H), 2.55–2.41 (m, 2H), 1.03 (s, 9H)；¹³C NMR (COCl₃) δ 162.77, 150.77, 1

41.80 (d, $J=5.0$ Hz), 136.94, 135.58, 135.51, 132.80, 132.77, 129.93, 129.61, 129.26, 127.79, 125.12, 106.24 (d, $J=248.7$ Hz), 102.31, 66.06, 65.99 (d, $J=14.6$ Hz), 46.86, 41.58 (d, $J=21.8$ Hz), 26.75, 19.18; 元素分析. 計算値 $C_{31}H_{33}FN_2O_3SSeSi$: C, 58.20; H, 5.20; N, 4.38; S, 5.01。実測値: C, 58.18; H, 5.33; N, 4.33; S, 4.95。

【実施例 34】

【0322】

(-) -N⁴-ベンゾイル-1-[(1S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-リボフラノシル] シトシン (D-13、図 3a)

CH₂Cl₂ 5 mL 中の化合物 D-9 (0.229 g、0.310 mmol) の溶液に、CH₂Cl₂ 5 mL 中の mCPBA (57% から 86%、69 mg) の溶液を -78℃ で添加し、その混合物を -78℃ で 30 分間攪拌した。その後、ピリミジン (0.07 mL、0.9 mmol) を添加し、得られた混合物を室温で 2 時間攪拌した。その反応混合物を 50 mL の CH₂Cl₂ で希釈し、NaHCO₃ 水溶液で洗浄して、MgSO₄ で乾燥させ、濾過して、濃縮した。その粗製生成物をヘキサン中 40% の EtOAc でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、脱離生成物 D-13 (0.107 g、0.225 mmol、収率 72%) を泡沫として得た。[α]²⁵_D -140.2° (c 0.366, CH₂Cl₂) ; UV (MeOH) λ_{max} 308 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.95 (br s, 1H), 7.91 (dd, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.69-7.38 (m, 15H), 7.03 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 4.23-4.15 (m, 1H), 3.83 (dd, $J=10.4$, 6.1 Hz, 1H), 3.78 (dd, $J=10.4$, 6.3 Hz, 1H), 1.10 (s, 9H); ¹³C NMR (COCl₃) δ 171.09, 166.78, 162.14, 155.06, 155.04 (d, $J=280.8$ Hz), 144.49, 135.58, 135.50, 133.19, 132.96, 132.76, 132.43, 130.11, 128.97, 127.89, 127.58, 111.29 (d, $J=16.6$ Hz), 98.40, 67.75, 61.91 (d, $J=23.6$ Hz), 46.83 (d, $J=7.2$ Hz), 26.82, 19.24; 元素分析. 計算値 $C_{32}H_{33}FN_3O_3SSi$: C, 65.88; H, 5.66; N, 7.07; S, 5.39。実測値: C, 66.01; H, 5.88; N, 6.82; S, 5.20。

【0323】

2', 3'-不飽和ヌクレオシドを得るための、mCPBA を用いるシン脱離 (syn-elimination) 反応のための一般手順。

【0324】

mCPBA を用いるシン脱離反応のために、同様の手順を実施して、様々な他の 2', 3'-不飽和ヌクレオシドを得ることができる。

【0325】

例えば、mCPBA を用いるシン脱離反応のための上記一般手順を用いて、(-) -N⁴-ベンゾイル-1-[(1S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-リボフラノシル] -5-フルオロシトシン (D-14、図 3a) を製造した。化合物 D-14 は、0.465 mmol スケールでは収率 69% で得られた。[α]²⁵_D -150.5° (c 0.345, CH₂Cl₂) ; UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 331.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 7.72-7.38 (m, 14H), 6.95 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 4.23-4.15 (m, 1H), 3.84 (dd, $J=10.5$, 6.2 Hz, 1H), 3.79 (dd, $J=10.2$, 6.6 Hz, 1H), 1.10 (s, 9H);

^{13}C NMR (CDCl_3) δ 152.88 (d, $J=281.3\text{ Hz}$), 152.08 (d, $J=19.1\text{ Hz}$), 147.13, 140.42 (d, $J=241.0\text{ Hz}$), 135.86, 135.59, 135.50, 133.17, 132.59, 132.39, 130.18, 130.15, 130.11, 128.33, 127.93, 124.05 (d, $J=36.2\text{ Hz}$), 111.24 (d, $J=16.5\text{ Hz}$), 67.77, 61.85 (d, $J=23.54\text{ Hz}$), 47.05 (d, $J=7.1\text{ Hz}$), 26.79, 19.23。

【0326】

加えて、mCPBAを用いるシン脱離反応のための上記一般手順を用いて、(ー)ー1ー[(1S, 4R)ー5ーOー(ーブチルジフェニルシリル)ー2, 3ージデオキシー2, 3ージデヒドロー2ーフルオロー4ーチオーβーDーリボフラノシル]チミン(Dー15、図3a)を製造した。化合物Dー15は、0.375mmolスケールでは収率69%で得られた。 $[\alpha]_D^{26} -43.2^\circ$ (c 0.34, CH_2Cl_2) ; UV (CD_2Cl_2) λ_{max} 266.0nm ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 9.45 (br s, 1H), 7.72ー7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 5.81 (s, 1H), 4.22ー4.13 (m, 1H), 3.85 (dd, $J=10.5$, 6.5 Hz, 1H), 3.77 (dd, $J=10.2$, 7.0 Hz, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.08 (s, 9H) ; ^{13}C NMR (COCl_3) δ 163.47, 154.97 (d, $J=281.2\text{ Hz}$), 150.78, 135.52, 135.43, 134.52, 132.79, 132.51, 130.03, 127.84, 112.65, 110.45 (d, $J=16.8\text{ Hz}$), 68.23, 60.49 (d, $J=23.7\text{ Hz}$), 46.74 (d, $J=7.1\text{ Hz}$), 26.74, 19.23, 12.54。

【0327】

同様に、mCPBAを用いるシン脱離反応のための上記一般手順を用いて、(ー)ー1ー[(1S, 4R)ー5ーOー(ーブチルジフェニルシリル)ー2, 3ージデオキシー2, 3ージデヒドロー2ーフルオロー4ーチオーβーDーリボフラノシル]ウラシル(Dー16、図3a)を製造した。化合物Dー16は、0.391mmolスケールでは収率58%で得られた。 $[\alpha]_D^{25} -72.1^\circ$ (c 0.35, CH_2Cl_2) ; UV (CH_2Cl_2) λ_{max} 262.5nm ; ^1H NMR (CDCl_3) δ 9.34 (br s, 1H), 7.70ー7.35 (m, 11H), 6.93 (s, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.44 (dd, $J=8.1$, 1.2 Hz, 1H), 4.22ー4.14 (m, 1H), 3.85 (dd, $J=10.6$, 5.9 Hz, 1H), 3.81 (dd, $J=10.5$, 5.6 Hz, 1H), 1.09 (s, 9H) ; ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 162.78, 154.79 (d, $J=280.9\text{ Hz}$), 150.59, 139.55, 135.59, 135.49, 132.79, 132.37, 130.13, 130.10, 127.92, 127.90, 110.70 (d, $J=16.9\text{ Hz}$), 104.01, 67.33, 60.74 (d, $J=23.7\text{ Hz}$), 46.88 (d, $J=7.2\text{ Hz}$), 26.87, 19.31。

【0328】

シン脱離反応のための上記一般手順を用いて、9ー[(1R, 4S)ー5ーOー(ーブチルジフェニルシリル)ー2, 3ージデオキシー2, 3ージデヒドロー2ーフルオロー4ーチオーβーDーリボフラノシル]ー6ークロロプリン(Dー23、図3b)および9ー[(4S)ー5ーOー(ーブチルジフェニルシリル)ー2, 3ージデオキシー1, 2ージデヒドロー2ーフルオロー4ーチオーβーDーリボフラノシル]ー6ークロロプリン(Dー24、図3b)も製造した。化合物Dー23とDー24(3:1)の混合物は、1.48mmolスケールでは収率86%で、薄黄色の泡沫として得られた。UV (CH_2Cl_2) λ_{max} 264.5nm ; ^1H NMR (CDCl_3) , 主生成物についてDー23: δ 8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.69ー7.35 (m, 10H), 6.87 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 4.33ー4.25 (m, 1H),

3. 96 (dd, $J=10.2$, 6.8 Hz, 1H), 3. 86 (ps t, $J=8.8$ Hz, 1H), 1. 08 (s, 9H); 副生成物について D-24 δ 8. 82 (s, 1H), 8. 19 (s, 1H), 7. 69-7. 35 (m, 10H) 4. 05-3. 78 (m, 3H), 3. 25 (ddd, $J=16.6$, 9.2 , 3.1 Hz, 1H), 3. 03 (dd, $J=16.6$, 5.2 Hz, 1H), 1. 08 (s, 9H); 元素分析. 計算値 $C_{26}H_{26}ClFN_4OSSi$: C, 59. 47; H, 4. 99; N, 10. 67; S, 6. 11. 実測値: C, 59. 58; H, 5. 03; N, 10. 41; S, 6. 09.

【0329】

同様に、シン脱離反応のための上記一般手順を用いて、9-[(1R, 4S)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-リボフラノシル]-6-クロロ-2-フルオロプリン (D-25、図3b) および 9-[(4S)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-1, 2-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-リボフラノシル]-6-クロロ-2-フルオロプリン (D-26、図3b) も製造した。化合物 D-25 と D-26 の混合物は、1. 14 mmol スケールでは、収率 71% で、薄黄色の泡沫として得られた。UV (CH_2Cl_2) λ_{max} 266. 0 nm; ^1H NMR ($CDCl_3$) 主生成物について D-25: δ 8. 08 (s, 1H), 7. 69-7. 36 (m, 10H), 6. 68 (s, 1H), 6. 75 (s, 1H), 5. 86 (s, 1H), 4. 32-4. 23 (m, 1H), 3. 94 (dd, $J=10.2$, 6.0 Hz, 1H), 3. 87-3. 83 (m, 1H), 1. 08 (s, 9H), 副生成物について D-26 δ 8. 12 (s, 1H), 7. 75-7. 31 (m, 10H) 4. 04-3. 80 (m, 3H), 3. 24 (ddd, $J=16.3$, 9.3 , 3.1 Hz, 1H), 3. 01 (ddd, $J=16.8$, 5.1 , 0.6 Hz, 1H), 1. 08 (s, 9H)。

【実施例 35】

【0330】

(+)- N^4 -ベンゾイル-1-[(1S, 4R)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル] シトシン (L-13、図4a)
 CH_2Cl_2 5 mL 中の化合物 L-9 (0. 169 g、0. 228 mmol) の溶液に、 CH_2Cl_2 5 mL 中の mCPBA (57% から 86%、69 mg) の溶液を -78 °C で添加し、その混合物を -78 °C で 30 分間攪拌した。その後、ピリミジン (0. 07 mL、0. 9 mmol) を添加し、得られた混合物を室温で 2 時間攪拌した。その反応混合物を 50 mL の CH_2Cl_2 で希釈し、 $NaHCO_3$ 水溶液で洗浄して、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過して、濃縮した。その粗製生成物をヘキサン中 30% の EtOAc でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、脱離生成物 L-13 (0. 107 g、0. 183 mmol、収率 80%) を泡沫として得た。 $[\alpha]^{24}_D$ 128. 81 ° (c 0. 515, CH_2Cl_2); UV (CH_2Cl_2); UV (MeOH) λ_{max} 308 nm; ^1H NMR ($CDCl_3$) δ 8. 95 (br s, 1H), 7. 91 (d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7. 69-7. 38 (m, 15H), 7. 03 (s, 1H), 5. 82 (s, 1H), 4. 23-4. 15 (m, 1H), 3. 83 (dd, $J=10.4$, 6.3 Hz, 1H), 1. 10 (s, 9H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 171. 09, 166. 78, 162. 14, 155. 06, 155. 04 (d, $J=280.8$ Hz), 144. 49, 135. 58, 135. 50, 133. 19, 132. 96, 132. 76, 132. 43, 130. 11, 128. 97, 127. 89, 127. 58, 111. 29 (d, $J=16.6$ Hz), 98. 40, 67. 75, 61. 91 (d, $J=23.6$ Hz), 46. 83 (d, $J=7.2$ Hz), 26. 82, 19. 24; 元素分析. 計算値 $C_{32}H_{32}FN_3O_3SSi \cdot 0.1C_6H_{14}$: C, 65. 88; H, 5. 66; N, 7. 07; S, 5. 39. 実測値: C, 66. 01; H, 5. 88; N, 6. 82; S, 5. 20。

【0331】

mCPBAを用いるシン脱離反応のためのこの一般手順を用いて、様々な2', 3'-不飽和ヌクレオシドを得ることができる。

【0332】

シン脱離反応のための上記一般手順を用いて、(+)-N⁴-ベンゾイル-1-[(1S, 4R)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル]-5-フルオロシトシン(L-14、図4a)を製造した。化合物L-14は、0.493mmolスケールでは収率73%で得られた。 $[\alpha]^{26}_D$ 152.58°(c 0.485, CH₂Cl₂) ; UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 331.0nm; ¹H NMR(CDCl₃) δ 12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, J=7.3Hz, 2H), 7.72-7.38 (m, 14H), 6.95 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 4.23-4.15 (m, 1H), 3.84 (dd, J=10.5, 6.2Hz, 1H), 3.79 (dd, J=10.2, 6.6Hz, 1H), 1.10 (s, 9H); ¹³C NMR(CDCl₃) δ 152.88 (d, J=281.3Hz), 152.08 (d, J=19.1Hz), 147.13, 140.42 (d, J=241.0Hz), 135.86, 135.59, 135.50, 133.17, 132.59, 132.39, 130.18, 130.15, 130.11, 128.33, 127.93, 124.05 (d, J=36.2Hz), 111.24 (d, J=16.5Hz), 67.77, 61.85 (d, J=23, 54 Hz), 47.05 (d, J=7.1Hz), 26.79, 19.23; FABMS m/z 604 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値C₃₂H₃₁FN₃O₃SSi : C, 63.66; H, 5.18; N, 6.96; S, 5.31。実測値: C, 63.69; H, 5.30; N, 6.78; S, 5.26。

【0333】

シン脱離反応のための上記一般手順を用いて、(+)-1-[(1S, 4R)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル]チミン(L-15、図4a)を製造した。化合物L-15は、0.326mmolスケールでは収率76%で得られた。 $[\alpha]^{26}_D$ 50.7°(c 0.530, CH₂Cl₂) ; UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 266.0nm; ¹H NMR(CDCl₃) δ 9.45 (br s, 1H), 7.72-7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 5.81 (s, 1H), 4.22-4.13 (m, 1H), 3.85 (dd, J=10.5, 6.5Hz, 1H), 3.77 (dd, J=10.2, 7.0Hz, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.08 (s, 9H); ¹³C NMR(CDCl₃) δ 163.47, 154.97 (d, J=281.2Hz), 150.78, 135.52, 135.43, 134.52, 132.79, 132.51, 130.03, 127.84, 112.65, 110.45 (d, J=16.8Hz), 68.23, 60.49 (d, J=23.7Hz), 46.74 (d, J=7.1Hz), 26.74, 19.23, 12.54; HRMS (FAB) 実測値, m/z 497.1725, 計算値C₂₆H₃₀FN₂O₃SSi, m/z 497.1730 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値C₂₆H₂₉FN₂O₃SSi·0.1CHCl₃ : C, 61.64; H, 5.65; N, 5.38; S, 6.30。実測値 : C, 61.34; H, 5.82; N, 5.36; S, 6.13。

【0334】

シン脱離反応のための上記一般手順を用いて、(+)-1-[(1S, 4R)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル]ウラシル(L-16、図4a)を製造した。化合物L-16は、0.411mmolスケールでは収率68%で得られた。 $[\alpha]^{26}_D$ 77.7°(c 0.492, CH₂Cl₂) ; UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 262.5nm; ¹H NMR(CDCl₃) δ 9.34 (br s, 1H), 7.70-7.35 (m, 11H), 6.93 (s, 1), 5.75 (s, 1H), 5.44 (dd, 50

J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 4.22–4.14 (m, 1H), 3.85 (dd, J = 10.6, 5.9 Hz, 1H), 3.81 (dd, J = 10.5, 5.6 Hz, 1H), 1.09 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl₃) δ 162.78, 154.79 (d, J = 280.9 Hz), 150.59, 139.55, 135.59, 135.49, 132.79, 132.37, 130.13, 130.10, 127.92, 127.90, 110.70 (d, J = 16.9 Hz), 104.01, 67.33, 60.74 (d, J = 23.7 Hz), 46.88 (d, J = 7.2 Hz), 26.87, 19.31; HRMS (FAB) 実測値, m/z 483.1572, 計算値 C₂₅H₂₅FN₂O₃SSi, m/z 483.1574 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値 C₂₅H₂₇FN₂O₃SSi: C, 62.21; H, 5.64; N, 5.80; S, 6.64。実測値: C, 62.41; H, 5.68; N, 5.71; S, 6.52。

10

【0335】

シン脱離反応のための上記一般手順を用いて、9-[(1S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル]-6-クロロプリン (L-23、図4b) および 9-[(4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-1, 2-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル]-6-クロロプリン (L-24、図4b) も製造した。化合物 L-23 と L-24 の混合物 (3:1) は、1.10 mmol スケールでは、収率 81% で、薄黄色の泡沫として得られた。UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 264.5 nm; ^1H NMR (CDCl₃) *major* L-23: δ 8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.67 (t, J = 14.4 Hz, 4H), 7.50–7.36 (m, 6H), 6.87 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 4.33–4.24 (m, 1H), 3.96 (dd, J = 10.2, 6.8 Hz, 1H), 3.86 (dd, J = 10.0, 7.5 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); 副生成物について L-24: δ 8.81 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.70–7.35 (m, 10H) 4.03–3.83 (m, 3H), 3.25 (ddd, J = 16.8, 9.3, 3.3 Hz, 1H), 3.03 (ddd, J = 16.6, 5.7, 1.2 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); 元素分析. 計算値 C₂₆H₂₆ClFN₄OSSi · 0.4 C₆H₁₄: C, 60.96; H, 5.69; N, 10.01; S, 5.73。実測値: C, 60.96; H, 5.50; N, 10.13; S, 5.93。

20

30

【0336】

シン脱離反応のための上記一般手順を用いて、9-[(1S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル]-6-クロロ-2-フルオロプリン (L-25、図4b) および 9-[(4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-1, 2-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル]-6-クロロ-2-フルオロプリン (L-26、図4b) を製造した。化合物 L-25 と L-26 の混合物は、1.12 mmol スケールでは、収率 71% で、薄黄色の泡沫として得られた。UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 266.0 nm; ^1H NMR (CDCl₃) 主生成物について L-25: δ 8.01 (s, 1H), 7.63–7.28 (m, 10H), 6.68 (s, 1H), 5.79 (s, 1H), 4.25–4.18 (m, 1H), 3.86 (td, J = 10.2, 6.5 Hz, 1H), 3.82–3.77 (m, 1H), 1.01 (s, 9H), 副生成物について L-26: δ 8.12 (s, 1H), 7.75–7.31 (m, 10H) 4.04–3.80 (m, 3H), 3.24 (ddd, J = 16.3, 9.3, 3.1 Hz, 1H), 3.01 (ddd, J = 16.8, 5.1, 0.6 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); 元素分析. 計算値 C₂₆H₂₅ClF₂N₄OSSi: C, 57.50; H, 4.64; N, 10.32; S, 5.90。実測値: C, 57.42; H, 5.02; N, 9.93; S, 5.65。

40

【実施例 36】

【0337】

50

(-) - 1 - [(1 S, 4 R) - 2, 3 - ジデオキシ - 2, 3 - ジデヒドロ - 2 - フルオ
ロ - 4 - チオ - β - D - リボフラノシル] シトシン (D - 17、図 3 a)

THF 15 mL 中の保護シチジン D - 13 (0.135 g、0.225 mmol) の溶
液を、THF 中 1 M の TBAF 0.31 mL で 2 時間処理した。その混合物を濃縮し、
シリカゲルのショートパッドに通して濾過した。濾液を濃縮した後、さらに精製せず、そ
の粗製生成物を室温で、30 分間、アンモニアメタノール溶液で処理した。溶媒を除去し
た後、残留物を CH_2Cl_2 中 5% の MeOH でのシリカゲルカラムクロマトグラフィー
によって精製して、シチジン類似体 D - 17 (0.048 g、0.186 mmol、収率
84%) を白色の固体として得た：融点 89°C から 91°C (分解)； $[\alpha]_D^{24} - 17$
1.3° (c 0.44, MeOH)；UV (H_2O) λ_{max} 279.5 nm (ϵ 19, 10
900, pH 2), 272.0 nm (ϵ 15, 900, pH 7), 272.5 nm (ϵ 16
, 200, pH 11)； ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7.83 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.33, 7.37 (2 br s, 2H), 6.85 (s, 1H), 5.9
4 (s, 1H), 5.84 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.28 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, D_2O 交換可能), 4.02 (m, 1H), 3.59 - 3.62 (m, 2H)
；元素分析：計算値 $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{FN}_3\text{O}_2\text{S} \cdot 0.6\text{H}_2\text{O} \cdot 0.5\text{MeOH}$ ：42.3
6；H, 4.74；N, 15.94；S, 12.16。実測値：C, 42.07；H, 4
.45；N, 15.62；S, 12.06。

【0338】

他の (-) - 1 - [(1 S, 4 R) - 2, 3 - ジデオキシ - 2, 3 - ジデヒドロ - 2 - フ
ルオロ - 4 - チオ - β - D - リボフラノシル] スクレオシドの二連続脱保護のために、同
様の手順を用いることができる。

【0339】

例えば、二連続脱保護のための上記一般手順を用いて、D - 14 から (-) - 1 - [(1
S, 4 R) - 2, 3 - ジデオキシ - 2, 3 - ジデヒドロ - 2 - フルオロ - 4 - チオ - β -
D - リボフラノシル] - 5 - フルオロシトシン (D - 18、図 3 a) を製造した。化合物
D - 18 は、0.296 mmol スケールでは収率 90% で得られた。 $[\alpha]_D^{25} - 2$
08.3° (c 0.42, MeOH)；UV (H_2O) λ_{max} 286.0 nm (ϵ 8,
600, pH 2), 282.0 nm (ϵ 7, 500, pH 7), 282.0 nm (ϵ 6,
900, pH 11)； ^1H NMR (MeOH- d_4) δ 8.39 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.84 (s, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.
84 (dd, $J = 11.8$, 3.7 Hz, 1H), 3.68 (br d, $J = 10.6$,
1H)。

【0340】

同様に、二連続脱保護のための上記一般手順を用いて、D - 15 から (-) - 1 - [(1
S, 4 R) - 2, 3 - ジデオキシ - 2, 3 - ジデヒドロ - 2 - フルオロ - 4 - チオ - β -
D - リボフラノシル] チミン (D - 19、図 3 a) を製造した。化合物 D - 19 は、0.
235 mmol スケールでは、収率 88% で、白色の固体として得られた：融点 174°C
から 176°C； $[\alpha]_D^{25} - 46.5$ ° (c 0.29, MeOH)；UV (H_2O) λ_{max} 268.5 nm (ϵ 5, 700, pH 2), 268.5 nm (ϵ 5, 500, pH
7), 269.0 nm (ϵ 4, 500, pH 11)； ^1H NMR (MeOH- d_4) δ
8.03 (s, 1H), 6.87 (ps t, $J = 1.0$, 1H), 5.86 (s, 1H)
, 4.17 (m, 1H), 3.84 (dd, $J = 11.9$, 4.0 Hz, 1H), 3.
77 (ddd, $J = 11.9$, 3.7, 1.7 Hz, 1H), 1.88 (d, $J = 1.2$
, 3H)。

【0341】

二連続脱保護のための上記一般手順を用いて、D - 16 から (-) - 1 - [(1 S, 4 R)
) - 2, 3 - ジデオキシ - 2, 3 - ジデヒドロ - 2 - フルオロ - 4 - チオ - β - D - リボ
フラノシル] ウラシル (D - 20、図 3 a) を製造した。化合物 D - 20 は、0.193
mmol スケールでは収率 89% で得られた：融点 184°C から 185°C； $[\alpha]_D^{25}$ 50

−136.4° (c 0.47, MeOH); UV (H₂O) λ_{max} 263.0 nm (ε 9, 100, pH 2). 263.5 nm (ε 7, 800, pH 11); ¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.11 (dd, J=8.1, 0.8 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.77 (d, J=8.1 Hz, 1H), 4.19–4.13 (m, 1H), 3.80 (dd, J=11.7, 4.5 Hz, 1H), 3.71 (ddd, J=11.7, 4.1, 1.4 Hz, 1H)。

【0342】

同様に、脱シリル化の一般手順を用いて、(+)-9-[(1R, 4S)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-リボフラノシル]-2-フルオロアデノシン (D-33、図3b) を製造した。化合物D-33は、0.22 mmol スケールでは収率70%で得られた：融点>300°C; [α]²⁶_D 17.1° (c 0.15, MeOH); UV (H₂O) λ_{max} 261.0 nm (ε 12, 700, pH 2). 261.0 nm (ε 12, 700, pH 2). 261.0 nm (ε 12, 900, pH 7), 260.5 nm (ε 13, 100, pH 11); ¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.44 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.27–4.22 (m, 1H), 3.89 (dd, J=11.7, 4.9 Hz, 1H), 3.82 (ddd, J=12.0, 4.6, 1.2 Hz, 1H); 元素分析. 計算値 C₁₀H₉F₂N₅OS·0.4Et₂O: C, 44.24; H, 4.16; N, 22.24; S, 10.18。実測値: C, 44.28; H, 3.97; N, 22.39; S, 10.29。

20

【0343】

選択的に、TBAFを用ることにより、t-ブチルフェニルエーテルの類似の脱シリル化に、同様の手順を用いることができる。

【実施例37】

【0344】

(+)-1-[(1S, 4R)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル] シトシン (L-17、図4a) THF 15 mL 中の不飽和シチジン L-13 (0.180 g、0.307 mmol) の溶液を、THF 中 1 M の TBAF 0.37 mL で 2 時間処理した。その混合物を濃縮し、シリカゲルのショートパッドに通して濾過した。濾液を濃縮した後、さらに精製せず、その粗製生成物を室温で、30 分間、アンモニアメタノール溶液で処理した。溶媒を除去した後、残留物を CHCl₃ 中 5% の MeOH でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、シチジン類似体 L-17 (0.066 g、0.27 mmol、収率 88%) を白色の固体として得た：融点 89°C から 91°C (分解); [α]²⁴_D 205.3° (c 0.140, MeOH); UV (H₂O) λ_{max} 279.5 nm (ε 19, 900, pH 2). 272.0 nm (ε 15, 900, pH 7), 272.5 nm (ε 16, 200, pH 11); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 7.83 (d, J=7.4 Hz, 1H), 7.33, 7.37 (2 br s, 2H), 6.85 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.84 (d, J=7.5 Hz, 1H), 5.28 (t, J=5.4 Hz, 1H, D₂O 交換可能), 4.02 (m, 1H), 3.59–3.62 (m, 2H); 元素分析. 計算値 C₉H₁₀FN₃O₂S·0.32CH₂Cl₂: C, 41.39; H, 3.97; N, 15.54; S, 11.86。実測値: C, 41.15; H, 4.10; N, 15.55; S, 11.82。

30

40

【0345】

保護不飽和ヌクレオシドの連続脱保護のために、上記一般手順を用いて、類似の脱保護不飽和ヌクレオシドを調製することができる。

【0346】

連続脱保護のための上記一般手順を用いて、(+)-1-[(1S, 4R)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル]-5-フルオロシトシン (L-18、図4a) を製造した。化合物 L-18 は、0.34

50

6 mmol スケールでは収率 88% で得られた：融点 189℃ から 190℃； $[\alpha]^{24}_D$ 169.2° (c 0.159, MeOH)；UV (H₂O) λ_{max} 286.0 nm (ϵ 8,600, pH 2), 282.0 nm (ϵ 7,500, pH 7), 282.0 nm (ϵ 6,900, pH 11)；¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.39 (d, J = 6.6 Hz, 1H) 6.92 (s, 1H), 5.84 (s, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.84 (dd, J = 11.8, 3.7 Hz, 1H), 3.68 (br d, J = 10.6, 1H)；元素分析．計算値 C₉H₁₀FN₃O₂S：C, 41.38；H, 3.47；N, 16.08；S, 12.27。実測値：C, 41.45；H, 3.60；N, 15.95；S, 12.14。

【0347】

同様に、脱シリル化の蒸気一般手順を用いて、(+)-1-[(1S, 4R)-2,3-ジデオキシ-2,3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル]チミン (L-19、図 4a) を製造した。化合物 L-29 は、0.248 mmol スケールでは、収率 91% で、白色の固体として得られた：融点 174℃ から 176℃； $[\alpha]^{24}_D$ 50.4° (c 0.180, MeOH)；UV (H₂O) λ_{max} 268.5 nm (ϵ 5,500, pH 7), 269.0 nm (ϵ 4,500, pH 11)；¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.03 (s, 1H), 6.87 (ps t, J = 1.0, 1H), 5.86 (s, 1H), 4.17 (m, 1H), 3.84 (dd, J = 11.9, 4.0 Hz, 1H), 3.77 (ddd, J = 11.9, 3.7, 1.7 Hz, 1H), 1.88 (d, J = 1.2, 3H)；元素分析．計算値 C₁₀H₁₁FN₂O₃S・0.35 Et₂O：C, 48.18；H, 5.14；N, 9.86；S, 11.28。実測値：C, 48.49；H, 4.88；N, 10.07；S, 11.59。

【0348】

脱シリル化反応のための上記一般手順を用いて、(+)-1-[(1S, 4R)-2,3-ジデオキシ-2,3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル]ウラシル (L-20、図 4a) を製造した。化合物 L-20 は、0.280 mmol スケールでは収率 92% で得られた：融点 184℃ から 185℃； $[\alpha]^{24}_D$ 132.9° (c 0.103, MeOH)；UV (H₂O) λ_{max} 263.0 nm (ϵ 9,100, pH 2), 263.0 nm (ϵ 9,700, pH 7), 263.5 nm (ϵ 7,800, pH 11)；¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.11 (dd, J = 8.1, 0.8 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.77 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.80 (dd, J = 11.7, 4.5 Hz, 1H), 3.71 (ddd, J = 11.7, 4.1, 1.4 Hz, 1H)；元素分析．計算値 C₉H₉FN₂O₃S・0.03 CHCl₃：C, 43.76；H, 3.67；N, 11.30；S, 12.94。実測値：C, 43.77；H, 3.91；N, 11.13；S, 12.62。

【0349】

同様に、TBAF を用ることにより、t-ブチルフェニルエーテルの類似の脱シリル化のために、同様の手順を用いることができる。

【実施例 38】

【0350】

(+)-9-[(1R, 2R, 4S)-5-O-(t-ブチルジフェニルシリル)-2,3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレニル-4-チオ-β-L-リボフラノシル]-6-クロロプリン (D-21、図 4a)

HMD S 60 mL 中の 6-クロロプリン (0.947 g、6.12 mmol) と硫酸アンモニウム (0.135 g、1.02 mmol) の混合物を 5 時間還流させた。HMD S を蒸発させて、黄色の固体を得た。シリル化 6-クロロプリンが入っているこのフラスコに、1,2-ジクロロエタン (30 mL) 中のアセテート D-8 (1.2 g、2.04 mmol) の溶液を添加した。得られたスラリーを -25℃ に冷却し、TMSOTf (0.74 mL、4.08 mmol) を -25℃ で一滴ずつ添加した。その反応混合物を -25

10

20

30

40

50

℃から−10℃で3時間、室温で8時間、そして40℃で5時間攪拌した。得られた混合物を300mLのCH₂Cl₂で希釈し、NaHCO₃水溶液で洗浄して、MgSO₄で乾燥させ、濾過して、濃縮した。その粗製生成物をヘキサン中11%のEtOAcでのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物D-21(1.01g、1.48mmol、収率73%)を薄黄色の泡沫として得た。 $[\alpha]^{24}_D$ 75.4°(c 1.08, CHCl₃) ; UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 264.5nm ; ¹H NMR(CDCl₃) δ 8.69(s, 1H), 8.31(d, J=2.9Hz, 1H), 7.70-7.13(m, 15H), 6.63(d, J=14.7Hz, 1H), 3.96(ps t, J=8.2Hz, 1H), 3.88(ps t d, J=7.6, 1.8Hz, 1H), 3.80-3.73(m, 1H), 2.75-2.63(m, 1H), 2.60(td, J=14.7, 7.8Hz, 1H), 1.05(s, 9H) ; ¹³C NMR(CDCl₃) δ 151.84, 150.87, 144.98(d, J=5.7Hz), 136.32, 135.60, 135.53, 132.85, 132.76, 131.21, 130.02, 129.96, 129.44, 128.99, 128.79, 127.82, 124.34, 105.10(d, J=248.1Hz), 66.64, 65.68(d, J=20.3Hz), 47.33, 41.68(d, J=20.7Hz), 26.74, 19.17 ; 元素分析. 計算値C₃₂H₃₂ClFN₄OSSeSi·0.5EtOAc : C, 56.23 ; H, 5.00 ; N, 7.71 ; S, 4.42。実測値 : C, 56.66 ; H, 5.26, N, 7.40, S, 4.51。

10

20

【0351】

他のプリンとアセテートD-8の縮合反応のために、同様の手順を行った。

【0352】

例えば、アセテートD-8の縮合反応のための同一般手順を用いて、(+)-9-[(1R, 2R, 4S)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレニル-4-チオ- β -D-リボフラノシル]-6-クロロ-2-フルオロプリン(D-22、図3b)を製造した。化合物D-22は、1.70mmolスケールでは収率67%で得られた。 $[\alpha]^{23}_D$ 81.0°(c 1.37, CHCl₃) ; UV(CH₂Cl₃) λ_{max} 270.0nm ; ¹H NMR(CDCl₃) δ 8.27(d, J=2.9Hz, 1H), 7.70-7.14(m, 15H), 6.45(d, J=14.0Hz, 1H), 3.97(dd, J=9.7, 7.3Hz, 1H), 3.89(ps t d, J=7.6, 1.2Hz, 1H), 3.80-3.72(m, 1H), 2.76-2.63(m, 1H), 2.60(td, J=14.8, 7.9Hz, 1H), 1.06(s, 9H) ; ¹³C NMR(CDCl₃) δ 157.00(d, J=220.8Hz), 153.53(d, J=17.1Hz), 152.4(d, J=17.3Hz), 145.53, 136.26, 135.59, 135.52, 132.80, 132.70, 130.03, 129.97, 129.79(d, J=4.9Hz), 129.49, 129.00, 127.83, 124.19, 104.99(d, J=248.5Hz), 66.53, 65.90(d, J=20.7Hz), 47.36, 41.48(d, J=20.7Hz), 26.75, 19.17 ; 元素分析. 計算値C₃₂H₃₁Clf₂N₄OSSeSi·0.2ヘキサン : C, 55.58 ; H, 4.75 ; N, 7.81 ; S, 4.47。実測値 : C, 55.55 ; H, 4.68 ; N, 7.74 ; S, 4.36。

30

40

【実施例39】

【0353】

(-)-9-[(1S, 2S, 4R)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレニル-4-チオ- β -L-リボフラノシル]-6-クロロプリン(L-21、図4b)

HMDs 30mL中の6-クロロプリン(0.789g、5.10mmol)と硫酸アンモニウム(0.112g、0.85mmol)の混合物を5時間還流させた。HMDsを蒸発させて、黄色の固体を得た。シリル化6-クロロプリンが入っているこのフラスコ

50

に、1, 2-ジクロロエタン (30 mL) 中のアセテート L-8 (1.0 g、1.70 mmol) の溶液を添加した。得られたスラリーを -25℃ に冷却し、TMSOTf (0.62 mL、3.40 mmol) を -25℃ で一滴ずつ添加した。その反応混合物を -25℃ から -10℃ で 3 時間、室温で 8 時間、そして 40℃ で 5 時間攪拌した。得られた混合物を 300 mL の CH₂Cl₂ で希釈し、NaHCO₃ 水溶液で洗浄して、MgSO₄ で乾燥させ、濾過して、濃縮した。その粗製生成物をヘキサン中 11% の EtOAc でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、化合物 L-21 (0.754 g、1.10 mmol、収率 65%) を薄黄色の泡沫として得た。[α]²⁴_D -90.0° (c 1.287, CHCl₃) ; UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 264.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.60 (s, 1H), 8.23 (d, J=1.7 Hz, 1H), 7.63-7.01 (m, 15H), 6.55 (d, J=14.7 Hz, 1H), 3.88 (ps t, J=8.5 Hz, 1H), 3.80 (ps t, J=8.7 Hz, 1H), 3.72-3.62 (m, 1H), 2.67-2.46 (m, 2H), 0.96 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 151.76, 151.73, 150.77, 144.92 (d, J=5.7 Hz), 136.24, 135.53, 135.46, 132.77, 132.68, 131.13, 129.95, 129.89, 129.35, 128.91, 127.75, 124.26, 105.04 (d, J=248.1 Hz), 66.56, 65.60 (d, J=20.4 Hz), 47.30, 41.59 (d, J=20.9 Hz), 26.69, 19.10; 元素分析. 計算値 C₃₂H₃₂ClFN₄OSSeSi: C, 56.34; H, 4.73; N, 8.21; S, 4.70。実測値: C, 56.00; H, 4.81; N, 8.04; S, 4.73。

【0354】

他のプリンとアセテート L-8 の縮合反応のために、同様の手順を行った。

【0355】

アセテート L-8 の縮合反応のための上記一般手順を用いて、(-)-9-[(1S, 2S, 4R)-5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2-フルオロ-2-フェニルセレニル-4-チオ-β-L-リボフラノシル]-6-クロロ-2-フルオロプリン (L-22、図 4b) を製造した。化合物 L-22 は、1.70 mmol スケールでは収率 66% で得られた。[α]²⁴_D -86.5° (c 1.44, CHCl₃) ; UV (CHCl₃) λ_{max} 266.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.20 (s, 1H), 7.62-7.06 (m, 15H), 6.37 (d, J=13, 9 Hz, 1H), 3.89 (dd, J=9.7, 6.9 Hz, 1H), 3.80 (td, J=7.8, 1.3 Hz, 1H), 3.72-3.64 (m, 1H), 2.68-2.57 (m, 1H), 2.52 (td, J=12.9, 7.7 Hz, 1H), 0.98 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 157.03 (d, J=220.8 Hz), 153.55 (d, J=16.7 Hz), 152.44 (d, J=17.3 Hz), 145.53, 136.28, 135.61, 135.54, 132.82, 132.72, 130.05, 129.99, 129.80 (d, J=4.6 Hz), 129.51, 129.03, 127.84, 124.20, 105.00 (d, J=248.3 Hz), 66.56, 65.92 (d, J=21.1 Hz), 47.38, 41.51 (d, J=20.9 Hz), 26.76, 19.19; 元素分析. 計算値 C₃₂H₃₁ClF₂N₄OSSeSi: C, 54.89; H, 4.46; N, 8.00; S, 4.58。実測値: C, 54.81; H, 4.64; N, 7.81; S, 4.63。

【実施例 40】

【0356】

(-)-9-[(1R, 4S)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-リボフラノシル] アデニン (D-27、図 3b) 化合物 D-23 と化合物 D-24 の混合物 (0.342 g、0.65 mmol) を、80℃ で 12 時間、スチールポンプを用いてアンモニアメタノール溶液で処理した。溶媒を蒸発させ、残留物を真空下で 3 時間乾燥させた。THF 30 mL 中のその乾燥させた粗製

生成物の溶液を、室温で3時間、THF中1MのTBFAF 0.3 mLで処理した。得られた混合物を濃縮し、CH₂Cl₂中5%から10%のMeOHでの分取TLCクロマトグラフィーによって精製して、所望の化合物D-27 (0.099 g、0.37 mmol、収率57%)を白色の固体として得た。融点190℃から191℃; $[\alpha]^{25}_D - 33.7^\circ$ (c 0.164, 7:1 CH₂Cl₂:MeOH); UV (H₂O) λ_{max} 257.5 nm (ϵ 9,600, pH 2), 259.0 nm (ϵ 9,500, pH 7), 259.0 nm (ϵ 9,800, pH 11); ¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.31-4.24 (m, 1H), 3.90 (dd, J=11.6, 4.4 Hz, 1H), 3.81 (ddd, J=11.5, 4.1, 1.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (MeOH-d₄) δ 157.43, 156.31 (d, J=277.9 Hz), 153.98, 150.51, 141.22, 120.10, 111.65 (d, J=17.1 Hz), 65.63, 60.38 (d, J=24.7 Hz), 49.73 (d, J=7.7 Hz); 元素分析. 計算値C₁₀H₁₀FN₅OS·0.06 Et₂O: C, 45.26; H, 3.93; N, 25.77; S, 11.80。実測値: C, 45.33; H, 4.07; N, 25.38; S, 11.59。

【実施例41】

【0357】

(-) -9- [(1S, 4R) -2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル] アデニン (L-27、図4b) 20
化合物L-23と化合物L-24の混合物 (0.241 g、0.46 mmol) を、80℃で12時間、スチールポンプを用いてアンモニアのメタノール溶液で処理した。溶媒を蒸発させ、残留物を真空下で3時間乾燥させた。THF 30 mL中のその乾燥させた粗製生成物の溶液を、室温で3時間、THF中1MのTBFAF 0.5 mLで処理した。得られた混合物を濃縮し、CH₂Cl₂中5%から10%のMeOHでの分取TLCクロマトグラフィーによって精製して、所望の化合物L-27 (0.075 g、0.28 mmol、収率61%)を白色の固体として得た。融点192℃から194℃; $[\alpha]^{26}_D - 38.1^\circ$ (c 0.165, MeOH); UV (H₂O) λ_{max} 258.0 nm (ϵ 9,500, pH 2), 259.0 nm (ϵ 8,900, pH 7), 259.5 nm (ϵ 8,600, pH 11); ¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.28 (s, 1H), 3.90 (dd, J=11.5, 4.2 Hz, 1H), 3.81 (dd, J=11.4, 3.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (MeOH-d₄) δ 157.46, 156.31 (d, J=278.2 Hz), 154.01, 150.51, 141.21, 120.10, 111.64 (d, J=17.0 Hz), 65.65, 60.38 (d, J=24.6 Hz), 49.81 (d, J=9.1 Hz); HRMS (FAB) 実測値, m/z 268.0669, 計算値C₁₀H₁₁FN₅OS, m/z 268.0668 (M+H)⁺; 元素分析. 計算値C₁₀H₁₀FN₅OS·0.3H₃OH: C, 44.68; H, 4.08; N, 25.29; S, 11.58。実測値: C, 44.49; H, 4.03; N, 25.46; S, 11.33。

【実施例42】

【0358】

(+) -9- [(1R, 4S) -2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-リボフラノシル] -ヒポキサンタン (D-28、図3b) 40
無水MeOH (20 mL) 中の化合物D-23と化合物D-24の混合物 (0.323 g、0.62 mmol) を、60℃で24時間、2-メルカプトエタノール (0.17 mL、2.46 mmol) およびNaOMe (0.136 g、2.52 mmol) で処理した。得られた混合物を0.1 mLの水AcOHで反応停止させて、濃縮し、CH₂Cl₂中4%のMeOHを用いてシリカゲルのショートパットに通して濾過した。濾液を濃縮乾固させた。その粗製生成物を、室温で3時間、THF中1MのTBFAF 0.68 mLで処

理した。その反応混合物を濃縮し、 CH_2Cl_2 中 7% の MeOH での分取 TL C クロマトグラフィーによって精製して、所望の化合物 $\text{D}-28$ (0.135 g 、 0.50 mmol 、収率 81%) を白色の固体として得た：融点 143°C から 145°C (分解)； $[\alpha]_D^{27} 21.5^\circ$ ($c 0.132$, 7:1, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$)； $\text{UV}(\text{H}_2\text{O}) \lambda_{\text{max}} 247.5\text{ nm}$ ($\epsilon 10, 200$, $\text{pH } 2$)、 248.0 nm ($\epsilon 10, 000$, $\text{pH } 7$)、 253.5 nm ($\epsilon 10, 700$, $\text{pH } 11$)； $^1\text{H NMR}(\text{MeOH}-d_4) \delta 8.51$ (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), $4.28-4.23$ (m, 1H), 3.88 (dd, $J=11.7$, 4.7 Hz , 1H), 3.80 (dd, $J=10.5$, 4.0 Hz , 1H)； $^{13}\text{C NMR}(\text{MeOH}-d_4) \delta 158.85$, 156.22 (d, $J=248.4\text{ Hz}$), 150.04 , 147.13 , 140.66 , 125.29 , 111.77 (d, $J=17.0\text{ Hz}$), 65.50 , 60.51 (d, $J=24.8\text{ Hz}$), 49.83 (d, $J=7.3\text{ Hz}$)；元素分析．計算値 $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 0.17\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{C}$, 43.21；H, 3.33；N, 19.82；S, 11.34。実測値：C, 43.26；H, 3.61；N, 19.61；S, 11.01。

【実施例 43】

【0359】

(-) -9- [(1S, 4R) -2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル] -ヒポキサンチン (L-28、図 4b)

無水 MeOH (20 mL) 中の化合物 L-23 と化合物 $\text{D}-24$ の混合物 (0.216 g 、 0.41 mmol) を、 60°C で 24 時間、2-メルカプトエタノール (0.12 mL 、 1.65 mmol) および NaOMe (0.091 g 、 1.69 mmol) で処理した。得られた混合物を 0.1 mL の氷 AcOH で反応停止させて、濃縮し、 CH_2Cl_2 中 4% の MeOH を用いてシリカゲルのショートパットに通して濾過した。その濾液を濃縮乾固させた。その粗製生成物を、室温で 3 時間、 THF 中 1M の TBAF 0.84 mL で処理した。その反応混合物を濃縮し、 CH_2Cl_2 中 7% の MeOH での分取 TL C クロマトグラフィーによって精製して、所望の化合物 L-28 (0.050 g 、 0.19 mmol 、収率 46%) を白色の固体として得た：融点 143°C から 145°C (分解)； $[\alpha]_D^{23} -23.7^\circ$ ($c 0.324$, 7:1, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$)； $\text{UV}(\text{H}_2\text{O}) \lambda_{\text{max}} 246.5\text{ nm}$ ($\epsilon 12, 000$, $\text{pH } 2$)、 248.0 nm ($\epsilon 10, 600$, $\text{pH } 7$)、 253.5 nm ($\epsilon 10, 900$, $\text{pH } 11$)； $^1\text{H NMR}(\text{MeOH}-d_4) \delta 8.51$ (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.26 (s, 1H), 3.88 (dd, $J=11.6$, 4.7 Hz , 1H), 3.80 (dd, $J=10.7$, 3.2 Hz , 1H)； $^{13}\text{C NMR}(\text{MeOH}-d_4) \delta 158.86$, 156.22 (d, $J=278.3\text{ Hz}$), 150.03 , 147.13 , 140.65 , 125.28 , 111.76 (d, $J=17.1\text{ Hz}$), 65.48 , 60.51 (d, $J=24.5\text{ Hz}$), 49.82 (d, $J=7.9\text{ Hz}$)； $\text{HRMS}(\text{FAB})$ 実測値, $m/z 269.0517$, 計算値 $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}_2\text{S}$, $m/z 269.0509$ ($\text{M}+\text{H})^+$ ；元素分析．計算値 $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}_2\text{S} \cdot 0.63\text{MeOH}:\text{C}$, 44.26；H, 4.03；N, 19.42；S, 11.12。実測値：C, 43.86；H, 3.65；N, 19.45；S, 11.09。

【0360】

化合物 L-28 の調製手順を用い、同じように (+) -9- [(1S, 4R) -2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル] -グアノシン (L-32、図 4b) を製造した。化合物 L-32 は、 0.16 mmol スケールでは収率 61% で得られた：融点 210°C (分解)； $[\alpha]_D^{25} 75.2^\circ$ ($c 0.15$, DMSO)； $\text{UV}(\text{H}_2\text{O}) \lambda_{\text{max}} 256.0\text{ nm}$ ($\epsilon 11, 100$, $\text{pH } 2$)、 255.0 nm ($\epsilon 12, 500$, $\text{pH } 7$)、 266.0 nm ($\epsilon 10, 700$, $\text{pH } 11$)； $^1\text{H NMR}(\text{MeOH}-d_4) \delta 7.98$ (s, 1H), 6.61

(s, 1H), 5.83 (s, 1H), 4.22-4.14 (m, 1H), 3.84-3.74 (m, 2H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 160.12, 157.49 (d, $J=278.1\text{ Hz}$), 157.44, 154.47, 138.61, 119.83, 114.34 (d, $J=17.0\text{ Hz}$), 67.90, 61.00 (d, $J=24.5\text{ Hz}$), 51.73 (d, $J=7.6\text{ Hz}$), 44.06 (d, $J=9.1\text{ Hz}$).

【実施例 44】

【0361】

(-) -2-アミノ-9-[(1R, 4S) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-リボフラノシル]-6-クロロプリン (D-29、図 3b)、6-アミノ-9-[(1R, 4S) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-リボフラノシル]-2-フルオロプリン (D-30、図 3b) および 6-アミノ-9-[(4S) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-1, 2-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -D-リボフラノシル]-2-フルオロプリン (D-31、図 3b)

乾燥アンモニアガスを、室温で5時間、1, 2-ジメトキシエタン (25 mL) 中の化合物 D-25 と D-26 の混合物 (0.430 g、0.79 mmol) の攪拌溶液中でバブリングした。減圧下で溶媒を除去し、残留物をヘキサン中 20% の EtOAc での分取 TLC クロマトグラフィーによって精製して、純粋な化合物 D-29 (0.190 g、0.352 mmol、収率 45%) および化合物 D-30 と化合物 D-31 の混合物 (0.116 g、0.22 mmol、収率 28%) を得た。化合物 D-29 について: $[\alpha]_D^{24} -70.4^\circ$ (c 0.40, CH_2Cl_2); UV (CH_2Cl_2) λ_{max} 303.5 nm; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.74 (s, 1H), 7.68-7.36 (m, 10H), 6.65 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.25-4.19 (m, 1H), 3.90 (dd, $J=10.1, 7.0\text{ Hz}$, 1H), 3.81 (dd, $J=9.8, 7.4\text{ Hz}$, 1H), 1.07 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 159.11, 154.78 (d, $J=281.2\text{ Hz}$), 153.48, 151.49, 139.92, 135.57, 135.48, 132.76, 132.48, 130.12, 130.09, 127.91, 127.88, 125.30, 109.95 (d, $J=16.5\text{ Hz}$), 68.01, 58.33 (d, $J=24.0\text{ Hz}$), 47.46 (d, $J=7.1\text{ Hz}$), 26.76, 19.19; 元素分析. 計算値 $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{ClFN}_5\text{OSSi} \cdot 0.6\text{CH}_2\text{Cl}_2 \cdot 0.5\text{EtOAc}$: C, 54.08; H, 5.11; N, 11.03; S, 5.05。実測値: C, 53.73, H, 4.99, N, 10.98; S, 5.12; 化合物 D-30 と D-31 の混合物; UV (CHCl_3) λ_{max} 261.0 nm; ^1H NMR (CDCl_3) 主生成物について D-30: δ 7.77 (s, 1H), 7.73-7.38 (m, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.41, 6.40 (2s, 2H), 5.82 (s, 1H), 4.27-4.19 (m, 1H), 3.93-3.82 (m, 2H), 1.08 (s, 9H); 副生成物について D-31: δ 7.82 (s, 1H), 7.73-7.38 (m, 10H) 4.00-3.75 (m, 3H), 3.20 (ddd, $J=16.5, 9.2, 3.1\text{ Hz}$, 1H), 2.99 (ddd, $J=16.5, 4.9, 1.1\text{ Hz}$, 1H), 1.08 (s, 9H)。

【実施例 45】

【0362】

(+) -2-アミノ-9-[(1S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル]-6-クロロプリン (L-29、図 4b)、6-アミノ-9-[(1S, 4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシリル)-2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ- β -L-リボフラノシル]-2-フルオロプリン (L-30、図 4b) および 6-アミノ-9-[(4R) -5-O-(*t*-ブチルジフェニルシ

リル) - 2, 3-ジデオキシ-1, 2-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-リボフラノシル] - 2-フルオロプリン (L-31、図4b)

乾燥アンモニアガスを、室温で5時間、1, 2-ジメトキシエタン (25 mL) 中の化合物 L-25 と L-26 の混合物 (0.430 g、0.79 mmol) の攪拌溶液中でバブリングした。減圧下で溶媒を除去し、残留物をヘキサン中20%のEtOAcでの分取 TLC クロマトグラフィーによって精製して、純粋な化合物 L-29 (0.190 g、0.352 mmol、収率45%) および化合物 L-30 と化合物 L-31 の混合物 (0.106 g、0.20 mmol、収率25%) を得た。化合物 L-29 について: $[\alpha]_D^{24} -74.0^\circ$ (c 0.236, CH₂Cl₂); UV (CH₂Cl₂) λ_{max} 300.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.74 (s, 1H), 7.70-7.37 (m, 10H), 6.65 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.26-4.22 (m, 1H), 3.90 (dd, J=10.1, 7.2 Hz, 1H), 3.81 (dd, J=9.8, 7.3 Hz, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 159.11, 154.78 (d, J=281.2 Hz), 153.48, 151.49, 139.92, 135.57, 135.48, 132.76, 132.48, 130.12, 130.09, 127.91, 127.88, 125.30, 109.95 (d, J=16.5 Hz), 68.01, 58.33 (d, J=24.0 Hz), 47.46 (d, J=7.1 Hz), 26.76, 19.19; 元素分析. 計算値 C₂₆H₂₇ClFN₅OSSi · 0.3 EtOAc: C, 57.66; H, 5.24; N, 12.36; S, 5.66。実測値: C, 57.87; H, 5.35; N, 12.41; S, 5.62; 化合物 L-30 および L-31 の混合物; UV (CHCl₃) λ_{max} 261.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) 主生成物について L-30: δ 7.80 (s, 1H), 7.74-7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 6.72 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 4.29-4.19 (m, 1H), 3.94 (dd, J=10.2, 6.6 Hz, 1H), 3.87 (dd, J=10.1, 7.1 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); 副生成物について L-31: δ 7.84 (s, 1H), 7.74-7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 4.02-3.79 (m, 3H), 3.20 (ddd, J=16.5, 9.2, 3.1 Hz, 1H), 3.00 (dd, J=16.7, 4.6 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H)。

【実施例46】

【0363】

(-) - 9 - [(1R, 4S) - 2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-D-リボフラノシル] グアノシン (D-32、図3b)

化合物 28 の調製手順参照。表題化合物 D-32 は、0.29 mmol スケールでは収率61%で得られた: 融点210°C (分解); $[\alpha]_D^{25} -73.7^\circ$ (c 0.152, DMSO); UV (H₂O) λ_{max} 254.0 nm (ε 11, 600, pH 2), 255.0 nm (ε 12, 400, pH 7), 265.0 nm (ε 12, 500, pH 11); ¹H NMR (MeOH-d₄) δ 8.14 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 5.93 (s, 1H); ¹³C NMR (DMSO-d₆) δ 160.12, 157.49 (d, J=278.1 Hz), 157.44, 154.47, 138.61, 119.83, 114.34 (d, J=17.0 Hz), 67.90, 60.99 (d, J=24.5 Hz), 51.73 (d, J=7.6 Hz), 44.06 (d, J=9.1 Hz); 元素分析. 計算値 C₁₀H₁₀FN₅O₂S · 0.11 CHCl₃: C, 40.97; H, 3.44; N, 23.63; S, 10.82。実測値: C, 41.35; H, 3.62; N, 23.32; S, 11.09。

【実施例47】

【0364】

(-) - 9 - [(1S, 4R) - 2, 3-ジデオキシ-2, 3-ジデヒドロ-2-フルオロ-4-チオ-β-L-リボフラノシル] - 2-フルオロ-アデノシン (L-33、図4b)

脱シリル化の上記一般手順参照。表題化合物 L-33 は、0.20 mmol スケールでは収率 70% で得られた：融点 $> 300^{\circ}\text{C}$ ； $[\alpha]^{26}_{\text{D}} -17.8^{\circ}$ (c 0.200, MeOH)；UV (H₂O) λ_{max} 260.5 nm (ϵ 12, 700, pH 2), 260.5 nm (ϵ 12, 700, pH 7), 261.5 nm (ϵ 12, 200, pH 11)；¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.44 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.28–4.21 (m, 1H), 3.89 (dd, $J=11.6$, 4.7 Hz, 1H), 3.85–3.79 (m, 1H)；¹³C NMR (DMSO-*d*₅) δ 160.12；元素分析．計算値 C₁₀H₉F₂N₅OS·0.24 Et₂O：C, 43.44；H, 3.79；N, 23.11；S, 10.58。実測値：C, 43.30；N, 23.47；S, 10.28。

10

【実施例 48】

【0365】

4 (S) - (アセチルチオ) - 5 - [(t - ブチルジフェニルシリル) オキシ] ペンタン酸メチルエステル (31、図 5)

表題化合物は、次の文献に従って、L-グルタミン酸から調製した：Cervinka, O.；Hub, L., 「不斉反応。XXVII. γ -ブチロラクトン- γ -カルボン酸および γ -バレロラクトン- γ -カルボン酸の絶対配置 (Asymmetric reactions. XXVII. Absolute configurations of γ -butyrolactone- γ -carboxylic acid and γ -valerolactone- γ -carboxylic acid)」, Collect. Czech. Chem. Commun., 1986, 33, 2927–2932；Hanesian, S.；Murray, P. J., 「天然生合成経路の立体化学的制御：単一キラルプロジェニターからポリプロピオン酸塩由来の構造を合成するための一般戦略 (Stereochemical control of nature's biosynthetic pathways: A general strategy for the synthesis of polypropionate-derived structural units from a single chiral progenitor)」, Tetrahedron 1987, 43, 5055–5072；Secrist III, J. A.；Riggs, R. H.；Tiwari, K. N.；Montgomery, J. A.；「4'-チオ-2', 3'-ジデオキシヌクレオシドの合成および抗 HIV 活性 (Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2', 3'-dideoxynucleoside)」, J. Med. Chem. 1992, 35, 533–538。

20

30

【0366】

L-類似体 (化合物 35) を、D-類似体と同じ手順を用いて、D-グルタミン酸から調製した (図 5 参照)。

【実施例 49】

【0367】

4 (S) - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル- γ -チオブチロラクトン (32、図 5)

40

トルエン (100 mL) 中の化合物 31 (6 g、13.5 mmol) の溶液を、 -78°C で 1 時間、ヘキサン中 1 M の DIBAL-H 29.4 mL で処理した。7.2 mL の MeOH で反応を停止させ、1 時間、室温まで温めて、NaHCO₃ 水溶液 (15 mL) および EtOAc (90 mL) をその混合物に添加した。得られた混合物を濾過し、濾液を濃縮乾固させた。その粗製チオラクトールを、室温で 24 時間、Ac₂O (12.75 mL) および DMSO (13.5 mL) で処理した。その反応混合物を、氷冷水 (100 mL) が入った分液漏斗に注入し、エチルエーテル (3 x 120 mL) で抽出した。併せた有機溶媒を水 (3 x 100 mL) で洗浄して、Na₂SO₄ で乾燥させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中 5% の Et₂O でのシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して、生成物 32 (2.69 g、収率 57%) を黄色の油として得た。¹H NMR (CD

50

C1₃) δ 7.68–7.65、7.47–7.39 (2m, 10H)、3.81–3.50 (m, 3H)、2.22–2.13 (m, 2H)、2.03–1.97 (m, 2H)、1.06 (s, 9H)。

【0368】

L-類似体 (化合物 36) は、D-類似体のものと同じ手順を用いて 35 から調製した (図 5 参照)。

【実施例 50】

【0369】

4 (S) - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 2 - フェニルセレニル - γ - チオ
ブチロラクトン (33、図 5)

10

THF (30 mL) 中の化合物 32 (2.223 g、6 mmol) の溶液に N-フルオロ
ジベンゼンスルホンイミド (NFSi、1.893 g、6 mmol) を添加した。その溶
液を -78℃ に冷却し、LiHMDS (THF 中 1 M の溶液、7.2 mL、7.2 mmol
1) を 1 時間かけて一滴ずつ添加した。-78℃ で 2 時間攪拌した後、その溶液を放置し
て室温に温め、1 時間攪拌した。飽和 NH₄Cl (1 mL) で反応を停止させ、その混合
物を EtOAc と飽和 NaHCO₃ の混合物に注入した。有機層を飽和 NaHCO₃ およ
びブラインで洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させた。溶媒を除去した後、残留物を、ヘキサ
ン中 5% の Et₂O で溶離するシリカゲルカラムでのフラッシュクロマトグラフィーによ
って精製して、生成物 33 (1.35 g、収率 58%) を黄色の油として得た。

【0370】

20

¹H NMR (CDCl₃) δ 7.62–7.36 (m, 10H), 5.07 (m, 1H)
, 3.95–3.77 (m, 3H), 2.70–2.61 (m, 1H), 2.18–2.
.05 (m, 1H), 1.06 (s, 9H)。

【0371】

L-類似体 (化合物 37) は、D-類似体のものと同じ手順を用いて 36 から調製した (図 5 参照)。

【実施例 51】

【0372】

(2R, 4S) - (+) - 4 - t - ブチルジフェニルシリルオキシメチル - 2 - フルオロ
- 2 - フェニルセレニル - γ - チオ - ブチロラクトン (D-7、図 5)

30

THF (15 mL) 中の化合物 33 (1.166 g、3 mmol) の溶液に、THF 中 1
M の LiHMDS 3.6 mL を -78℃ でゆっくりと添加し、その反応混合物を -78
℃ で 1 時間攪拌した。TMSCl (0.49 mL、3.9 mmol) を反応混合物に一滴
ずつ添加し、その混合物を放置して室温に温めた。得られた混合物を室温で 30 分間攪拌
し、-78℃ に冷却した。THF (6 mL) 中の PhSeBr (1.07 g、4.5 mmol)
の溶液を迅速に添加し、その混合物を -78℃ で 1 時間攪拌した。混合物をエチル
エーテル (120 mL) で希釈し、水 (4 x 30 mL) で洗浄して、Na₂SO₄ で乾燥
させ、濾過して、濃縮し、ヘキサン中 3% の Et₂O でのシリカゲルカラムクロマトグラ
フィーによって精製して、所望の生成物 D-7 (1.16 g、収率 71%) を薄黄色のシ
ロップとして得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 7.68–7.35 (m, 15H),
3.96–3.89 (m, 1H), 3.87 (dd, J = 10.2 & 5.1 Hz, 1H)
, 3.80 (dd, J = 10.1 & 7.1 Hz, 1H), 2.49 (dd, J = 13.4
& 4.0 Hz, 1H), 2.22 (td, J = 13.5 & 10.5 Hz, 1H), 1.0
6 (s, 9H)。

40

【0373】

L-類似体 (化合物 L-7) は、D-類似体のものと同じ手順を用いて 37 から調製した (図 5 参照)。

【0374】

最終目的化合物 (D-17~20、D-27~28、D-32~33、および L-17~
20、L-27~28、L-32~33) は、前の部分で記載したものと同じ手順を用い

50

て、D-7およびL-7から合成した。

【実施例52】

【0375】

1-O-アセチル-2-デオキシ-4-チオ-3, 5-O- β -D-エリトロ-ペントフラノシド (D-I、図8)

1-O-アセチル-2-デオキシ-4-チオ-3, 5-O- β -D-エリトロ-ペントフラノシド (D-I、図8)、ならびに1-O-アセチル-2-デオキシ-4-チオ-3, 5-O- β -D-エリトロ-ペントフラノシド (L-III、図13) および酢酸チオラクトールD-II、D-III、D-IV、L-I、L-IIおよびL-IV (図6および7) は、次の参考文献に従って調製した：Secrist II, J. A. ; Tiwari, K. N. ; Riordan, J. M. ; Montgomery, J. A. 「2'-デオキシ-4-チオピリミジンヌクレオシドの合成および生物活性 (Synthesis and biological activity of 2'-deoxy-4-thiopyrimidine nucleosides)」, J. Med. Chem. 1991, 34, 2361-2366 ; Tiwari, K. N. ; Montgomery, J. A. ; Secrist, III, J. A. , 「1-(2-デオキシ-4-チオ- α -L-トレオ-ペントフラノシル)-チミンの合成および生物活性 (The synthesis and biological activity of 1-(2-deoxy-4-thio- α -L-threopentofuranosyl)-thymine)」, Nucleosides & Nucleotides, 1993, 12 (8), 841-846. 10 20

【実施例53】

【0376】

1-(D-デオキシ-4-チオ-3, 5- β -D-エリトロ-ペントフラノシル)-5-フルオロウラシル (60、X=F、図8)

HMDS (40 mL) 中の5-フルオロウラシル (975 mg、7.5 mmol) および硫酸アンモニウム (10 mg) の懸濁液を、窒素雰囲気下で2時間、還流させながら加熱した。過剰のHMDSを真空下で蒸発させた。残留物に無水CH₃CN (25 mL) 中のD-I (2.14 g、5 mmol) の溶液を添加した。得られた混合物を0℃に冷却し、TMSOTf (1.361 g、6 mmol) を添加した。その反応混合物を0℃で20分間、その後、室温で2時間攪拌した。その後、その混合物をCH₂Cl₂で希釈して、飽和NaHCO₃で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させて、濾過し、濃縮乾固させた。残留物を、CH₂Cl₂/MeOH (99:1) で溶離するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーによって精製し、CH₂Cl₂/ヘキサンから再結晶させて、表題化合物60 (式中、Xはフッ素である) (872 mg、35%) を固体として得た。¹H NMR (CDCl₃) δ 7.98 (d, 1H, H-6)、7.96-7.25 (m, 8H, 芳香族性)、6.69 (dd, 1H, H-1')、5.76 (m, 1H, H-3')、4.68 (m, 2H, H-5')、4.05 (m, 1H, H-4')、2.75、2.41 (2m, 2H, H-2')、2.42 (s, 6H, 2CH₃)。 30 40

【0377】

化合物60 (式中、Xは、メチルである)、68、76、84、92、99、106および113 (それぞれ、図8、9、10、11、12、13、14および15参照) は、式中のXがフッ素である60について上に記載したものと同様の手順を用いて調製した。

【実施例54】

【0378】

1-[2-デオキシ-N³-(2-メトキシエトキシメチル)-4-チオ-3, 5- β -D-エリトロ-ペントフラノシル]-5-フルオロウラシル (61、X=F、図8)

乾燥THF (8 mL) 中の60 (式中、Xは、フッ素である) (748 mg、1.5 mmol) の溶液に、Et₃N (455 mg、4.5 mmol)、続いてMEMCl (280 50

mg、2.25 mmol) を添加した。その混合物を、2 時間、還流させながら加熱し、その後、蒸発乾固させた。残留物を CH_2Cl_2 に溶解して、水で洗浄し、乾燥させて、真空下で濃縮し、カラムクロマトグラフィー（ヘキサン／EtOAc、9：1）によって精製して、表題化合物 61（式中、X は、フッ素である）（651 mg、74%）を固体として得た。 ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.99 (d, 1H, H-6), 7.96–7.25 (m, 8H, 芳香族性), 6.69 (dd, 1H, H-1'), 5.76 (m, 1H, H-3'), 4.66 (m, 2H, H-5'), 4.05 (m, 1H, H-4'), 3.82–3.51 (m, 4H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3.31 (s, 3H, OCH_3), 2.75, 2.41 (2m, 2H, H-2'), 2.42 (s, 6H, 2 CH_3)。

【0379】

化合物 61（式中、X は、メチルである）、69、77 および 85（それぞれ、図 8、9、10 および 11 参照）は、式中の X がフッ素である 61 について上に記載したものと同様の手順を用いて調製した。

【実施例 55】

【0380】

1-[2-デオキシ-N³-(2-メトキシエトキシメチル)-4-チオ-β-D-エリトロペントフラノシル]-5-フルオロウラシル (62、X=F、図 8)

室温で、無水 MeOH (10 mL) 中の 61（式中、X は、フッ素である）（587 mg、1 mmol）の溶液に、NaOMe (MeOH 中 1 M の溶液、3 mL、3 mmol) を添加し、その反応混合物を室温で 1 時間攪拌した。その混合物を Dowex 50W の添加により中和して、濾過した。その樹脂を MeOH で洗浄し、併せた濾液を濃縮した。残留物を、 CH_2Cl_2 / MeOH (4：1) で溶離するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物 62（式中、X は、フッ素である）（322 mg、92%）を固体として得た。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.16 (d, 1H, H-6), 6.24 (dd, 1H, H-1'), 5.30–5.21 (m, 2H, OH-3' および OH-5'), 4.36 (m, 1H, H-3'), 3.51–3.81 (m, 6H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ および H-5'), 3.33 (s, 3H, OCH_3), 3.31 (m, 1H, H-4'), 2.23 (m, 2H, H-2')。

【0381】

化合物 62（式中、X は、メチルである）、70、78、86、93 および 100（それぞれ、図 8、9、10、11、12 および 13 参照）は、式中の X がフッ素である 62 について上に記載したものと同様の手順を用いて調製した。

【実施例 56】

【0382】

1-[2-デオキシ-N³-(2-メトキシエトキシメチル)-4-チオ-5-O-トリチル-β-D-エリトロペントフラノシル]-5-フルオロウラシル (63、X=F、図 8)

無水ピリジン (10 mL) 中の 62（式中、X は、フッ素である）（701 mg、2 mmol）と塩化トリフェニルメチル (669 mg、2.4 mmol) の混合物を、3 時間、還流させながら加熱した。その後、その混合物を室温に冷却し、攪拌しながらゆっくりと氷水に注入した。沈殿を濾過して取り出し、水で洗浄して、真空下で乾燥させ、アセトン／ヘキサンから結晶させて、表題化合物 63（式中、X は、フッ素である）（1.02 g、86%）を固体として得た。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.12 (d, 1H, H-6), 7.40–7.23 (m, トリチル), 6.24 (dd, 1H, H-1'), 5.25–5.21 (m, 1H, OH-3'), 4.35 (m, 1H, H-3'), 3.81–3.50 (m, 6H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ および H-5'), 3.32 (s, 3H, OCH_3), 3.30 (m, 1H, H-4'), 2.23 (m, 2H, H-2')。

【0383】

化合物 63（式中、X は、メチルである）、71、79、87、94、101、108 および 115（それぞれ、図 8、9、10、11、12、13、14 および 15 参照）は、

10

20

30

40

50

式中のXがフッ素である63について上に記載したものと同様の手順を用いて調製した。

【実施例57】

【0384】

1-[2, 3-ジデオキシ-3-フルオロ-N³-(2-メトキシエトキシメチル)-4-チオ-5-O-トリチル-β-D-エリトロ-ペンタフラノシル]-5-フルオロウラシル(64、X=F、図8)

-78℃で無水CH₂Cl₂(10mL)中の63(式中、Xは、フッ素である)(889mg、1.5mmol)の溶液に三フッ化(ジエチルアミノ)硫黄(764mg、4.5mmol)を添加し、その混合物を、窒素雰囲気下、-78℃で1時間攪拌した。KF(261mg、4.5mmol)を-78℃でその反応混合物に添加し、その反応混合物を放置して室温に温めた。室温で1時間攪拌した後、NaHCO₃飽和水溶液およびCHCl₃を添加した。有機相を飽和NaHCO₃で洗浄し、Na₂SO₄で乾燥させて、真空下で蒸発させた。残留物を、CH₂Cl₂/MeOH(99:1)で溶離するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物64(式中、Xは、フッ素である)(776mg、87%)を得た。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 8.10(d, 1H, H-6)、7.37-7.26(m, トリチル)、6.26(dd, 1H, H-1'), 5.34(dd, 1H, H-3'), 3.81-3.50(m, 6H, OCH₂CH₂OおよびH-5'), 3.48(m, 1H, H-4'), 3.32(s, 3H, OCH₃)、2.45(m, 2H, H-2')。

10

【0385】

化合物64(式中、Xは、メチルである)、72、80および88(それぞれ、図8、9、10および11参照)は、式中のXがフッ素である64について上に記載したものと同様の手順を用いて調製した。

20

【実施例58】

【0386】

1-[5-O-アセチル-2, 3-ジオキシ-3-フルオロ-4-チオ-β-D-エリトロ-ペンタフラノシル]-5-フルオロウラシル(65、X=F、図8)

0℃で、Ac₂O(5mL)中の64(式中、Xは、フッ素である)(714mg、1.2mmol)の溶液に、BF₃·Et₂O(511mg、3.6mmol)、続いてLiBr(313mg、3.6mmol)を添加した。その混合物を、窒素下、室温で3日間攪拌し、その後、蒸発乾固させた。残留物をCHCl₃で抽出し、その抽出物を水で洗浄して、乾燥させ、真空下で蒸発させた。残留物を、ヘキサン/EtOAc(4:1)で溶離するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物65(式中、Xは、フッ素である)(242mg、66%)を薄黄色の固体として得た。¹H NMR(DMSO-d₆) δ 8.13(d, 1H, H-6), 6.32(dd, 1H, H-1'), 5.36(dd, 1H, H-3'), 4.43(m, 2H, H-5'), 3.49(m, 1H, H-4'), 2.45(m, 2H, H-2'), 2.06(s, 3H, CH₃)。

30

【0387】

化合物65(式中、Xは、メチルである)、73、81および89(それぞれ、図8、9、10および11参照)は、式中のXがフッ素である65について上に記載したものと同様の手順を用いて調製した。

40

【実施例59】

【0388】

1-[2, 3-ジデオキシ-3-フルオロ-4-チオ-β-D-エリトロ-ペンタフラノシル]-5-フルオロシトシン(66、X=F、図8)

0℃で無水CH₃CN(10mL)およびEt₃N(0.4mL)中の65(式中、Xは、フッ素である)(166mg、0.54mmol)の溶液に、TIPSCl(343mg、1.1mmol)およびDMAP(66mg、0.54mmol)を添加した。その反応混合物を、窒素雰囲気下、室温で1日攪拌し、その後、NH₄OH(28%、5mL

50

）を添加した。室温で24時間攪拌した後、蒸発によって溶媒を除去し、残留物を、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ （95：5）で溶離するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物66（式中、Xは、フッ素である）（81mg、57%）を薄黄色の固体として得た。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_6$ ） δ 8.18（d, 1H, H-6）, 7.80, 7.60（2br, 2H, NH_2 ）, 6.28（d, 1H, H-1'）, 5.36（dd, 1H, H-3'）, 5.19（t, 1H, OH-5'）, 3.63（m, 1H, H-4'）, 3.60-3.48（m, 2H, H-5'）, 2.40（m, 2H, H-2'）。

【0389】

化合物66（式中、Xは、メチルである）、74、82、90、96、103、110および117（それぞれ、図8、9、10、11、12、13、14および15参照）は、式中のXがフッ素である66について上に記載したもと同様の手順を用いて調製した。 10

【実施例60】

【0390】

1-[2, 3-ジデオキシ-3-フルオロ-4-チオ- β -D-エリトロ-ペントフラノシル]-5-フルオロウラシル（67、X=F、図8）

2Mの NH_3-MeOH （6mL）中の65（式中、Xは、フッ素である）（61mg、0.2mmol）の溶液を、室温で一晩、共栓フラスコに入れておいた。溶媒を蒸発させ、カラムクロマトグラフィー（ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 、95：5）に付すことによって、表題化合物67（式中、Xは、フッ素である）（49mg、94%）を白色の固体として 20
得た。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_5$ ） δ 11.76（br, 1H, NH）, 8.26（d, 1H, H-6）, 6.34（d, 1H, H-1'）, 5.36（dd, 1H, H-3'）, 5.17（t, 1H, OH-5'）, 3.65（m, 1H, H-4'）, 3.61-3.47（m, 2H, H-5'）, 2.42（m, 2H, H-2'）。

【0391】

化合物67（式中、Xは、メチルである）、75、83および91（それぞれ、図8、9、10および11参照）は、式中のXがフッ素である67について上に記載したもと同様の手順を用いて調製した。

【実施例61】

【0392】

1-[2, 3-ジデオキシ-3-フルオロ-4-チオ- β -D-トレオ-ペントフラノシル]-5-フルオロシトシン（97、X=F、図12） 30

80% AcOH （5mL）中の96（式中、Xは、フッ素である）（101mg、0.2mmol）の溶液を、90℃で1時間加熱した。蒸発させ、続いてトルエンと共蒸発させて、シリカゲルカラムでのフラッシュクロマトグラフィー（ $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95：5）に付すことによって、表題化合物97（式中、Xは、フッ素である）（28mg、53%）を白色の固体として得た。 ^1H NMR（ $\text{DMSO}-d_6$ ） δ 7.85（d, 1H, H-6）, 7.82, 7.61（2br, 2H, NH_2 ）, 6.16（d, 1H, H-1'）, 5.35（dd, 1H, H-3'）, 5.19（t, 1H, OH-5'）, 3.64（m, 1H, H-4'）, 3.62-3.50（m, 2H, H-5'）, 2.58, 2.26（2m, 2H, H-2'）。 40

【0393】

化合物97（式中、Xは、メチルである）、98、104、105、111、112、118および119（図12、13、14および15参照）は、式中のXがフッ素である97について上に記載したもと同様の手順を用いて調製した。

【実施例62】

【0394】

1-（3-デオキシ-4-チオ- β -D-トレオ-ペントフラノシル）-5-フルオロウラシル（107、X=F、図14）

-78℃で無水 CH_2Cl_2 （10mL）中の106（式中、Xは、フッ素である）（6 50

64 mg、1.5 mmol) の溶液に BBr_3 (CH_2Cl_2 中 1 M の溶液、7.5 mL) をゆっくりと添加し、その反応混合物を -78°C 、窒素下で、4 時間攪拌した。MeOH (5 mL) の添加によって反応を停止させ、ピリジンによって中和した。蒸発によって溶媒を除去した後、残留物を、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (4:1) で溶離するシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィーによって精製して、表題化合物 107 (式中、X は、フッ素である) (303 mg、77%) を得た。 ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8.20 (d, 1H, H-6), 6.24 (dd, 1H, H-1'), 5.65 (br, 1H, OH-2'), 5.19 (t, 1H, OH-5'), 4.01 (m, 1H, H-2'), 3.70-3.58 (m, 2H, H-5'), 3.20 (m, 1H, H-4'), 2.23 (m, 1H, H-3'), 1.76 (m, 1H, H-3')。

10

【0395】

化合物 107 (式中、X は、メチルである) および 114 (それぞれ、図 14 および 15 参照) は、式中の X がフッ素である 107 について上に記載したもと同様の手順を用いて調製した。

【0396】**【表 2】**

元素分析データ D-I ナンチオマー

化合物 番号	式	Cについて の 計算値	Hについて の 計算値	Nについて の 計算値	Sについて の 計算値	Oについて の 実測値	Hについて の 実測値	Nについて の 実測値	Sについて の 実測値
D-3	C ₂₁ H ₂₅ FO ₃ Si	67.71	6.76	-- ^a	-- ^a	67.70	6.79	-- ^a	-- ^a
D-4	C ₂₂ H ₂₈ FIO ₃ Si·0.2C ₆ H ₁₄	52.41	5.84	-- ^a	-- ^a	52.30	5.55	-- ^a	-- ^a
D-5	C ₂₄ H ₃₁ FO ₄ SSi	62.31	6.75	-- ^a	6.93	62.03	6.63	-- ^a	6.98
D-6	C ₂₁ H ₂₅ FO ₂ SSi	64.01	6.48	-- ^a	8.25	64.88	6.51	-- ^a	8.15
D-6a	C ₂₁ H ₂₅ FO ₂ SSi	64.01	6.48	-- ^a	8.25	65.15	6.58	-- ^a	8.12
D-7	C ₂₇ H ₂₉ FO ₂ SSeSi	59.65	5.38	-- ^a	5.90	60.10	5.46	-- ^a	5.85
L-7	C ₂₇ H ₂₉ FO ₂ SSeSi·0.15CH Cl ₃	58.07	5.23	-- ^a	5.70	57.88	5.36	-- ^a	5.76
D-8	C ₂₉ H ₂₈ FO ₃ SSeSi	59.27	5.66	-- ^a	5.46	59.61	5.72	-- ^a	5.57
D-9	C ₃₈ H ₃₈ FN ₃ O ₃ SSeSi	61.44	5.16	5.66	4.32	61.52	5.42	5.47	4.21
D-10	C ₃₈ H ₃₇ F ₂ N ₃ O ₃ SSeSi	59.99	4.90	5.52	4.21	59.96	5.07	5.42	4.23
D-11	C ₃₂ H ₃₅ FN ₂ O ₃ SSeSi·0.4H ₂ O	58.15	5.47	4.23	4.85	58.03	5.49	4.21	4.95

化合物 番号	式	Cについて の 計算値	Hについて の 計算値	Nについて の 計算値	Sについて の 計算値	Cについて の 実測値	Hについて の 実測値	Nについて の 実測値	Sについて の 実測値
D-12	$C_{31}H_{33}FN_2O_3SSeSi$	58.20	5.20	4.38	5.01	58.17	5.35	4.32	4.93
D-13	$C_{32}H_{32}FN_3O_3SSi$	65.88	5.66	7.07	5.39	66.04	5.85	6.81	5.17
D-14	$C_{32}H_{31}F_2N_3O_3SSi$	63.66	5.18	6.96	5.31	63.71	5.32	6.76	5.27
D-15	$C_{26}H_{29}FN_2O_3SSi \cdot 0.6H_2O$	61.54	6.00	5.50	6.30	61.31	5.87	5.34	6.11
D-16	$C_{23}H_{27}FN_3O_3SSi$	62.21	5.64	5.80	6.64	62.38	5.65	5.69	6.48
D-17	$C_9H_{10}FN_3O_2S \cdot 0.2H_2O$	43.79	4.25	17.02	12.99	43.87	4.31	16.92	12.86
D-18	$C_9H_9F_2N_3O_2S$	41.38	3.47	16.08	12.27	41.29	3.52	15.99	12.18
D-19	$C_{10}H_{11}FN_2O_3S \cdot 0.1Et_2O$	47.02	4.55	10.54	12.07	47.02	4.56	10.48	11.89
D-20	$C_9H_9FN_2O_3S \cdot 0.3CH_3OH$	44.00	4.05	11.04	12.63	44.01	3.89	11.22	12.76
D-21	$C_{32}H_{32}ClFN_4OSSeSi$	56.34	4.73	8.21	4.70	56.69	5.12	7.95	4.51
D-22	$C_{32}H_{31}ClF_2N_4OSSeSi \cdot 0.2$ C_6H_{14}	55.58	4.75	7.81	4.47	55.55	4.68	7.74	4.36
D-23	$C_{26}H_{26}ClFN_4OSSi$	59.47	4.99	10.67	6.11	59.58	5.03	10.41	6.09

【 0 3 9 7 】
【 表 3 】

化合物 番号	式	Cについて の 計算値	Hについて の 計算値	Nについて の 計算値	Sについて の 計算値	Cについて の 実測値	Hについて の 実測値	Nについて の 実測値	Sについて の 実測値
D-25	C ₂₆ H ₂₅ ClF ₂ N ₄ OSSi	57.50	4.64	10.32	5.90	57.18	4.50	10.13	5.68
D-27	C ₁₀ H ₁₀ FN ₅ OS	44.94	3.77	26.20	12.00	45.23	4.07	25.98	11.79
D-28	C ₁₀ H ₉ FN ₄ O ₂ S	44.77	3.38	20.88	11.95	44.53	3.67	21.15	11.91
D-29	C ₂₆ H ₂₇ ClFN ₅ OSSi	57.82	5.04	12.97	5.94	57.73	4.99	12.98	5.82
D-32	C ₁₀ H ₁₀ FN ₅ O ₂ S	42.40	3.56	24.72	11.32	42.27	3.74	24.56	11.09
D-33	C ₁₀ H ₉ F ₂ N ₅ OS	42.10	3.18	24.55	11.24	42.28	3.37	24.39	11.19

a 該当なし

10

20

30

元素分析データーラー-エナンチオマー

化合物	式	Cについて の 計算値	Hについて の 計算値	Nについて の 計算値	Sについて の 計算値	Cについて の 実測値	Hについて の 実測値	Nについて の 実測値	Sについて の 実測値
L-3	C ₂₁ H ₂₃ FO ₃ Si	67.71	6.76	-	-	67.71	6.78	-	-

10

20

30

化合物	式	Cについて 計算値	Hについて 計算値	Nについて 計算値	Sについて 計算値	Cについて 実測値	Hについて 実測値	Nについて 実測値	Sについて 実測値
L-4	$C_{22}H_{28}FIO_3Si0.05C_6H_{14}$	51.63	5.58	- ^a	- ^a	51.84	5.53	- ^a	- ^a
L-5	$C_{24}H_{31}FO_3SSi$	62.31	6.75	- ^a	6.93	62.36	6.69	- ^a	7.04
L-6	$C_{31}H_{42}FO_2SSi$	64.91	6.48	- ^a	8.25	65.15	6.58	- ^a	8.12
L-6a	$C_{21}H_{27}FO_2SSi$	64.91	6.48	- ^a	8.25	64.94	6.42	- ^a	8.16
L-7	$C_{27}H_{39}FO_2SSeSi0.15CHC$ I_3	58.07	5.23	- ^a	5.70	57.88	5.36	- ^a	5.76
L-8	$C_{29}H_{38}FO_3SSeSi$	59.27	5.66	- ^a	5.46	59.24	5.68	- ^a	5.42
L-9	$C_{38}H_{38}FN_3O_3SSeSi0.2Et_1$ O	61.51	5.32	5.55	4.23	61.88	5.55	5.56	4.21
L-10	$C_{38}H_{37}FN_3O_3SSeSi$	59.99	4.90	5.52	4.21	59.97	5.05	5.44	4.23
L-11	$C_{32}H_{35}FN_3O_3SSeSi$	58.79	5.40	4.29	4.90	58.85	5.46	4.20	4.98
L-12	$C_{31}H_{33}FN_3O_3SSeSi$	58.20	5.20	4.38	5.01	58.18	5.33	4.33	4.95
L-13	$C_{32}H_{32}FN_3O_3SSi0.1C_6H_{14}$	65.88	5.66	7.07	5.39	66.01	5.88	6.82	5.20

化合物	式	Cについて の 計算値	Hについて の 計算値	Nについて の 計算値	Sについて の 計算値	Cについて の 実測値	Hについて の 実測値	Nについて の 実測値	Sについて の 実測値
L-14	C ₃₂ H ₃₁ FN ₃ O ₃ SSi	63.66	5.18	6.96	5.31	63.69	5.30	6.78	5.26
L-15	C ₂₆ H ₂₃ FN ₂ O ₃ SSi	62.87	5.89	5.64	6.46	62.54	5.82	5.36	6.13
L-16	C ₂₅ H ₂₇ FN ₂ O ₃ SSi	62.21	5.64	5.80	6.64	62.41	5.68	5.71	6.52
L-17	C ₉ H ₁₀ FN ₃ O ₂ S	44.44	4.14	17.27	13.18	44.26	3.92	16.96	13.03
L-18	C ₉ H ₇ FN ₃ O ₂ S	41.38	3.47	16.08	12.27	41.45	3.60	15.95	12.14
L-19	C ₁₀ H ₁₁ FN ₂ O ₃ S*0.35Et ₂ O	48.18	5.14	9.86	11.28	48.49	4.88	10.07	11.59
L-20	C ₃ H ₃ FN ₂ O ₃ S	44.26	3.71	11.47	13.13	44.22	3.81	11.15	12.84
L-21	C ₃₂ H ₃₂ ClFN ₄ OSSeSi	56.34	4.73	8.21	4.70	56.00	4.81	8.04	4.73
L-22	C ₃₂ H ₃₁ ClFN ₄ OSSeSi	54.89	4.46	8.00	4.58	54.81	4.64	7.81	4.63
L-23	C ₂₆ H ₂₆ ClFN ₄ OSSi	59.47	4.99	10.67	6.11	59.56	5.30	10.33	5.93
L-25	C ₂₆ H ₂₅ ClFN ₄ OSSi	57.50	4.64	10.32	5.90	57.42	5.02	9.93	5.65
L-29	C ₂₆ H ₂₇ ClFN ₃ OSSi*0.3EtOAc	57.66	5.24	12.36	5.66	57.87	5.35	12.41	5.62

【 0 3 9 8 】
【 表 4 】

化合物	式	Cについて の 計算値	Hについて の 計算値	Nについて の 計算値	Sについて の 計算値	Cについて の 実測値	Hについて の 実測値	Nについて の 実測値	Sについて の 実測値
L-27	$C_{10}H_{10}FN_3OS$	44.94	3.77	26.20	12.00	44.83	3.88	25.83	11.85
L-28	$C_{10}H_9FN_4O_2S$	44.77	3.38	20.88	11.95	44.86	3.65	20.75	11.89
L-32	$C_{10}H_{10}FN_3O_2S \cdot 0.2H_2O$	41.87	3.65	24.41	11.18	42.17	3.35	24.37	11.16
L-33	$C_{10}H_9F_2N_3OS$	42.10	3.18	24.55	11.24	41.99	3.16	24.36	11.28

^a 該当なし

10

20

30

¹H NMRデータ α D-エナンチオマー

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
D-9	6.91 (d, J = 15.6 Hz)	2.62-2.47 (m)	3.68-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)	8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.69-7.27 (m, 19H), 1.02 (s, 9H)

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
D-10	6.73 (d, $J = 16.3$ Hz)	2.63-2.46 (m)	3.67-3.58 (m)	3.92-3.76 (m)	12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.87 (dd, $J = 5.9, 1.7$ Hz, 1H), 7.72-7.28 (m, 18H), 1.07 (s, 9H)
D-11	6.63 (d, $J = 14.7$ Hz)	2.55-2.41 (m)	3.62-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)	9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.68-7.30 (m, 15H), 5.56 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, 1H), 1.03 (s, 9H)
D-12	6.72 (d, $J = 18.1$ Hz)	2.62-2.44 (m)	3.67-3.57 (m)	3.87-3.73 (m)	9.13 (br s, 1H), 7.74-7.25 (m, 16H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H)
D-13	7.03 (s)	5.82 (s)	4.23-4.15 (m)	3.83 (dd, $J = 10.4, 6.1$ Hz) 3.78 (dd, $J = 10.4, 6.3$ Hz)	8.95 (br s, 1H), 7.91 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.69-7.38 (m, 15H), 1.10 (s, 9H)
D-14	6.95 (s)	5.80 (s)	4.23-4.15 (m)	3.84 (dd, $J = 10.5, 6.2$ Hz) 3.79 (dd, $J = 10.2, 6.6$ Hz)	12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.72-7.38 (m, 14H), 1.10 (s, 9H)

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
D-15	6.93 (s)	5.75 (s)	4.22-4.1 4 (m)	3.85 (dd, $J = 10.6, 5.9$ Hz) 3.81 (dd, $J = 10.5, 5.6$ Hz)	9.34 (br s, 1H), 7.70-7.35 (m, 11H), 5.44 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 1.09 (s, 9H)
D-16	6.96 (s)	5.81 (s)	4.22-4.1 3 (m)	3.85 (dd, $J = 10.5, 6.5$ Hz) 3.77 (dd, $J = 10.2, 7.0$ Hz)	9.45 (br s, 1H), 7.72-7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.08 (s, 9H)
D-17	6.93 (s)	5.89-5.85 (m)	4.17-4.12 (m)	3.78 (dd, $J = 11.7, 4.6$ Hz) 3.69 (ddd, $J = 11.6, 4.3, 1.2$ Hz) 3.84 (dd, $J = 11.8, 3.7$ Hz)	8.05 (dd, $J = 7.5, 1.0$ Hz, 1H), 5.97 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H)
D-18	6.92 (s)	5.84 (s)	4.17 (s)	3.68 (br d, $J = 10.6$ Hz)	8.39 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H)

10

20

30

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
D-19	6.87 (s)	5.89 (s)	4.19-4.13 (m)	3.80 (dd, $J = 11.7, 4.5$ Hz) 3.71 (ddd, $J = 11.7, 4.1, 1.4$ Hz)	8.11 (dd, $J = 8.1, 0.8$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)
D-20	6.87 (t, $J = 1.0$ Hz)	5.86 (s)	4.17 (s)	3.84 (dd, $J = 11.9, 4.0$ Hz) 3.77 (ddd, $J = 11.9, 3.7, 1.7$ Hz)	8.03 (s, 1H), 1.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H)
D-21	6.63 (d, $J = 14.7$ Hz)	2.75~2.63 (m)	3.80~3.7 3 (m)	3.96 (t, $J = 8.2$ Hz) 3.88 (td, $J = 7.6, 1.8$ Hz)	8.69 (s, 1H), 8.31 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.70~7.13 (m, 15H), 1.05 (s, 9H)
D-22	6.45 (d, $J = 14.0$ Hz)	2.76~2.63 (m) 2.60 (td, $J = 14.8, 7.9$ Hz)	3.80~3.7 2 (m)	3.97 (dd, $J = 9.7, 7.3$ Hz) 3.89 (ps td, $J = 7.6, 1.2$ Hz)	8.27 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.70~7.14 (m, 15H), 1.06 (s, 9H)

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
D-23	6.87 (s)	5.87 (s)	4.33~4.2 5 (m)	3.96 (dd, $J = 10.2, 6.8$ Hz) 3.86 (t, $J = 8.8$ Hz)	8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.69~7.35 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
D-24	--	3.25 (ddd, $J = 16.6, 9.2, 3.1$ Hz) 3.03 (dd, $J = 16.6, 5.2$ Hz)	4.05~3.78 (m, 3H)	3.94 (dd, $J = 10.2, 6.0$ Hz) 3.87~3.83 (m)	8.82 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.69~7.35 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
D-25	6.68 (s)	5.86 (s)	4.32~4.2 3 (m)	3.94 (dd, $J = 10.2, 6.0$ Hz) 3.87~3.83 (m)	8.08 (s, 1H), 7.69~7.36 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
D-26	--	3.24 (ddd, $J = 16.3, 9.3, 3.1$ Hz) 3.01 (ddd, $J = 16.8, 5.1, 0.6$ Hz)	4.04~3.80 (m, 3H)	3.94 (dd, $J = 10.2, 6.0$ Hz) 3.87~3.83 (m)	8.12 (s, 1H), 7.75~7.31 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
D-27	6.88 (s)	5.93 (s)	4.31~4.2 4 (m)	3.90 (dd, $J = 11.6, 4.4$ Hz) 3.81 (ddd, $J = 11.5,$ 4.1, 1.2 Hz)	8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H)
D-28	6.90 (s)	5.93 (s)	4.28~4.2 3 (m)	3.88 (dd, $J = 11.7, 4.7$ Hz) 3.80 (dd, $J = 10.5, 4.0$ Hz)	8.51 (s, 1H), 8.07 (s, 1H)
D-29	6.65 (s)	5.82 (s)	4.25~4.1 9 (m)	3.90 (dd, $J = 10.1, 7.0$ Hz) 3.81 (dd, $J = 9.8, 7.4$ Hz)	7.74 (s, 1H), 7.68~7.36 (m, 10H), 5.37 (s, 1H), 1.07 (s, 9H)
D-30	6.71 (s)	5.82 (s)	4.27~4.1 9 (m)	3.93~3.82 (m)	7.77 (s, 1H), 7.73~7.38 (m, 10H), 6.40 (br s, 2H), 1.08 (s, 9H)

【 0 3 9 9 】
【 表 5 】

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
				3.8 6 (dd, $J = 11.3, 4.6$ Hz)	
D-32	6.73 (s)	5.93 (s)	4.27~4.23 (m)	8.14 (s, 1H)	8.14 (s, 1H)
				3.81 (ddd, $J = 11.5, 4.6, 1.1$ Hz)	
				3.89 (dd, $J = 11.7, 4.9$ Hz)	
D-33	6.77 (s)	5.92 (s)	4.27~4.22 (m)	8.44 (s, 1H)	8.44 (s, 1H)
				3.82 (ddd, $J = 12.0, 4.6, 1.2$ Hz)	

^αCD₃OD; ppm; s, 一重線; d, 二重線; dd, 二つの二重線; t, 三重線; brs, 幅が広い一重線; m, 多重線; td, 三つの二重線; ddd, 二つの二重線二つ

表1. 1H NMRデータ L-エナンチオマー

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
L-9*	6.91 (d, J = 15.6 Hz)	2.62-2.47 (m)	3.68-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)	8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.69-7.27 (m, 19H), 1.02 (s, 9H)
L-10*	6.73 (d, J = 16.3 Hz)	2.63-2.46 (m)	3.67-3.58 (m)	3.92-3.76 (m)	12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.87 (dd, J = 5.9, 1.7 Hz, 1H), 7.72-7.28 (m, 18H), 1.07 (s, 9H)
L-11*	6.72 (d, J = 18.1 Hz)	2.62-2.44 (m)	3.67-3.57 (m)	3.87-3.73 (m)	9.13 (br s, 1H), 7.74-7.25 (m, 16H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H)
L-12*	6.63 (d, J = 14.7 Hz)	2.55-2.41 (m)	3.62-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)	9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.68-7.30 (m, 15H), 5.56 (dd, J = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 1.03 (s, 9H)
L-13*	7.03 (s)	5.82 (s)	4.23-4.15 (m)	3.83 (dd, J = 10.4, 6.1 Hz) 3.78 (dd, J = 10.4, 6.3 Hz)	8.95 (br s, 1H), 7.91 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.69-7.38 (m, 15H), 1.10 (s, 9H)

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
L-14^a	6.95 (s)	5.80 (s)	4.23~4.1 5 (m)	3.84 (dd, $J = 10.5, 6.2$ Hz) 3.79 (dd, $J = 10.2, 6.6$ Hz)	12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.72~7.38 (m, 14H), 1.10 (s, 9H)
L-15^a	6.96 (s)	5.81 (s)	4.22~4.1 3 (m)	3.85 (dd, $J = 10.5, 6.5$ Hz) 3.77 (dd, $J = 10.2, 7.0$ Hz)	9.45 (br s, 1H), 7.72~7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.08 (s, 9H)
L-16^a	6.93 (s)	5.75 (s)	4.22~4.1 4 (m)	3.85 (dd, $J = 10.6, 5.9$ Hz) 3.81 (dd, $J = 10.5, 5.6$ Hz)	9.34 (br s, 1H), 7.70~7.35 (m, 11H), 5.44 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 1.09 (s, 9H)
L-17^a	6.93 (s)	5.89-5.85 (m)	4.17-4.12 (m)	3.78 (dd, $J = 11.7, 4.6$ Hz) 3.69 (ddd, $J = 11.6, 4.3, 1.2$ Hz)	8.05 (dd, $J = 7.5, 1.0$ Hz, 1H), 5.97 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H)

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
L-18*	6.92 (s)	5.84 (s)	4.17 (s)	3.84 (dd, $J = 11.8, 3.7$ Hz) 3.68 (br d, $J = 10.6$ Hz)	8.39 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H)
L-19*	6.87 (s)	5.86 (s)	4.17 (s)	3.84 (dd, $J = 11.9, 4.0$ Hz) 3.77 (ddd, $J = 11.9, 3.7, 1.7$ Hz)	8.03 (s, 1H), 1.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H)
L-20*	6.87 (s)	5.89 (s)	4.19-4.13 (m)	3.80 (dd, $J = 11.7, 4.5$ Hz) 3.71 (ddd, $J = 11.7, 4.1, 1.4$ Hz)	8.11 (dd, $J = 8.1, 0.8$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)
L-21*	6.55 (d, $J = 14.7$ Hz)	2.67-2.46 (m)	3.72-3.62 (m)	3.88 (ps t, $J = 8.5$ Hz) 3.80 (ps t, $J = 8.7$ Hz)	8.60 (s, 1H), 8.23 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.63-7.01 (m, 15H), 0.96 (s, 9H)

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
L-22*	6.37 (d, $J =$	2.68~2.57 (m)		3.89 (dd, $J = 9.7, 6.9$	
	13.9 Hz)	2.52 (td, $J = 12.9,$	3.72~3.6	Hz)	8.20 (s, 1H), 7.62~7.06 (m, 15H), 0.98 (s, 9H)
		7.7 Hz)	4 (m)	3.80 (td, $J = 7.8, 1.3$	
L-23*				Hz)	
				3.96 (dd, $J = 10.2, 6.8$	
	6.87 (s)	5.87 (s)	4.33~4.2	Hz)	8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.67 (t, $J = 14.4$ Hz, 4H),
L-24*	na ^c		4 (m)	3.86 (dd, $J = 10.0, 7.5$	7.50~7.36 (m, 6H), 1.08 (s, 9H)
				Hz)	
		3.25 (ddd, $J = 16.8,$			
		9.3, 3.3 Hz, 1H),	4.03~3.8		8.81 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.70~7.35 (m, 10H), 1.08
L-25*		3.03 (ddd, $J = 16.6,$	3 (m, 3H)		(s, 9H)
		5.7, 1.2 Hz, 1H)			
	6.68 (s)	5.79 (s)	4.25~4.1	3.86 (td, $J = 10.2, 6.5$	
			8 (m)	Hz)	8.01 (s, 1H), 7.63~7.28 (m, 10H), 1.01 (s, 9H)
				3.82~3.77 (m)	

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
L-26'	na'	3.24 (ddd, $J = 16.3$,			
		9.3, 3.1 Hz, 1H),	4.04-3.8		
		3.01 (ddd, $J = 16.8$,	0 (m, 3H)		8.12 (s, 1H), 7.75~7.31 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
		5.1, 0.6 Hz, 1H)			
L-27'	6.89 (s)			3.90 (dd, $J = 11.5$, 4.2	
				Hz)	
		5.93 (s)	4.28 (s)	3.81 (dd, $J = 11.4$, 3.2	8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H)
				Hz)	
L-28'	6.90 (s)			3.88 (dd, $J = 11.6$, 4.7	
				Hz)	
		5.93 (s)	4.26 (s)	3.80 (dd, $J = 10.7$, 3.2	8.51 (s, 1H), 8.07 (s, 1H)
				Hz)	
L-29'	6.65 (s)			3.90 (dd, $J = 10.1$, 7.2	
				Hz)	
		5.83 (s)	4.26~4.2		7.74 (s, 1H), 7.70~7.37 (m, 10H), 5.18 (s, 2H), 1.07
			2 (m)	3.81 (dd, $J = 9.8$, 7.3	(s, 9H)
				Hz)	

化合物	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	他のプロトン
L-30 ^a	6.72 (s)	5.83 (s)	4.29~4.1 9 (m)	3.94 (dd, $J = 10.2, 6.6$ Hz) 3.87 (dd, $J = 10.1, 7.1$ Hz)	7.80 (s, 1H), 7.74~7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 1.08 (s, 9H)
L-31 ^a	na ^c	3.20 (ddd, $J = 16.5, 9.2, 3.1$ Hz, 1H), 3.00 (dd, $J = 16.7, 4.6$ Hz, 1H)	4.02~3.7 9 (m, 3H)		7.84 (s, 1H), 7.74~7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 1.08 (s, 9H)
L-32 ^b	6.61 (s)	5.83 (s)	4.22~4.14 (m)	3.84~3.74 (m)	7.98 (s, 1H)
L-33 ^b	6.77 (s)	5.92 (s)	4.28~4.21 (m)	3.89 (dd, $J = 11.6, 4.7$ Hz) 3.85~3.79 (m)	8.44 (s, 1H)

^aCDCl₃, ^bCD₃OD, ^cna: 該当なし

10

20

30

40

50

【0400】

V I I . 生物活性

定量実時間PCR (「Q-R-T-PCR」) によって、抗ウイルス化合物の候補を評価することができ、同時に、宿主の核酸レベルに対する影響に評点を付ける。これらのアッセイには、(i) HIV-1 遺伝子型Bウイルス量アッセイ、(ii) HBVウイルス量アッセイ、(iii) BVDVウイルス量アッセイ、(iv) ヒトβ-アクチン遺伝子アッセイ、(v) ミトコンドリアCOXII遺伝子アッセイ、および(vi) rRNA遺伝子アッセイが含まれる。

【0401】

β-D-およびβ-L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオシチジン(それぞれ、D-17およびL-17)、β-D-およびβ-L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオ-5'-フルオロシチジン(それぞれ、D-18およびL-18)、β-D-およびβ-L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ-シチジン(それぞ

れ、10および23)、ならびに β -D-および β -L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ-5-フルオロシチジン(それぞれ、10-Fおよび23-F)の抗ウイルス有効度および細胞毒性を評価した。対照化合物として、AZT(3'-アジド-3'-デオキシチミジン)、3TC[(β -2', 3'-ジデオキシ-3'-チアシチジン)、D-ddC(β -D-2', 3'-ジデオキシシチジン)、リバビリン(1- β -D-リボフラノシル-1H-1, 2, 4-トリアゾール-3-カルボキサミド)、(+)-BCH-189[(+)- β -2', 3'-ジデオキシ-3'-チアシチジン)、FIAU(1-(2-デオキシ-2-フルオロ-1- β -D-アラビノフラノシル)-5-ヨードシチジン)、D4T(β -D-2', 3'-ジデヒドロ-3'-デオキシチミジン)、ACV[9-(2-ヒドロキシエトキシメチル)グアニン]およびD-D4FC(β -D-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-5-フルオロシチジン)も評価した。

10

【0402】

すべての化合物を、(i)野生型(xxBRU)および3TC耐性(184V)HIV-1に対して；(ii)誘発性HepAD38細胞系統においてHBV生産を抑制するそれらの能力について；および(iii)実際に感染しているMDBK細胞においてBVDV生産を抑制するそれらの能力について試験した。HIV-1遺伝子型B、本質的には記載されているようなHBV(24)、およびウシウイルス性下痢ウイルス(BVDV)のために、3つの定量PCRアッセイ(Q-PCR)を設計した(Taqman 7700 chemistry, PE Biosystems)。後者のウイルスは、多くの場合、C型肝炎ウイルス(HCV)のための代用モデルとして用いられる(16、21)。すべてのウイルス(HBV、HIV、BVDV)および宿主ターゲット(β -アクチン遺伝子、ミトコンドリアCOXII遺伝子、rRNA遺伝子)についての定量増幅アッセイ(TaqMan RT-PCR)を、細胞およびウイルスのDNAおよび/またはRNAレベルの正確な定量を可能ならしめるように設計した。

20

【0403】

ウイルス量アッセイの設計(特に、HIV-1についてのもの)は、一般に、ウイルスゲノムの際めて変異性の性質によって複雑化される(25、30、31)。プライマーおよびプローブは、限られた量の変異性を示し、且つ、6-log範囲を超える卓越した直線性を示し、且つ、抗ウイルス研究室において日常的に用いられているウイルス株の遺伝的変異性を変換させる領域を基に設計した。診断目的のプライマーおよびプローブの現行の選択を異なる地理的起原からの臨床サンプルに対してより広く適用できるようにするには、本質的には他の適用について記載されている(2、13)ように、特異性、感受性、再現性、異なる遺伝子型/クレードに関する直線範囲の最適化および他の市販試薬での標準化を研究することが必要となろう。

30

【0404】

幾つかの化合物は、野生型HIV-1株に対して強い抗ウイルス活性を示した(EC_{50} 値範囲0.16から5.16 μ M)が、3TC耐性HIV-1に対して試験した時のこれらの化合物についての EC_{50} の顕著な増加(EC_{50} 値範囲53から>100 μ M)は、注目された。両方の種類の化合物の β -Lエナンチオマーは、対応する β -D-エナンチオマーより効力があった。一方の化合物は、AD38細胞におけるHBVの生産を抑制した(EC_{50} =1.0 μ M)。これらの化合物は、ヒトPBM細胞およびHepG2細胞において本質的には細胞毒性ではなかった(IC_{50} >87 μ M)。10 μ Mのヌクレオシド類似体と共に7日間インキュベーションした後、ミトコンドリアDNAレベルに対する影響は、観察されなかった。これらの研究は、酸素の代わりに4'-チオを有するシトシンヌクレオシド類似体の糖環の修飾によって、野生型ウイルスを抑制する効力はあるが、3TC耐性ウイルスに対する効力は低下した化合物が生じることを証明している。

40

【実施例63】

【0405】

毒性アッセイ

50

HepG2およびヒトPBM細胞（ 5×10^4 ／ウェル）を、漸増濃度の試験化合物の存在下で、96ウェルプレートに播種し、 37°C 、5% CO_2 のインキュベータでインキュベートした。HepG2については3日間、またはヒトPBM細胞については5日間インキュベーションした後、細胞生存度およびミトコンドリア活性を、MTS—またはMTT染色法を用いる比色分析（Promega, Madison, WI）で測定した。8つの化合物を日常的なMTTまたはMTS毒性分析で試験した。これらは、評価した細胞（HepG2およびヒトPBM細胞）において $87 \mu\text{M}$ より高い IC_{50} 値を有した（表1）。

【0406】

【表6】

表1. 試験化合物の細胞毒性

	細胞毒性 ^a	
	PBM	HepG2
	IC_{50}	IC_{50}
10	>100	>100
10-F	>100	>100
23	87	>100
23-F	>100	>100
D-17	>100	>100
D-18	>100	>100
L-17	>100	>100
L-18	>100	>100
AZT	>100	>100
3TC	>100	>100
D-D4FC	80	>100
リバビリン	>100	90

^a μM での値

【実施例64】

【0407】

HIV-1細胞培養

以前に記載された（27）ように、ヒトPBM細胞（細胞数 1×10^6 ／T25フラスコ）を2または3日間、PHAで刺激し、100TCID₅₀で野生型（LAIおよびxxBRU）または3TC耐性（xxBRU 184V）HIV-1株のいずれかに感染させた。その培養物を、系列1-10 log希釈での試験化合物の存在下に5日間置いた。その後、ヒトPBM細胞を、延伸分離（10分、 $400 \times g$ 、 4°C ）によって培養上清から除去した。この清澄上清をRTアッセイまたはQ-RT-PCRアッセイのいずれかで試験した。

【実施例65】

【0408】

HIV-1 RTアッセイ

1 mL分の培養上清中に存在するウイルス粒子を、高速遠心分離（2時間、 $20,000 \times g$ 、 4°C ）によって濃縮した。その後、上清を除去し、ウイルスペレットを100 μL のウイルス可溶化バッファ（VSB: 0.5% Triton X-100; 0.8M NaCl、0.5mM フェニルメチルスルホニル、20%グリセロール、50mM Tris, HCl pH 7.8）に計量分配した。10 μL 分取のRT-VSBを75 μL のRTカクテル（60mM Tris, HCl pH 7.8、12mM MgCl_2 、6mM DDT、6 $\mu\text{g/mL}$ ポリ(rA)n-oligo(dT)10-12、1.2mM

10

20

30

40

50

dATP、および80 μ Ci/mL 3H-TTP)と混合し、2時間、37℃でインキュベートした。その後、100 μ Lの10% TCAを添加し、組み込まれた3H-TTPの総量を測定した。

【実施例66】

【0409】

ヒトPBM細胞におけるHIV-1 Q-RT-PCRアッセイ

培養上清中に存在するウイルスRNAを、市販のカラム(QIAamp Viral RNA mini Kit, Qigen, Valencia, CA)を用いて作った。消光蛍光プローブ分子を増幅されたウイルスDNAにハイブリダイゼーションさせた後、そのプローブの分解によって生じる蛍光シグナルの増加をモニターすることによって、ウイルスRNAを実時間で検出した(Taqman 7700 chemistry, Applied Biosystems, Foster City, CA)。TaqManプローブおよびプライマーは、Primer Express software (Applied Biosystems)を用いて設計した。それらは、グループM HIV-1ゲノムのコドン230と257の間のHIV-1 RT遺伝子からの81塩基対の長いフラグメントに対して相補的な、非常に保存された配列をカバーする。

【0410】

プローブ5'-6FAM-TTTCTGGCAGCACTATAGGCTGTACTGTCCATT-TAMRA-3' ;

センスプライマー: 5'-TGGGTATGAACTCCATCCTGAT-3' ; および

アンチセンスプライマー5'-TGTCATTGACAGTCCAGCGTCT-3'。

【0411】

製造業者(Applied Biosystems)が記載したとおりの試薬および条件を用いて、合計5 μ LのRNAをRT増幅させた。標準曲線は、複製数 1.41×10^2 /mLから複製数 $>1.41 \times 10^8$ /mLの範囲であった。複製数は、Roche Amplicor HIV-1 Monitor test (商標)(Roche Diagnostics, Branchburg, NJ)を用い、1-log系列希釈の臨床HIV-1遺伝子型B分離株(高ウイルス量が得られるように、インビトロで弱毒化したもの)を基に校正した。10~6希釈サンプルは、閾サイクル(Ct=サンプルが検出可能となるPCRサイクルの閾値)=35.52で正となり、この値は、Roche monitor HIV-1 version II assayでは複製数 $1,410$ /mLに相当した。3-logにわたるウイルスの動的範囲が確認された時、二つの方法論の間には卓越した相関関係($r^2 \sim 1$)が存在した。Q-RT-PCRは、複製数 141 /mL(Ct=38.85)の検出の下限を有し、6-logのウイルス希釈にわたって直線であった。従って、現在設計されているプライマーおよびプローブセットによって、臨床サンプルとHIV-1インビトロ製剤の両方の信頼できる定量が可能であった。

【0412】

PHA刺激ヒトPBM細胞を用いる5日間アッセイにおいて、本抗ウイルス化合物を、3つのHIV-1株(LAI、xxBRU、および3TC耐性xxBRU-184V)に対して、AZT、3TCおよびD-D4FCと比較した。培養上清液中に存在するHIV-1を次の二つの異なる方法論によって定量した: i) log複製数/mLで読みとるQ-RT-PCR; および ii) logカウント毎分/mL(CPM/mL)で読みとる細胞上清に対する内在性ウイルスRTアッセイ。培地に抗ウイルス化合物を添加すると同時に、用量に関連したウイルス生産の低下が観察された。これらの結果の幾つかの代表例を図16に示す。二つの方法論によって異なるパラメータ(ウイルスRNA対活性RT酵素)を測定したが、結果は、互に、さほど差がなかった。HIV-1 Q-RT-PCRの結果を、以前に確立された細胞ベースの抗ウイルス薬評価アッセイ(細胞上清中の内在性HIV-1のRT重合活性)(27)と比較した。

【0413】

ウイルスRNA、すなわちRT活性を90%減少させるために有効な濃度（EC₉₀）として表した、3つのHIV-1ウイルス株についてのデータの一覧を表2に与える。

【0414】

【表7】

表2. 急性感染ヒトPBM細胞におけるヌクレオシドの抗HIV-1活性

	RT-アッセイ ^a				Q-RT-PCR HIV-1アッセイ ^a			
	LAI	xxBRU	184V	FI ^b	LAI	xxBRU	184V	FI ^b
	EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀		EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀	
10	25.3	35.5	572	16.1	50.6	35.4	>100	nr ^c
10-F	34.5	37.5	494	13.2	36.3	34.8	>100	nr ^c

10

	RT-アッセイ ^a				Q-RT-PCR HIV-1アッセイ ^a			
	LAI	xxBRU	184V	FI ^b	LAI	xxBRU	184V	FI ^b
	EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀		EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀	
23	0.67	0.14	82.0	586	0.92	0.60	68.4	115
23-F	0.12	0.14	67.0	479	0.09	0.16	53.0	333
D-17	11.9	5.0	125	25.0	24.6	5.2	65.8	12.8
D-18	>100	119	>100	nr ^c	>100	73.9	>100	nr ^c
L-17	3.3	1.4	1,569	1,121	4.1	2.1	>100	>50
L-18	2.6	1.1	>100	>100	4.3	0.94	>100	>100
AZT	0.02	0.01	0.002	0.29	0.03	0.01	0.01	1.00
3TC	0.13	0.08	535	6,688	0.37	0.06	>100	>1,562
D-D4FC	0.18	0.08	0.15	1.9	0.38	0.22	0.21	0.97

^a μMでの値

^b FI は、倍増加 (EC₉₀ HIV-1_{184V} / EC₉₀ HIV-1_{xxBRU})

^c nr = 該当なし

20

30

【実施例67】

【0415】

AD38細胞におけるHBV Q-RT-PCRアッセイ

HepAD38細胞系統は、テトラサイクリンで調節することができる条件下でHBVを複製する（12、15）。この薬物の存在下では、細胞上清には、実質的にウイルスDNAがないが、培地からテトラサイクリンを除去すると、これらの細胞は、上清にウイルス様粒子を分泌する（12）。HepAD38細胞を、96ウェルプレート中、細胞数5 x 10⁴ / ウェルで播種培地（DMEM / F12 + 10% FBS、50 μg / mL ペニシリン、50 μg / mL ストレプトマイシン、100 μg / mL カナマイシン、400 μg / mL G418、および0.3 μg / mL テトラサイクリン）に播種し、5% CO₂ 湿潤雰囲気下、37℃で2日間、インキュベートした。播種培地を除去し、細胞をPBSで3回洗浄した。その後、化合物を含有しないか、試験化合物を含有するか、対照薬物を10 μMで含有する200 μLのアッセイ用培地（DMEM / F12 + 10% FBS + P / S / K）とともに、細胞をインキュベートした。5日間インキュベートした後、細胞上清を回収し、HBV DNAを定量するまで、-70℃で保管した。QiaAmp DNA blood Mini kit（Qiagen）を用いて、HBV DNAを上清から抽出し、核酸を200 μLに溶出した。ウイルスDNAをQ-PCRで検出した。TaqManプローブおよびプライマーは、Primer Express software（Applied Biosystems）を用いて設計し、これは、HBsAg中に存在するDNA配列に相補的な、非常に保存された配列をカバーした（

40

50

24)。製造業者 (Applied Biosystems) が記載したとおりの試薬および条件を用いて、合計 5 μ L の DNA を増幅した。標準曲線は、少なくとも 6 - log の動的範囲を示し、複製数 2×10^2 / mL から複製数 $> 2 \times 10^8$ / mL の範囲をとった (示していない)。

【0416】

HepAD38 細胞中の HBV の経時的ウイルス誘導を調査した (図 17)。2 日の HBV 抑制 (培地を含有するテトラサイクリンを用いる) 後、これらの細胞を 10 μ M の 3TC とともに、または 3TC を伴わずに 5 日間インキュベートし、下記の観察を成した: (i) 播種後、直ちに、細胞上清中のウイルス DNA を検出したが、3つのサンプリングポイント (播種培地中、0 日、1 日目および二日目) を通して量は変化しなかった。これは、上清中の HBV DNA 配列の存在が、細胞破壊片からの物質を表すことを示している; (ii) テトラサイクリンは、HBV DNA 発現の可能性を完全に奪う; (iii) 誘導から 5 日後、細胞上清中の HBV DNA が約 2.5 - log 増加する; ならびに (iv) 10 μ M の 3TC は、上清へのウイルス DNA の放出をほぼ 1.5 - log まで防止する。

10

【0417】

HBV に対する 8 つの候補化合物についての EC_{50} 値を AD38 細胞において測定した。期待どおり、3TC は、効力のある抑制 ($EC_{50} = 2.9 \mu$ M) を示し、一方、化合物 23 は、匹敵する活性 ($EC_{50} = 1.0 \mu$ M) を有した。他のすべての化合物は、 EC_{50} が、100 μ M より大きかったので、不活性と考えられた (表 3)。

20

【0418】

試験化合物の抗 HBV 活性に対する多くの研究には、定量 HBV サザンブロット法を用い、HepG2.2.15 細胞系が利用されている (1, 14)。Q-PCR 法を用い、HepG2.2.15 系を利用すると、10 μ M の 3TC では、最大低下 0.6 - log で、動的範囲が非常に狭くなることが分かった。従って、AD38 系 (12, 15) は、Q-PCR 法で評価し (図 17)、細胞上清中の HBV DNA の約 2.5 - log のウイルス生産動的範囲が観察された。加えて、10 μ M の 3TC に 5 日間暴露することによって、上清へのウイルス DNA の放出が、ほぼ 1.5 - log 低下した。AD38 細胞における Q-PCR アプローチは、HepG2.2.15 法と比較して、広い動的範囲、短いインキュベーション時間をもたらし、且つ、放射性の検出の必要がなかった。8 つの候補化合物および 3TC を AD38 細胞において試験し、期待どおり、3TC は、細胞上清中の HBV DNA 量の有力な減少 ($EC_{50} = 3 \mu$ M) を示した。細胞上清中の HBV DNA を減少することができた試験化合物は、化合物 23 ($EC_{50} = 1 \mu$ M) だけだった。しかし、この化合物は、3TC 耐性 HIV-1 に対する効力が 586 倍低いことがわかった (表 2)。それ故、化合物 23 が、3TC 耐性 HBV に対する効力も低いことが予想される。これは、L-ヌクレオシドであるので (29)、これらのデータは、 β -L-2', 3'-ジデオヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ糖構造が、 β -L-2', 3'-ジデオキシ-3'-チア構造を有する化合物と同様の活性および耐性プロファイルを示している。興味深いことに、シチジンの 5 位におけるフッ素原子の付加 (化合物 23-F) は、HBV に対してほぼ不活性 ($EC_{50} = 68 \mu$ M) の化合物を生じるが、 β -L-2', 3'-ジデオキシ-3'-チア構造を有する類似体 [(α)-FTC、エムトリシタピン] は、 EC_{50} 値 0.24 μ M で、効力のある HBV 抑制を示した (22)。

30

40

【実施例 68】

【0419】

MDBK 細胞における BVDV Q-RT-PCR アッセイ
メディン・ダービーウシ腎 (MDBK) 細胞を、10% 加熱不活性化ウマ血清を補充した DMEM/F12 中、37°C、加湿した 5% CO₂ 雰囲気下で保持した。細胞を 96 ウェルプレートに細胞数 5×10^3 / ウェルで播種し、1 時間インキュベートした。BVDV (NADL 株) を用いて、単層中の細胞を MOI 0.02 で感染させた。感染から 45 分

50

後、接種ウイルスを除去し、細胞を二回洗浄した。培地、または試験化合物を含有する培地をこれらの細胞に添加し、その後、24時間インキュベートした。細胞上清液を回収し、遠心分離（2分間、3,000g、室温）によって清澄にし、ウイルスRNAを調製した（QIAamp Viral RNA mini Kit; Qiagen）。ウイルスRNAを実時間RT-PCRで検出した。プライマーおよびプローブは、Primer Express software（Applied Biosystems）を用いてBVDV NS5B領域用に設計した；

プローブ：5'-6FAM-AAATCCTCCTAACCAAGCGGGTTCCAGG-TAMRA-3'；

センスプライマー：5'-AGCCTTTCAGTTTCTTGCTGATGT-3'；および

アンチセンスプライマー：5'-TGTTGCGAAAGGACCAACAG-3'。

【0420】

少なくとも6-logの直線範囲を有する標準曲線を得た（データは示さない）。リバビリン（Schering-Plough, Raritan, NJ）をこれらの実験の正の対照として用いた。リバビリンは、効力のある抑制（ $EC_{50} = 5 \mu M$ ）を示したが、試験化合物は、いずれも、感染細胞からのウイルスの放出を防止しなかった（ $EC_{50} > 200 \mu M$ 、表3）。

【0421】

【表8】

表3. 試験化合物の細胞毒性ならびに抗HBVおよび抗BVDV活性

	細胞毒性 ^a		HBVアッセイ ^a	BVDVアッセイ ^a
	PBM	HepG2	Q-PCR	Q-PCR
	IC ₅₀	IC ₅₀	EC ₉₀	EC ₉₀
10	>100	>100	100	>200
10-F	>100	>100	>100	>200
23	87	>100	1.0	>200
23-F	>100	>100	68	>200
D-17	>100	>100	>100	>200
D-18	>100	>100	>100	>200
L-17	>100	>100	>100	>200
L-18	>100	>100	>100	>200
AZT	>100	>100	ND ^b	>200
3TC	>100	>100	3.0	>200
D-D4FC	80	>100	ND ^b	>200
リバビリン	>100	90	>100	5.0

^a μM での値

^b ND = 未判定

【実施例69】

【0422】

ミトコンドリアDNAおよびRNA遺伝子についてのQ-RT-PCRアッセイ
Q-RT-PCR法を用いて、関連ヒト細胞における本発明の化合物によるミトコンドリアγ-DNAポリメラーゼの阻害の可能性も評価した。ウイルス性または増殖性疾患の治療に有用なヌクレオシド類似体は、患者において遺伝性ミトコンドリア疾患（すなわち、肝臓脂肪症、乳酸アシドーシス、ミオパシー、腎毒性、末梢神経障害、多発性対称性脂肪腫症、および膵炎）に似た毒性を示す（3,18）。三リン酸塩形の活性ヌクレオシド化合物は、3'-OHを欠き、そのため、連鎖停止反応によりウイルス複製が停止するの

で、これらのヌクレオシド類似体もヒトDNAポリメラーゼ γ の基質である関係から、ミトコンドリアDNA複製の障害が生じ、その後、毒性副作用が生じる(11、19)。細胞内のミトコンドリアDNAレベルの直接定量可能なデータを提供する試みでは、Q-PCR法を設計し、COXII DNAレベルの相対定量を、比較Ct法を用いて計算した。D-ddCおよび(+)-BCH-189を対照とし、ミトコンドリアCOXII DNAレベルの低下を確認した(7)。また、以前の観察と一致して、FIAUおよびD4Tでの処理後、正規化ミトコンドリアDNAレベルの変化は観察されなかった(6、8、23)。COXII DNAレベルにおいてなんらかの有意な低下を示した試験化合物はなかった。しかし、本明細書に記載されているQ-PCR法では、ミトコンドリアDNAへの抑制因子の組み込みの可能性、ならびにミトコンドリアの形態変化(クリスタの損失)10、乳酸の生産および脂質小滴の形成といった他のミトコンドリア異常は予測されない。

【0423】

American Tissue Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) から入手した低継代数HepG2細胞を、コラーゲンコーティングした96ウェルプレートに、細胞数5,000/ウェルで播種した。試験化合物を、最終濃度が10 μ Mになるように、培地に添加した。培養7日目、市販のカラム(RNeasy 96 kit, Qiagen)を用いて細胞核酸を調製した。これらのキットは、RNAとDNAを共に精製するので、全核酸は、カラムから140 μ Lの水に溶出された。ターゲットとリファレンスの両方に適するプライマーおよびプローブ(Primer Express software, Applied Biosystems)を用いて20設計したものを用い、多重Q-PCRプロトコルで、ミトコンドリアシトクロムCオキシダーゼサブユニットII(COXII)遺伝子および β -アクトチンまたはrRNAを5 μ Lから増幅した；

COXIIについて：

センスプライマー5'-TGCCCGCCATCATCCTA-3'；

プローブ5'-TET-TCTTCATCGCCCTCCCATCCC-TAMRA-3'；および

アンチセンスプローブ5'-CGTCTGTATGTAAAGGATGCGT-3'；

β -アクトチンのエキソン3(GenBank E01094)について：

センスプライマー5'-GCGCGGCTACAGCTTCA-3'；30

プローブ5'-6FAM-CACCAACGGCCGAGCGGGA-TAMARA-3'；および

アンチセンスプローブ5'-TCTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'。

【0424】

rRNA遺伝子プライマーおよびプローブは、Applied Biosystemsから購入した。1-log希釈全HepG2 DNAを用いた標準曲線は、5-logより長きにわたって直線状であった。加えて、ターゲット(COXII DNA)とリファレンス(β -アクトチンCNAまたはrRNA)の増幅の効率、ほぼ等しかった。 Δ Ct線(Ct β -アクトチン-Ctミトコンドリアのもの)の傾斜が0.1未満であった(示していない)からである。両方の遺伝子について等しい増幅効率が得られたので、比較サイ40クル閾(Ct)法を用いて、ミトコンドリアDNAポリメラーゼ γ の障害の可能性を調査した。比較Ct法は、ターゲット(COXII遺伝子)の量が内在性リファレンス(β -アクトチン遺伝子またはrRNA遺伝子)に対して正規化され、キャリブレータ(7日目の薬物対照なし)に相関する計算式を用いる。このアプローチのための計算式は、2- $\Delta\Delta$ Ct(User bulletin #2, Applied Biosystems)によって与えられている。

【0425】

宿主DNAポリメラーゼに対するこれらの化合物の可能な障害効果の結果を研究するために、核およびミトコンドリアDNAレベルを定量し、未処理の対照と比較した。細胞を、7日間、各化合物10 μ Mとともにインキュベートし、その後、全核酸抽出およびrRN50

A 遺伝子およびミトコンドリア COX II 遺伝子の多重 Q-PCR を行った。mitDNA および β -アクトチン遺伝子については、対照化合物に暴露した細胞からの核酸も多重に増幅した。その結果を、比較 Ct 法を用いて、表 4 に提供する。

【0426】

【表 9】

表 4. 様々な抗ウイルス薬で処理した HepG2 細胞における比較 Ct 法を用いた遺伝子産物の相対定量

化合物 対象	平均 $\Delta Ct \pm SD^a$			平均 $\Delta \Delta Ct \pm SD^b$			対照に対する	対照に対する
	COXII DNA	rDNA	β -アクトチン DNA	COXII - rDNA	COXII - β -アクトチン rDNA	β -アクトチン rDNA	COXII DNA (範囲) ^c	COXII DNA (範囲) ^c
D-ddC	0.27 $\pm$ 0.26 ^d	0.18 $\pm$ 0.53	-0.62 $\pm$ 0.21 ^d	2.09 $\pm$ 0.65 ^d	2.9 $\pm$ 0.23 ^d	0.81 $\pm$ 0.59	1 (0.59 - 1.69)	1 (0.68 - 1.48)
AZT	0.25 $\pm$ 0.13	0.86 $\pm$ 0.55	0.10 $\pm$ 0.38	-0.61 $\pm$ 0.56	0.16 $\pm$ 0.44	0.76 $\pm$ 0.87	0.23 (0.15 - 0.37)	0.13 (0.11 - 0.16)
3TC	0.08 $\pm$ 0.33	0.47 $\pm$ 0.51	0.11 $\pm$ 0.23	-0.39 $\pm$ 0.50	-0.02 $\pm$ 0.43	0.36 $\pm$ 0.66	1.52 (1.03 - 2.24)	0.90 (0.66 - 1.22)
(+)-BCH-189	2.16 $\pm$ 0.32 ^d	-0.14 $\pm$ 0.61	-0.36 $\pm$ 0.31	2.3 $\pm$ 0.66 ^d	2.53 $\pm$ 0.36 ^d	0.23 $\pm$ 0.39	1.31 (0.92 - 1.88)	1.02 (0.75 - 1.37)
D-FluAU	0.09 $\pm$ 0.17	ND ^e	0.23 $\pm$ 0.01	ND ^e	-0.14 $\pm$ 0.12	ND ^e	0.20 (0.13 - 0.32)	0.17 (0.14 - 0.22)
D-D4T	0.29 $\pm$ 0.01	ND ^e	0.05 $\pm$ 0.06	ND ^e	0.23 $\pm$ 0.04	ND ^e	ND ^e	1.10 (1.01 - 1.20)
ACV	-0.37 $\pm$ 0.08	ND ^e	0.17 $\pm$ 0.01	ND ^e	-0.54 $\pm$ 0.06	ND ^e	ND ^e	0.85 (0.79 - 0.88)
10	-0.29 $\pm$ 0.19	-0.08 $\pm$ 0.50	ND ^e	-0.21 $\pm$ 0.51	ND ^e	ND ^e	1.16 (0.81 - 1.64)	1.45 (1.34 - 1.52)
10-F	-0.49 $\pm$ 0.31	-0.44 $\pm$ 0.31	ND ^e	-0.05 $\pm$ 0.37	ND ^e	ND ^e	1.04 (1.34 - 0.80)	ND ^e
23	-0.16 $\pm$ 0.17	-0.51 $\pm$ 0.35	ND ^e	0.36 $\pm$ 0.41	ND ^e	ND ^e	0.78 (0.59 - 1.04)	ND ^e
23-F	-0.3 $\pm$ 0.46	0.19 $\pm$ 0.56	ND ^e	-0.49 $\pm$ 0.60	ND ^e	ND ^e	1.40 (0.93 - 2.13)	ND ^e
D-17	-0.14 $\pm$ 0.10	0.81 $\pm$ 0.60	ND ^e	-0.96 $\pm$ 0.56	ND ^e	ND ^e	1.94 (1.31 - 2.87)	ND ^e
D-18	-0.39 $\pm$ 0.43	-0.45 $\pm$ 0.60	ND ^e	0.06 $\pm$ 0.29	ND ^e	ND ^e	0.96 (0.78 - 1.17)	ND ^e
L-17	-0.05 $\pm$ 0.16	0.49 $\pm$ 0.77	ND ^e	-0.55 $\pm$ 0.75	ND ^e	ND ^e	1.46 (0.87 - 2.47)	ND ^e
L-18	-0.06 $\pm$ 0.24	0.10 $\pm$ 0.44	ND ^e	-0.16 $\pm$ 0.56	ND ^e	ND ^e	1.12 (0.76 - 1.64)	ND ^e

^a 平均対照 Ct 値 (データポイント n=18) から平均 Ct 値 (データポイント n=6) を減算することによって得られた値

^b 示したパラメータから平均 ΔCt を減算することによって得られた値

^c 式 2 - $\Delta \Delta Ct$ によって与えられるような対照に対して正規化した COXII DNA レベル、範囲は、 $\Delta \Delta Ct + SD$ と $\Delta \Delta Ct - SD$ の間である。

^d 対照からの有意な差; 両端分布二サンプル不等分散 T-試験 (two-tailed distribution two-sample unequal variance T-test) からの p 値; 0.005 で有効

^e ND = 未判定

与えた値は、二倍増幅した 3 つの異なる細胞集団の平均である。二倍サンプルの標準偏差 (SD) は、狭い (ΔCt 値範囲 0.01 ~ 0.3、示していない) が、異なる細胞集団の結果と併せると、SD は増大した (ΔCt 値範囲 0.10 ~ 0.98)。

【0427】

D-ddC および (+)-BCH-189 について、COXII DNA の有意な低下 (それぞれ、 ΔCt 2.27 および 2.16) が観察されたが、いずれの試験化合物についても COXII DNA の有意な増加は観察されなかった。rRNA 試験において、対照と比べ、試験化合物の ΔCt 値に有意な違いは観察されなかった。 β -アクトチン試験では

10

20

30

40

50

、D-ddC処理培養物における少量ではあるが有意な増加($\Delta Ct = 0.62$)が注目されたが、この増加は、PCRプライマー効果による可能性が最も高い。

【0428】

正規化、および未処理の対照に対して正規化した後、D-ddCおよび(+)-BCH-189は、COXII DNAの総量を、 $2\Delta\Delta Ct$ より大きく、有意に低下させたが、8つの新規試験化合物は、いずれも、いかなる有意なCOXII DNAの低下も示さなかった。

【0429】

この系列のヌクレオシド類似体に関して、次のような一般的結論を出すことができる：(i) β -L-エナンチオマーは、対応する β -D-エナンチオマーより効力がある；(ii) 化合物は、3TC耐性HIV-1に対してあまり効力がなく、これは、3TC選択184ウイルス株との交差耐性を示している；(iii) D-D4FGの抗ウイルス活性は、3'位にフッ素部分を導入することにより、非常に低下する；(iv) 5-フルオロシトシンの修飾によって活性は改善されず、毒性パターンを有意には変化させなかった(すべての化合物について、 $IC_{50} > 87 \mu M$)；および(v) 一段階Q-R-T-PCRアッセイは、内在性RTアッセイに匹敵する結果をもたらすので、放射性の実験の必要がない。この研究は、酸素の代わりに4'-チオを有するシトシンヌクレオシド類似体(特に、化合物L-17およびL-18)の糖環の修飾によって、3TC耐性ウイルスに対する効力が低下した化合物を生じることも示している。

【実施例70】

【0430】

アデノシンデアミナーゼ(ADA)の反応速度の研究

アデノシン類似体D-27の代謝安定性を理解するために、アデノシンデアミナーゼ(ADA)結合効率および脱アミノ化の反応速度の研究を行った(Marquez, V. E. ; Tseng, C. K. -H. ; Mitsuya, H. ; Aoki, S. ; Kelley, J. A. ; Ford, H. Jr. ; Roth, J. S. ; Broder, S. ; Johns, D. G. ; Driscoll, J. S., 「HIVに対する活性薬剤としての酸安定性2'-フルオロプリンジデオキシヌクレオシド(Acid-stable 2'-fluoropurine dideoxynucleosides as active agents against HIV)」, J. Med. Chem. 1990, 33, 978-985)。アッセイは、 $15 \mu M$ から $100 \mu M$ の範囲の基質濃度および0.15ユニットのアデノシンデアミナーゼ(ウシ腸粘膜からのEC_{3.5.4.4})を有するリン酸緩衝溶液(pH 7.4)中、 $25^\circ C$ で行った。そのアッセイを、UV分光計を用い、 $265 nm$ でモニターした。最初に、120分間、0.24単位のアデノシンデアミナーゼの存在下、D- β -2'-F-4'-S-d4A₂₄($200 \mu M$)でアッセイを行って、それがこの酵素の基質であるかどうかを判定した。ある時間(t)における各基質の濃度(c_t)は、吸収の全変化($A_0 - A_\infty$)が、その基質の消失に直接関係すると仮定して、その時間(t)における吸収(A_t)から計算した³⁵。各基質の反応についての濃度対時間のデータを図の曲線にフィッティングすることによって、各基質濃度についての初期加水分解速度を、手作業で測定した。これらの初期速度のラインウィーバー・バークプロットから、各基質についての V_{max} (最大速度)および K_M (ミカエリス定数)を得、緩衝溶液2 mL中、0.15単位の酵素(M.W. 33,000)で k_{cat} も計算した。0.15単位の酵素を用い、 $20 \mu M$ で、D- β -2'-F-4'-S-d4A₂₄およびアデノシンの $t_{1/2}$ も測定した。

【0431】

表5に示すように、アデニン誘導体D-27は、哺乳動物のアデノシンデアミナーゼ(ウシ腸粘膜からのもの、EC_{3.5.4.4})に対して緊密に結合する($K_M = 18.3 \mu M$)ことがわかったが、代謝回転数($k_{cat} = 0.94 s^{-1}$)は、非常に低く、これは、アデニン誘導体D-27がADAに強く結合することができたとしても、対応するイノシン誘導体に対する結合がADAによって触媒されることはほとんどないことを示し

10

20

30

40

50

ている。ADAの他の基質と比較して、 β -D-2'-F-4'-Sd4A-D-27は、 K_m 値および k_{cat} 値が非常に低く、触媒効率 (k_{cat}/K_m) は、 β -FddAのものと同じように低い (Ford, H. Jr.; Dai, F.; Mu, L.; Siddiqui, M. A.; Nicklaus, M. C.; Anderson, L.; Marquez, V. E.; Barchi, J. J. Jr., 「アデノシンデアミナーゼは、結合と触媒作用のために別々の糖環配座を好む：反応速度および構造の研究 (Adenosine deaminase prefers a distinct sugar ring conformation for binding and catalysis: Kinetic and structural studies)」, Biochemistry, 2000, 39, 2581-2592)。アデノシンデアミナーゼは、プリン異化経路の主要な非活性化酵素の一つであるので、治療の観点から、アデノシン類似体D-27のこの代謝安定性は、重要な意味を持つ (Kredich, N. J.; Herschfeld, M. S., In The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease; Scriver, C. R.; Beaudet, A. L.; Sly, W. S.; Valle, D., Eds.; McGraw-Hill: New York, 1989; pp 1045-1075)。

10

【0432】

【表10】

表5. ADAの基質としてのアデノシン類似体についての反応速度定数

化合物	K_M (μM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_M ($\mu M^{-1}s^{-1}$)	$t_{1/2}$ (分)
D-2'-F-4'-Sd4A (D-27)	18.3	0.94	0.05	33
D-2'-F-d4A ²⁸	23.0	NA ^b	NA ^b	42
アデノシン	24.5	76.4	3.1	0.5

^a 反応速度データは、25℃で分光光度法によって得、その後、265nmでの吸収が低下した。
^b なし

20

30

【実施例71】

【0433】

細胞毒性アッセイ

合成ヌクレオシド、シチジン (D-17)、5-フルオロシチジン (D-18)、アデノシン (D-27) および2-フルオロアデノシン (D-33) の細胞毒性を、ヒトPBM、CEMおよびペロ細胞において評価した。2-フルオロアデノシン類似体 (D-33) は、抗ウイルス能ならびに高い細胞毒性 (PBM、CEMおよびペロ細胞に関して、それぞれ、 IC_{50} 1.5、1.1および7.6 μM) を示したのに対し、他の化合物は、100 μM 以下の細胞毒性を示さなかった。

40

【0434】

CEM細胞 (American Type Culture Collection, Rockville, MDから入手したT-リンパ芽球用細胞系統) およびペロ細胞 (フリカミドリザルの腎臓) において、化合物を、未感染PHA刺激ヒトPBM細胞に対するそれらの潜在的毒性効果について評価した。PBM細胞は、健康な血清陰性のドナー (HIV-1およびB型肝炎ウイルス) の全血から、一段階フィコール・ハイパーク不連続勾配遠心法によって得た。log期のペロ、CEMおよびPHA刺激ヒトPBM細胞を、それぞれ細胞数 5×10^3 、 2.5×10^3 および 5×10^4 /ウエルの密度で播種した。これらの細胞のすべてを、10倍系列希釈の試験薬を収容した96ウェル細胞培養プレートにプレーティングした。それらの培養物を、37℃、加湿5%CO₂-空気の中で、ベ

50

ロ、CEMおよびPBM細胞について、それぞれ、3, 4および5日間インキュベートした。インキュベーションが終了した時点で、MTTテトラゾリウム染料溶液 (Cell titer 96 (登録商標), Promega, Madison, WI) を各ウェルに添加し、一晚インキュベートした。停止可溶化溶液 (Promega, Madison, WI) で反応を停止させた。それらのプレートを5時間インキュベートして、確実にホルマザン結晶を溶解した。ELISAプレートリーダー (Bio-tek instruments, Inc., Winooski, VT, Model #EL 312e) を用い、波長570nmでプレートを読みとった。50%効果法を用い、濃度-反応曲線から、50%阻害濃度 (IC₅₀) を判定した。エラー!ブックマークの定義なし。

【実施例72】

10

【0435】

PBM細胞におけるHIVアッセイ

ヒト末梢血単核 (PBM) 細胞中において、HIV-1に対する合成した化合物の抗ウイルス活性を評価した。それらの中で、シチジン (D-17)、5-フルオロシチジン (D-18)、アデノシン (D-27) および2-フルオロアデノシン (D-33) は、並〜強の抗ウイルス活性 (それぞれ、EC₅₀ 1.3, 11.6, 8.1および1.2 μM) を示した。同様に、合成したピリミジン (L-17~L-20) およびプリン (L-27, L-28, L-32およびL-33) ヌクレオシドを評価した。

【0436】

健康な血清陰性のドナーからのヒト末梢血単核 (PBM) 細胞 (Atlanta Red Crossから入手したもの) をフィコール・ハイパーク不連続勾配遠心法によって分離した。使用前2日から3日間、細胞をフィットヘマグルチニンA (Difco, Sparks, MD) で刺激した。疫病管理予防センター (the Centers for Disease Control and Prevention) (Atlanta, GA) から入手したHIV-1_{LAI}を、この抗ウイルスアッセイの基準ウイルスとして用いた。分子感染性クローンHIV-1_{xxBr}およびHIV-1_{M184Vpitt}は、Dr. Hohn Mellors (ピッツバーグ大学) から入手した。フラスコ (T25) アッセイには細胞数1x10⁷ (T25) あたり100のTCID₅₀で、または24ウェルプレートアッセイには細胞数6x10⁵ /ウェルあたり200のTCID₅₀で、1時間、大量感染を行った。10倍系列希釈の試験化合物を収容したプレートまたはフラスコに細胞を添加した。アッセイ培地は、加熱不活性化16%ウシ胎仔血清、1.6 mMのL-グルタミン、80 IU/mLのペニシリン、80 μg/mLのストレプトマイシン、0.0008%のDEAE-デキストラン、0.045%の重炭酸ナトリウムおよび26 IU/mLの組換えインターロイキン-2 (Chiron Corp, Emeryville, CA) を補充したRPMI-1640であった。このアッセイのための正の対照として、AZTを用いた。対照として、未処理、未感染PBM細胞を、並列式で、等量の細胞濃度で増殖させた。細胞培養物を加湿5%CO₂-空気中、37℃で5日間保持し、逆転写酵素 (RT) 活性用に上清を回収した。

20

30

【0437】

上清を12,000 rpmで2時間遠心分離して、ウイルスをペレット化した。そのペレットを、0.5%のTriton X-100、0.8 MのNaCl、0.5 mMのフッ化フェニルメチルスルホニル、20%のグリセロールおよび0.05 MのTris (pH 8) を含有する100 μLのウイルス可溶化バッファ (VSB) に渦攪拌で可溶化した。10 μLの各サンプルを75 μLのRT反応混合物 (0.06 MのTris (pH 7.8)、0.012 MのMgCl₂、0.006 Mのジチオトレイトール、0.006 mg/mLのポリ (rA)_nオリゴ (dT)₁₂₋₁₈、96 μg/mLのdATPおよび0.08 mCi/mLの³H-チミジン三リン酸1 μM (Moravsek Biochemicals, Brea, CA)) に添加し、37℃で2時間インキュベートした。ピロリン酸ナトリウム0.05%を含有する10%トリクロロ酢酸100 mLの添加によって反応を停止させた。Packard Harvester (Meriden, CT) を用いて

40

50

、酸不溶性産物を濾紙上に回収し、Packard Direct Beta Counter (Meriden, CT) でそのRT活性を読みとった。RTの結果は、ミリリットルあたりのカウント毎分 (CPM) で表した。50%効果法 (Belen'kii, S. M.; Schinazi R. S., 「信頼区間を伴う複式薬物効果分析 (Multiple drug effect analysis with confidence interval)」, Antiviral Res. 1994, 25, 1-11) を用い、濃度-反応曲線から、抗ウイルス50%有効濃度 (EC_{50}) および90%有効濃度 (EC_{90}) を判定した。

【0438】

合成したピリミジン (D-17 から D-20) およびプリン (D-27、D-28、D-32 および D-33) ヌクレオシドを、ヒトPBM細胞においてインビトロでHIV-1 10
に対して評価し、AZTを正の対照として含めた。試験したヌクレオシドの中で、二つのピリミジンヌクレオシド、シチジンD-17 (EC_{50} 1.3 μ M) および5-フルオロシチジンD-18 (EC_{50} 11.6 μ M) および合成したすべてのプリンヌクレオシド、アデノシンD-27 (EC_{50} 8.1 μ M)、イノシンD-28 (EC_{50} 43.6 μ M)、グアノシンD-32 (EC_{50} 80.5 μ M) および2-フルオロアデノシンD-33 (EC_{50} 1.2 μ M) が、並~強のウイルス活性を示した。2-フルオロアデノシン類似体D-33は、抗ウイルス能ならびに高い細胞毒性 (PBM、CEM およびペロ細胞に関して、それぞれ、 IC_{50} 1.5、1.1 および7.6 μ M) を有したのに対し、100 μ M以下の細胞毒性を示した他の化合物はなかった。 β -D-2'-F d 4 Nヌクレオシド^{11(b)}と比較して、この系列を通して、シチジン、5-フルオロシチシンおよびアデノシン類似体は、最も効力があり、ほぼすべてのプリンヌクレオシドは、並~強の活性を示すという、抗ウイルス活性の一般的傾向があった。しかし、 β -D-2'-F d 4 Nヌクレオシド^{11(b)}は、それらの4'-チオ同族体より一貫して効力があり、これは、二つのタイプのヌクレオシドが類似の構造的特徴を有しうり、キナーゼレベルでは同じように認識することができるが、それらがウイルスポリメラーゼ (HIV-1 逆転写酵素) と相互作用する方法は、多少異なるに違いないことを示唆している (分子モデリングの研究については、下記参照)。結果を表6に要約する。

【0439】

【表11】

表6. D-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの抗HIV活性および細胞毒性

化合物	活性 (EC_{50} , μ M)	細胞毒性 (IC_{50} , μ M)			
	HIV-1	PBM	CEM	ペロ	
D-17	1.3	>100	>100	>100	
D-18	11.6	>100	>100	>100	
D-19	92.3	>100	>100	53.0	
D-20	>100	>100	>100	>100	
D-27	8.1	>100	>100	>100	
D-28	43.6	>100	>100	>100	
D-32	80.5	>100	>100	>100	

30

40

化合物	活性 (EC ₅₀ , μM)	細胞毒性 (IC ₅₀ , μM)		
	HIV-1	PBM	CEM	穴口
D-33	1.2	1.5	1.1	7.6
AZT	0.004	>100	14.3	28.0

【0440】

10

同様に、合成したピリミジン (L-17 から L-20) およびプリン (L-27、L-28、L-32 および L-33) ヌクレオシドをインビトロでのそれらの抗 HIV 活性および細胞毒性について評価した。結果を表 7 に要約する。これらのヌクレオシドの中で、二つのピリミジンヌクレオシド、シチジン L-17 (EC₅₀ 0.12 μM) および 5-フルオロシチジン L-18 (EC₅₀ 0.15 μM) は、最も効力がある抗 HIV-1 活性を示し、プリンヌクレオシド、アデノシン L-27 (EC₅₀ 1.7 μM)、イノシン L-28 (EC₅₀ 15.5 μM)、グアノシン L-32 (EC₅₀ 43.5 μM) および 2-フロオロアデノシン L-33 (EC₅₀ 11.5 μM) も中程度の抗ウイルス活性を示したのに対し、2-フルオロアデノシン L-33 では有意な細胞毒性が観察された (PBM、CEM および Vero 細胞について、それぞれ、IC₅₀ 13.3、10.4 および 66.1)。しかし、合成した他のすべてのヌクレオシドは、有意な細胞毒性を示さなかった。酸素原子 (β-L-2'-F-d4N) を硫黄原子 (β-L-2'-F-4'-S-d4N) に置換したにもかかわらず、抗 HIV 活性は、一般に、維持された。

20

【0441】

【表 12】

表 7. L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの活性

化合物	抗-HIV-1			
	活性	細胞毒性 (IC ₅₀ , μM)		
	(EC ₅₀ , μM)	PBM	PBM	CEM Vero
L-17	0.12	>100	>100	>100
L-18	0.15	>100	>100	>100
L-19	>100	>100	>100	>100
L-20	>100	>100	>100	>100
L-27	1.7	>100	>100	>100
L-28	15.5	>100	>100	>100
L-32	11.5	13.0	10.4	66.1
L-33	43.5	>100	41.5	66.4
AZT	0.004	>100	29.0	14.3

30

40

50

【実施例 73】

【0442】

ラミブジン耐性 (HIV-1_{M184V}) 突然変異株に対する抗ウイルス活性
 ラミブジン (3TC、(−)-β-2', 3'-ジデオキシ-3'-チアシチジン) は、
 多剤併用療法 (highly active antiretroviral therapy, HAART) の重要な構成要素であり、HIV-1 感染のための併用療法の際、最
 も一般的に用いられている (Carpenter, C. C. J. ; Fischl, M. A
 . ; Hammer, S. M. ; Hirsch, M. S. ; Jacobsen, D. M. ;
 Katzenstein, D. A. ; Montaner, J. S. G. ; Richman
 , D. D. ; Saag, M. S. ; Schooley, R. T. ; Thompson, M 10
 . A. ; Vella, S. ; Yeni, P. G. ; Volberding, P. A. , A
 ntiretroviral therapy for HIV infection
 in 1998: updated recommendations of the I
 nternational AIDS Society-USA Panel . JAM
 A, 1998, 280, 78-86)。3TC 単独療法の結果、3TC 耐性ウイルス変種
 の淘汰が生じ、それによって、血漿ウイルス量は、すぐにもとに戻る (Kavlick,
 M. F. ; Shirasaka, T. ; Kojima, E. ; Pluda, J. M. ; H
 iu, F. ; Yarchoan, R. ; Mitsuya, H. , 「(−)-2', 3'-
 ジデオキシ-3'-チアシチジンの投与を受けた患者から単離した HIV-1 の遺伝子型
 および表現型の特性付け (Genotypic and phenotypic cha 20
 racterization of HIV-1 isolated from pat
 ients receiving (−)-2', 3'-dideoxy-3'-thi
 acytidine)」, Antivir. Res. 1995, 28, 133-146)
 。HIV-1 RT の触媒ドメインの残基 184 (M184V) での単一の突然変異によ
 って高レベルの 3TC 耐性が生じ、それに起因して、3TC の 50% 阻害濃度が少なくと
 も 1000 倍増加する (Schinazi, R. F. ; Lloyd, Jr. R. M. ; N
 guyen, M. -H. ; Cannon, D. L. ; McMillan, A. ; Ilks
 oy, N. ; Chu, C. K. ; Liotta, D. C. ; Bazmi, H. Z. ; Me
 llors, J. W. , 「オキソチオラン-シトシンスクレオシドに耐性のヒト免疫不全
 ウイルスの特性付け (Characterization of human immun 30
 odeficiency viruses resistant to oxthiol
 ane-cytosine nucleosides)」, Antimicrob. Age
 nts Chemother. 1993, 37, 875-881; Tisdale, M.
 ; Kemp, S. D. ; Parry, N. R. ; Larder, B. A. , 「逆転写酵素
 の YMDD 領域における突然変異に起因する 3'-チアシチジン阻害剤耐性ヒト免疫不全
 ウイルス 1 型のインビトロでの迅速な淘汰 (Rapid in vitro selec
 tion of human immunodeficiency virus typ
 e 1 resistant to 3'-thiacytidine inhibit
 ors due to a mutation in the YMDD region
 of reverse transcriptase)」, Proc. Natl. Ac 40
 ad. Sci. USA 1993, 90, 5653-5656)。それが原因となって、
 抗 AIDS 併用療法は失敗する。それ故、M184V 突然変異体 HIV-1 RT 対し
 て活性な新薬候補を発見する必要に迫られている。シトシン (D-17) および 5-フル
 オロシトシン類似体 (D-18) を、二つの正の対照、AZT および 3TC と共に、ヒト
 PBM 細胞においてインビトロでラミブジン耐性突然変異株に対して評価した (表 8)。
 L-エナンチオマー、すなわち、シトシン類似体 (L-17) の抗ウイルス活性も、β-
 D-2' F-d4FC (Lee, K. ; Choi, Y. ; Guma, G. ; Zhou
 , W. ; Schinazi, R. F. ; Chu, C. K. , 「抗 HIV-1 薬としての 2
 ' -フルオロ-2', 3' -不飽和 D-スクレオシドの構造と活性の関係 (Struct
 ure-activity relationships of 2' -fluoro- 50

2', 3'-unsaturated D-nucleosides as anti-HIV-1 agents)」、J. Med. Chem. 2002, 45, 1313-1320)、 β -D-2'-F-4'-S-d4c (Chong, Y.; Choo, H.; Choi, Y.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K., 「D-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの立体選択的合成および抗ウイルス活性 (Stereoselective synthesis and antiviral activities of D-2', 3'-dideohydro-2', 3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides)」、J. Med. Chem. Submitted for publication) および β -L-2'-F-d4C (Lee, K.; Choi, Y.; Gullen, E.; Schlueder-Wirtz, S.; Schinazi, R. F.; Cheng, Y.-C.; Chu, C. K., 「2'-フルオロ-2', 3'-不飽和 L-ヌクレオシドの合成ならびに抗 HIV および抗 HBV 活性 (Synthesis and anti-HIV and anti-HBV activities of 2'-fluoro-2', 3'-unsaturated L-nucleosides)」、J. Med. Chem. 1999, 42, 1320-1328) などの他の 2', 3'-不飽和ヌクレオシドとともに評価した (表 8)。

【0443】

【表 13】

表8. ヒトPBM細胞におけるラミブジン耐性ウイルス(HIV-1M184V)に対する選択ヌクレオシドの活性

化合物	xxBRU	M184V	FI ^a
	(EC ₉₀ , μ M)	(EC ₉₀ , μ M)	
D-17	5.0	≈ 125	25
L-17	1.4	>100	>100
β-D-2'-F-d4FC^b	9.9	34.7	3.5
AZT	0.01	0.003	0.3

化合物	xxBRU	M184V	FI ^a
	(EC ₉₀ , μ M)	(EC ₉₀ , μ M)	
3TC	0.08	535	6,688

^aFIは、倍増加(EC₉₀ HIV-1_{M184V}/EC₉₀ HIV-1_{xxBRU})である

^b参照11(b):Leeら.J. Med. Chem. 2002, 45, 1313-1320

【実施例 74】

【0444】

分子モデリング

配座解析: D- β -2'-F-d4C および D- β -2'-F-4'-S-d4C (D-17) の初期配座を、Spartan 5.1.1 (Wavefunctions, Inc., Irvine, CA) のビルダーモジュールによって構築し、計算は、すべて、Silicon Graphics O2ワークステーションを用いて行った。初期配座をクリーンアップし、Spartan 5.1.1において、RHF/3-21G* 基底関数を用い、量子力学的アブイニシオ計算により構造最適化を行った。

【0445】

H I V-1 逆転写酵素に対する結合親和性の研究：酵素-基質複合体のすべての分子モデリングは、Silicon Graphics Octane 2 ワークステーションの Sybyl 6.7 (Tripos Associates, St. Louis, MO) を用いて行った。酵素-配位子複合体の酵素部位は、H I V-1 R T と T T P の共有結合性触媒複合体およびプライマー-テンプレート二重鎖の X 線構造 (PDB 登録 1 r t d)^{2 9} を基に構築した。p 6 6 サブユニットにおける L y s 1 と P r o 2 4 3 の間の残基および 7 : 4 (テンプレート-プライマー) 二重鎖から成る N R T I 結合部位のモデルを構築した。構造最適化の研究によって得られた各阻害剤の構造最適化構造を初期デカルト座標として用いた。テンプレートのオーバーハングにおける $n+1^{th}$ ヌクレオシドの複素環部分を修飾して、入ってくる N R T I に相補的な塩基にした。このように、もとの X 線構造 (1 r t d)^{2 9} の中のアデニン部分を修飾して、グアニンにした。前記 X 線構造^{2 9} において見出されたものに対するねじれ角を調整することによって、阻害剤の三リン酸塩を、酵素の活性部位に手作業でドッキングさせた。活性部位の二つの Mg 原子に対して形式電荷 (+2) を有する酵素-配位子複合体に、Gasteiger-Huckel 電荷を与えた。次に、Kollman-All-Atom 電荷を Sybyl の生体高分子モジュールから酵素部位にロードした。フッ素パラメータは、文献 (ウェブサイト: <http://www.amber.uscf.edu/amber/Questions/fluorine.html>; Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A., [蛋白質、核酸および有機分子のシュミレーションのための第二世代の力場 (A 2nd generation force-field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic-molecules)], J. Am. Chem. Soc. 1995, 117, 5179-5197; Dunits, J. D.; Taylor, R., 「有機フッ素は、水素結合を決して受け入れない (Organic fluorine hardly ever accepts hydrogen bonds)」, Chem. Eur. J. 1997, 3, 89-98 参照) および MM2 パラメータから入手し、パラメータファイルに入力した。阻害剤および/または点突然変異の組合せによって生じる局所的な歪を無くすために、組み合わせた阻害剤と突然変異残基から 6 Å 内側の残基を、一つの反復から次の反復へのエネルギー変化が 0.05 kcal/mol 未満になるまで、アニーリングした。反復数が 5,000 に達するまで、Kollman-All-Atom Force Field を用いて、アニーリングした酵素-阻害剤複合体を最小化した。

【0446】

キナーゼに利用可能な結晶構造はないので、分子モデリングの研究は、ポリマーレベルに基づくものであった。Huang ら, 「H I V-1 逆転写酵素の、二重結合性触媒複合体の構造。薬物耐性のための意味 (Structure of a covalently trapped catalytic complex of H I V-1 reverse transcriptase: Implications for drug resistance)」, Science, 1998, 282, 1669-1675 をもとに、チミジン三リン酸および DNA 二重鎖と複合させた H I V-1 R T の結晶構造に従って、幾つかのヌクレオシド逆転写酵素阻害剤 (N R T I) の三リン酸塩の分子モデリングの研究を行った。β-D-2'-Fd 4 N およびその対応する 4'-チオ同族体の配座を比較した。シチジン類似体 (β-D-2'-Fd 4 N^{11(b)}) および β-D-2'-F-4'-Sd 4 N (D-17) に対して量子力学的計算 (RHF/3-21G*) を行い、それらの構造最適化構造を比較した (図 18-a)。二つの構造は、4' 位以外は重ね合わせ可能であった。長いほうの C-S 結合長により生じた 4'-チオ糖環内部の歪に起因して、C1'、C2'、C3' および C4' により形成された面のほうに 4'-硫黄原子が 0.5 Å 移動した。4'-硫黄原子の面外移動のもう一つの理由は、4'-

酸素とは異なり、4'-硫黄原子は、ゴーシュ効果がないため、5'-OHとの水素結合を形成できないことである。しかし、ヌクレオシドのN1およびC5'原子の極めて重要な配座は、良好な調和状態にあり、これは、これらの二つのタイプのヌクレオシドに対してキナーゼが同様の許容度を有することを意味しうる。一方、 β -D-2'-Fd4N¹₁^(b) および β -D-2'-F-4'-Sd4N (D-17) の三リン酸塩が、HIV-1 逆転写酵素の活性部位に結合すると、4'-硫黄原子での4'-酸素の等配電子置換は、前記ヌクレオシド三リン酸と活性部位残基（特に、Try115およびMet184）との間の相互作用に対して効果を発揮する（図18-bおよび18-c）。HIV-1 RTに結合した β -D-2'-Fd4N¹₁^(b) および β -D-2'-F-4'-Sd4N (D-17) のエネルギー最小構造は、ヌクレオシド阻害剤が、Arg72、Met184および3'-OHポケット残基（Asp113、Tyr115、Phe116およびGln151）によって形成された、よく規定された結合ポケットに位置することを示している（図18-b）（Lee, K.; Chu, C. K., 「抗ウイルス薬としてのL-ヌクレオシドの作用様式を理解するための分子モデリングアプローチ（Molecular modeling approach to understanding the mode of action of L-nucleosides as antiviral agents）」, Antimicrob. Agents Chemother. 2001, 45, 138-144）。Arg72の役割は、それが結合ポケットに移動すると、水素結合により三リン酸部分と結合したヌクレオチドならびにヌクレオシド三リン酸の複素環部分との非特異的疎水性相互作用を安定化するため、注目に値する（図18-b）。これらのd4-ヌクレオチドのさらに特徴的な結合様式は、ヌクレオチドのC2'-C3'フルオロビニル部分と近接Tyr115の芳香族環との間に可能な π - π 相互作用であり、これは、2', 3'-不飽和ヌクレオシドの高い抗ウイルス活性の一つの理由となりうる（図18-b）（Takagi, R.; Nakamura, M.; Hashizume, M.; Kojima, S.; Ohkata, K., 「キラル助剤としての(-)-8-フェニルメチル基によって誘導される3-アリール-2-ホスホノアクリレート

の立体選択的シクロプロピル化（Stereoselective cyclopropanation of 3-aryl-2-phosphonoacrylates induced by the (-)-8-phenylmethyl group as a chiral auxiliary）」, Tetrahedron Lett. 2001, 42, 5891-5895）。C'2位でのフッ素置換は、C2'-3'二重結合を電子プアーにするため、Tyr115の電子リッチな芳香族環との π - π 相互作用が増大する。 β -D-2'-Fd4Cおよび β -D-2'-F-4'-Sd4C (D-17) の結合様式は、ほぼ同じであるにもかかわらず、 β -D-2'-F-4'-Sd4Cの抗ウイルス活性低下は、 π - π 相互作用の低下によって説明することができる。硫黄による陰性酸素の置換によって、 β -D-2'-F-4'-Sd4C (D-17) における糖環内部の電荷が脱分極し、これによって、フルオロビニル部分とTyr115の芳香族環との間の π - π 相互作用が低下することとなる。その面外位置および大きなバンデルワールス半径のため、 β -D-2'-F-4'-Sd4N糖部分の4'-硫黄原子は、Met184に隣接している（図18-c）。その結果、嵩高い副鎖を持つVal184へのMet184の突然変異によって、 β -D-2'-F-4'-Sd4N糖部分の4'-硫黄原子とVal184の副鎖の間に有意な立体障害が生じる。これは、 β -D-2'-F-4'-Sd4C (D-17) および β -D-2'-F-4'-Sd4FC (D-18) に対するHIV-1_{M184V}の高い交差耐性の理由の一つであろう（表9、図18-c）。

【0447】

β -D-2'-FD4ヌクレオシドの4'-酸素の4'-硫黄での等配電子置換によって、HIV-1 RTの活性部位に対する β -D-2'-F-4'-Sd4の結合様式に実質的な変化が生じ、その結果、インビトロでの抗HIV-1活性が低下する。ラミブジン耐性突然変異株（HIV-1_{M184V}）は、 β -D-2'-F-4'-Sd4ヌクレオ

シドに対して有意な交差耐性を示した。これは、より大きなバンデルワールス半径ならびに4'-硫黄原子のMet 184への極めて近接した状態によって説明することができる。

【0448】

同様に、分子モデリングの研究を、代表的なL-シチジン類似体 (β -L-2'-F-d4Cおよび β -L-2'-F-4'-S-d4C L-17) に対して行った。さらに、これら二つの構造最適化構造は、4'-酸素および4'-硫黄の位置を除き、互いに、正確に重ね合わせられた。硫黄原子のほうが酸素原子より長いバンデルワールス半径を有するので、二つのシチジン類似体を重ね合わせた時、4'-硫黄は、4'-酸素のわずかに外側に位置した。しかし、ヌクレオシドキナーゼに結合するための重要な要因と考えられている複素環塩基と5'-ヒドロキシ基の間の距離は、図19-aに示されているように、これらの二種では類似している (Wang, P.; Hong, J. H.; Cooperwood, J. S.; Chu, C, K, 「L-ヌクレオシドの最近の進歩：化学および生物学 (Recent advances in L-nucleosides: chemistry and biology)」, Antiviral Rs. 1998, 40, 19-44; Herdewijin, P., 「ヌクレオシドにおける抗ウイルス活性のための構造要件 (Structural requirements for antiviral activity in nucleosides)」, Drug Discov. Today, 1997, 2, 235-242)。 β -L-2'-F-4'-S-d4C L-17および β -L-2'-F-d4Cは、両方とも、デオキシシチジンキナーゼなどのヌクレオシドキナーゼの基質となる可能性を秘めている。最初のリン酸化段階が律速段階と考えられるので、合成ヌクレオシドの最初のリン酸化後、それらの三リン酸塩は、ヌクレオチドキナーゼによって容易に合成することができた (Gaubert, G.; Gosselin, G.; Boudou, V.; Imbach, J.-L.; Eriksson, S.; Maury, G., 「2'-デオキシアデノシン、2'-デオキシグアノシンおよびそれらの類似体に対するヒトデオキシシチジンキナーゼおよびヒトデオキシグアノシンキナーゼの低いエナンチオ選択性 (Low enantioselectivities of human deoxycytidine kinase and human deoxyguanosine kinase with respect to 2'-deoxyadenosine, 2'-deoxyguanosine and their analogs)」, Biochimie, 1999, 81, 1041-1047)。構造最適化 β -L-2'-F-4'-S-d4C L-17および β -L-2'-F-d4C、 β -L-2'-F-4'-S-d4CTPおよび β -L-2'-F-d4CTPの三リン酸塩を、HIV-1 RTの欠失触媒部位 (p66サブユニットのLys1~Pro243) に手作業でドッキングさせ、Kollman-All-Atom力場を用いて、それらの複合体のエネルギーを最小化した (Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A., 「蛋白質および核酸をシミュレーションするための全原子力場 (An all atom force field for simulations for proteins and nucleic acids)」, J. Comput. Chem. 1986, 7, 230-252)。両方の最小化構造は、 β -L-2'-F-4'-S-d4C L-17および β -L-2'-F-d4Cの三リン酸塩が、HIV-1 RTの活性部位に緊密に結合していることを示していた (図19-cおよび19-d)。図19-aに示したような構造的類似に加え、HIV-1 RTに対するそれらの結合様式も幾つかの面で類似していた。HIV-1 RTの活性部位におけるArg72は、 β -L-2'-F-4'-S-d4C L-17および β -L-2'-F-d4Cの三リン酸塩の結合に重要な役割を果たしている：Arg72のグアニニウム部分が前記活性部位に近づいて、 β -L-2'-F-4'-S-d4CTPおよび β -L-2'-F-d4CTPの三リン酸塩との多重水素結合を確立し、その結果、ヌクレオシド三リン酸は、安定化することとなる。3'-OHポケット残基の一部 (Asp113およびAla114) である主鎖アミドも、水素結合相互作用によって三リン酸塩を

10

20

30

40

50

安定させる。 β -L-2' F-4' S-d 4 C L-17の4'-硫黄原子は、 β -L-2' F-d 4の4'-酸素と比較して、Arg 72に近いにもかかわらず、4'-硫黄原子とArg 72のグアニジニウム部分との間には不安定にする立体障害がなく、これが、活性部位での β -L-2' F-4' S-d 4 C L-17の安定な配向を可能ならしめていた(図19-b)。配座解析およびモデリングの研究からの結合親和性は、 β -L-2' F-4' S-d 4 C L-17および β -L-2' F-d 4 Cが類似した構造を有すること、硫黄原子の置換は、ポリメラーゼレベルでは充分許容されることを示しており、これらのことによって、野生型ウイルスRTにおけるそれらの類似した抗ウイルス能を説明することができる。しかし、Val 184の分枝メチル基は、L-2' F-2', 3'-不飽和ヌクレオシドの糖部分が突起している空間を占有する傾向があるので、HIV-1 RTにおけるM184V突然変異に起因して、活性部位でのL形ヌクレオシド三リン酸の配置に一連の問題が生じる。生じた立体障害は、L-2' F-2', 3'-不飽和ヌクレオシド三リン酸/RT複合体を不安定にした(図19-e)。このことは、L-ヌクレオシドの非常に低下した相対的な結合エネルギーによって確認することができる(表9)。一方、D形糖部分は、反対側に位置したため、 β -D-2' F-d 4 C TP/RT複合体の構造は、Val 184とヌクレオシド三リン酸の糖部分との間のいかなる有意な立体化学的なクラッシュも示さない(図19-f)。従って、3TC耐性突然変異体に対する β -D-2' F-d 4 Cの抗ウイルスデータによって、3TC耐性株に対する抗ウイルス活性の保持が予測される。その5-フルオロ類似体、 β -D-2' F-d 4 FCの効力ある抗HIV-1_{M184V}活性は、この考えを支持している。これに関連して、M184V RTが天然D形 β -D-2' F-4' S-d 4 Cに対して交差耐性であることは、興味深い^{2,4}。分子モデリングの研究は、4'-硫黄の、より長いバンデルワールス半径およびより長C-S結合長が、4'-硫黄原子をVal 184の充分近くに配置させ、その結果、立体障害が生じ、それによって、相対的な結合親和性および抗ウイルス能が低下することを示した。

【0449】

ピリミジン類似体、 β -L-2' F-4' S-d 4 C L-17および β -L-2' F-4' S-d 4-5 FC L-18は、HIV-1に対して効力ある抗ウイルス活性を示した。しかし、シチジン類似体、 β -L-2' F-4' S-d 4 C L-17は、3TC耐性突然変異体RTに対していかなる有意な抗ウイルス活性も示さなかった。分子モデリングの研究をもとに、 β -L-2' F-4' S-d 4 Nおよび β -L-2' F-d 4 Nの類似した抗HIV-1活性パターンは、それらの配座および構造の類似性によって説明することができる。糖部分の不自然なL配座は、3TC耐性RTにおけるVal 184の副鎖と立体障害を生じ、それが、RT-ヌクレオシド類似体複合体を不安定にすることがわかった。

【0450】

【表14】

表9. 相対結合エネルギー差 (ΔE_{rel}) と倍増加 (FI) の相関関係

化合物	WT (xxBRU)		M184V		FI ^b	ΔE_{rel}^c (kcal/mol)
	活性	E_{rel}^a	活性	E_{rel}^a		
	(EC ₉₀ , μ M)	(kcal/mol)	(EC ₉₀ , μ M)	(kcal/mol)		
β -L-2'F-4'S-d4C (L-17)	1.4	86.0	>100	-21.5	>100	107.5
β -L-2'F-d4C	2.1	36.8	>100	-70.0	>100	106.8
β -D-2'F-4'S-d4C ^d (D-17)	5.0	82.6	125	-14.8	25	97.4
β -D-2'F-d4C	-- ^e	44.3	-- ^e	-6.5	-- ^e	50.8
β -D-2'F-d4FC ^f	3.1 ^g	-- ^h	9.6 ^g	-- ^h	3 ^g	-- ^h

^a 相対結合エネルギー (E_{rel}) = ヌクレオシド 三リン酸の結合エネルギー - dCTPの結合エネルギー、

^b $EC_{90} \text{ HIV-1}_{M184V} / EC_{90} \text{ HIV-1}_{xxBRU}$,

^c 相対結合エネルギー差 (ΔE_{rel}) = $E_{rel}(WT) - E_{rel}(M184V)$,

^d 24 参照、

^e 利用不能、

^f 23 参照

^g $EC_{50} (\mu M)$, での抗HIV 活性または 倍増加、

^h 測定不能

10

20

【0451】

本発明を、本発明の好ましい実施形態を参照しながら説明した。本発明の変型および変更は、上述した本発明の詳細な説明から、当業者には明らかであろう。これらの変型および変更は、本発明の範囲に包含され则认为する。

【図面の簡単な説明】

【0452】

【図1】本発明による、D-グリセルアルデヒドからの β -3'-フルオロ-2', 3'-不飽和 D-シトシンの合成の非限定的な具体例である。

30

【図2A】本発明による、L-ラクトースからの β -3'-フルオロ不飽和 L-ヌクレオシド、詳細には、 β -3'-フルオロ不飽和 L-シトシン (2a) および β -3'-フルオロ不飽和 L-チミジン (2b) の合成の二つの非限定的な具体例である。

【図2B】本発明による、L-ラクトースからの β -3'-フルオロ不飽和 L-ヌクレオシド、詳細には、 β -3'-フルオロ不飽和 L-シトシン (2a) および β -3'-フルオロ不飽和 L-チミジン (2b) の合成の二つの非限定的な具体例である。

【図3A】本発明による、ピリミジン (3a) およびプリン (3b) β -D-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図3B】本発明による、ピリミジン (3a) およびプリン (3b) β -D-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

40

【図4A】本発明による、ピリミジン (4a) およびプリン (4b) β -L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図4B】本発明による、ピリミジン (4a) およびプリン (4b) β -L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図5】本発明による、それぞれ L-および D-グルタミン酸からの、 β -D-および β -L-2', 3'-ジデヒドロ-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオ

50

ヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 6】本発明による、2-デオキシ-4-チオ糖の合成の非限定的な具体例である。

【図 7】本発明による、3-デオキシ-4-チオ糖の合成の非限定的な具体例である。

【図 8】本発明による、 β -D-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 9】本発明による、 β -L-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 10】本発明による、 β -D-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 11】本発明による、 β -L-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。 10

【図 12】本発明による、 β -D-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 13】本発明による、 β -L-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 14】本発明による、 β -D-2', 3'-ジデオキシ-2'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 15】本発明による、 β -L-2', 3'-ジデオキシ-3'-フルオロ-4'-チオヌクレオシドの合成の非限定的な具体例である。

【図 16】試験化合物の抗 HIV-1 活性についての用量-反応曲線の例である。パネル A: AZT; パネル B: 3TC; パネル C: 化合物 L-17; パネル D: 化合物 23。 (◆) RT アッセイ $\times \times$ BRU; (■) Q-RT-PCR $\times \times$ BRU; (▲) RT アッセイ $\times \times$ BRU-184V; (X): Q-RT-PCR $\times \times$ BRU-184V。CPM/mL: カウント毎分/mL。 20

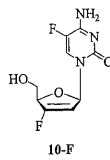
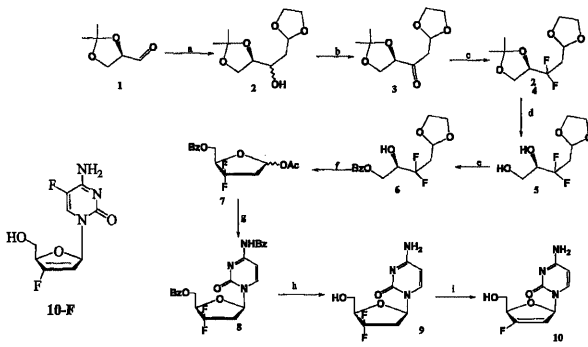
【図 17】HepAD38 細胞への HBV の導入の経時的推移の非限定的な具体例である。(■) 未処理細胞からの、培地中の HBV DNA レベル; (◆) 3TC (10 μ M) で処理した細胞からの、培地中の HBV DNA レベル。ウイルス量の違いは、(培地からテトラサイクリン除去後) 二日目の時点からの変化として表されている。点線は、同じ日における二つのサンプリングポイントを表している。

【図 18】 β -D-2'-ハロヌクレオシドについての分子モデリングの非限定的な例である。(a) D-2'-F-4'-Sd4C (17) と D-2'-Fd4C とを重ね合わせ、構造を最適化した構造; (b) HIV-1 RT の活性部位に対する D-2'-F-4'-Sd4C (17) の結合モデル; (c) 野生型 HIV-1 RT (左) および M184V 突然変異体 RT (右) と複合した、D-2'-F-4'-Sd4C (17) のエネルギー最小構造。 30

【図 19】 β -L-2'-ハロヌクレオシドについての分子モデリングの非限定的な例である。(a) β -L-2'-F-d4C と β -L-2'-F-4'-S-d4C とを重ね合わせ、構造を最適化した構造; (b) β -L-2'-F-4'-S-d4CTP と Arg 72 の相互作用を示す CPK 構造; (c) HIV-1 逆転写酵素の活性部位にドッキングした後の β -L-2'-F-4'-S-d4CTP の最小構造; (d) HIV-1 逆転写酵素の活性部位にドッキングした後の β -L-2'-F-d4CTP の最小構造; (e) β -L-2'-F-4'-S-d4CTP の糖部分と V184 の副鎖の間の立体障害を示す、M184 から V184 への突然変異後の β -L-2'-F-4'-S-d4CTP/R T 複合体; および (f) 立体障害を示さない、突然変異後の β -D-2'-F-d4CTP/R T 複合体。 40

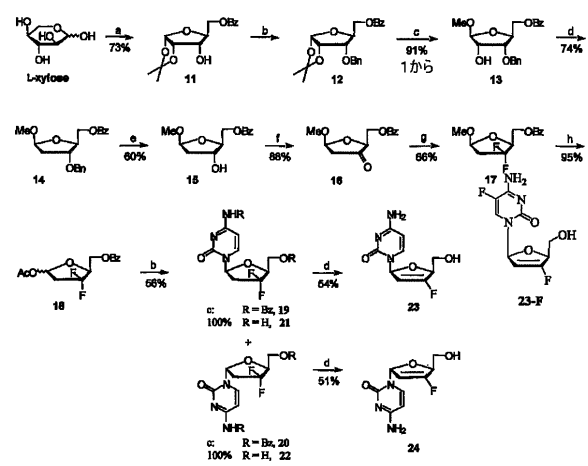
【図 1】

FIGURE 1



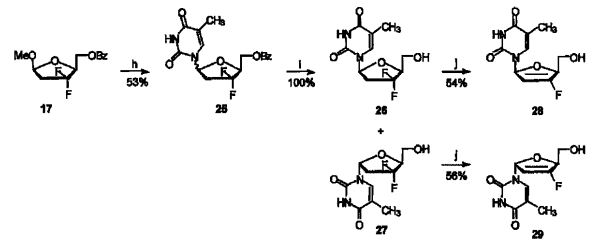
【図 2 A】

FIGURE 2A



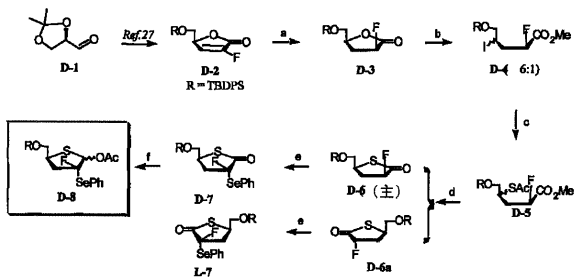
【図 2 B】

FIGURE 2B



【図 3 A】

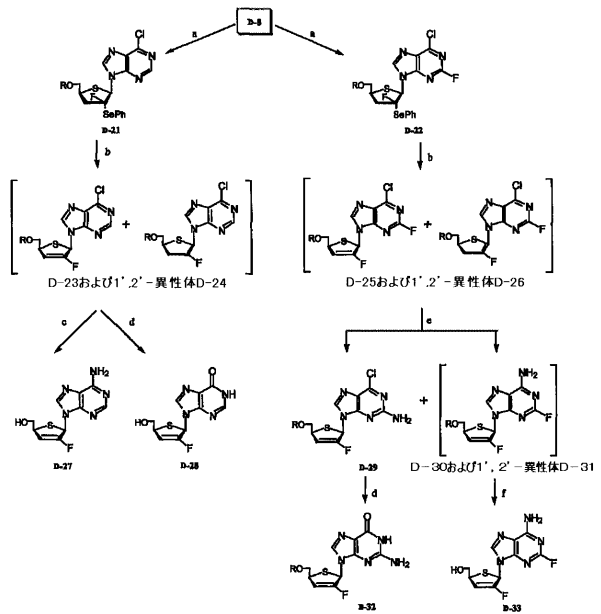
FIGURE 3A



試薬 (a) H_2 , Pd(O)/C, EtOAc (b) NaOH, EtOH (c) 硫酸シマツ, DMSO (d) P_2S_5 , 45°C (e) H_2O , 60°C (f) KSAc, DMF (g) DIBAL-H, 1,4-ジ, -78°C (h) DMSO, Ac₂O, 15 分 (i) HMDS, TMSOTf, PhSeBr, -78°C (j) DIBAL-H, 1,4-ジ, -78°C (k) Ac_2O , TEA, CH_2Cl_2

【図 3 B】

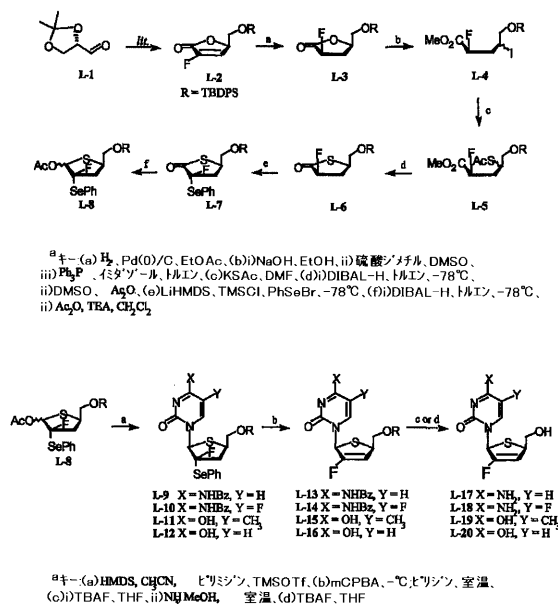
FIGURE 3B



試薬 (a) HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, フリン, TMSOTf (b) mCPBA, -78°C, ピリジン, 室温 (c) NH_3 , MeOH, 80°C (d) TBAF, THF (e) $\text{H}_2\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, NaOH, 60°C (f) TBAF, THF (g) NH_3 / フリン, DME, 室温 (h) TBAF, THF

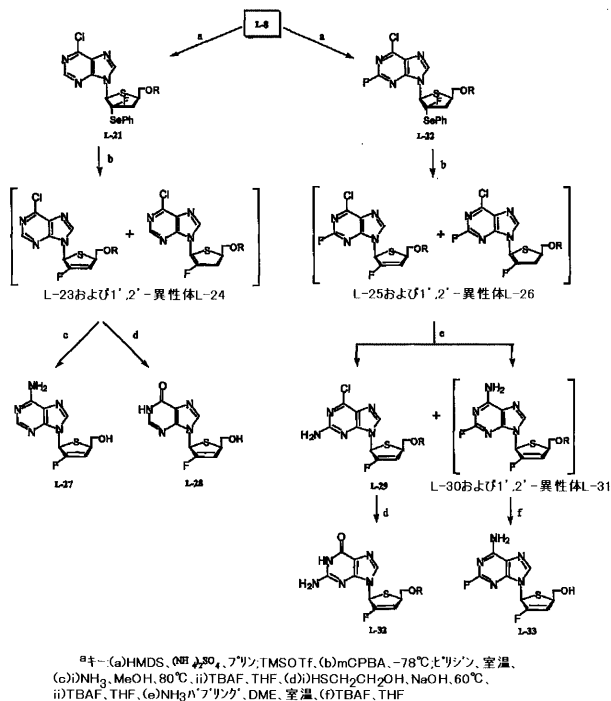
【図 4 A】

FIGURE 4A



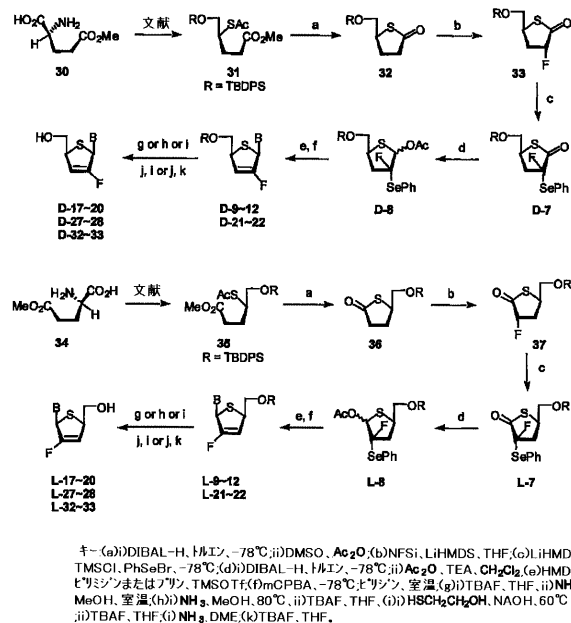
【図 4 B】

FIGURE 4B



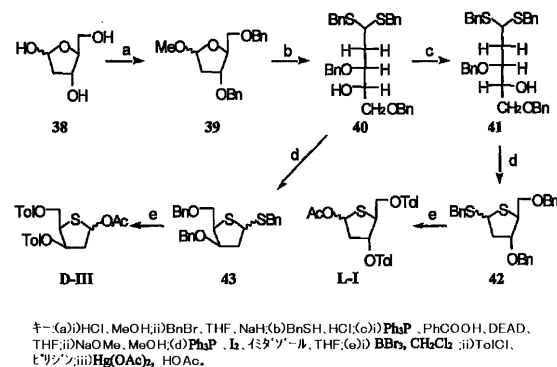
【図 5】

FIGURE 5



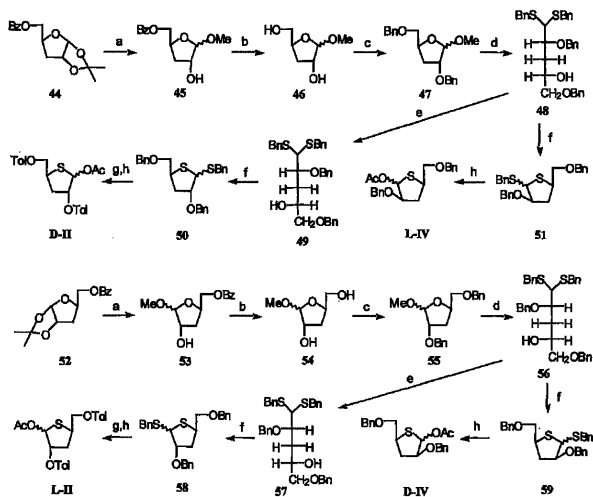
【図 6】

FIGURE 6



【図 7】

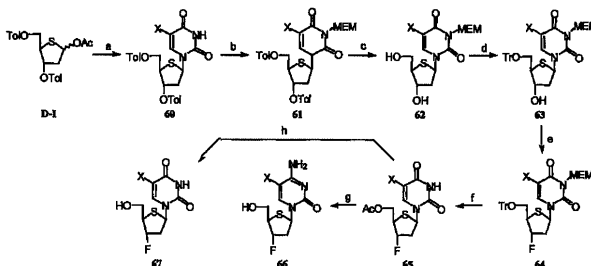
FIGURE 7



キ- X=F, MeまたはH.
 (a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, エリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b)MEMCl, THF, Et_3N ; (c)NaOMe, MeOH ; (d)TrCl, エリジン; (e)DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g)TIPSCl, DMAP, Et_3N ; (h) NH_4OH ; (i) NH_3/MeOH .

【図 8】

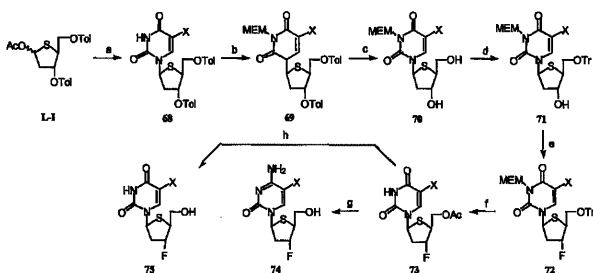
FIGURE 8



キ- X=F, MeまたはH.
 (a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, エリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b)MEMCl, THF, Et_3N ; (c)NaOMe, MeOH ; (d)TrCl, エリジン; (e)DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g)TIPSCl, DMAP, Et_3N ; (h) NH_4OH ; (i) NH_3/MeOH .

【図 9】

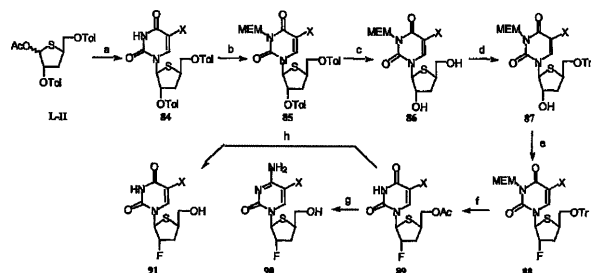
FIGURE 9



キ- X=F, MeまたはH.
 (a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, エリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b)MEMCl, THF, Et_3N ; (c)NaOMe, MeOH ; (d)TrCl, エリジン; (e)DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g)TIPSCl, DMAP, Et_3N ; (h) NH_4OH ; (i) NH_3/MeOH .

【図 11】

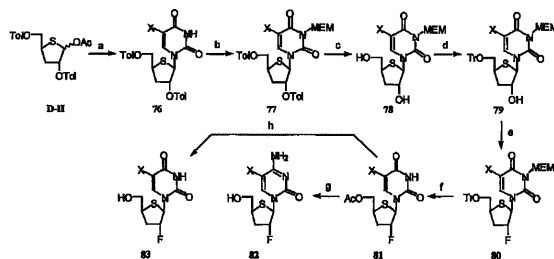
FIGURE 11



キ- X=F, MeまたはH.
 (a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, エリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b)MEMCl, THF, Et_3N ; (c)NaOMe, MeOH ; (d)TrCl, エリジン; (e)DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g)TIPSCl, DMAP, Et_3N ; (h) NH_4OH ; (i) NH_3/MeOH .

【図 10】

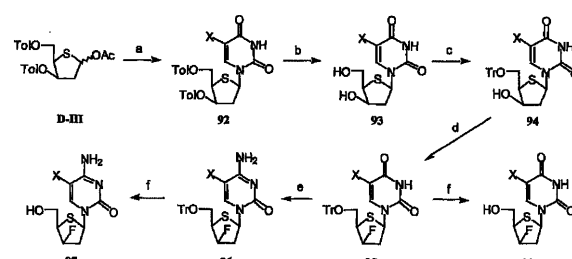
FIGURE 10



キ- X=F, MeまたはH.
 (a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, エリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b)MEMCl, THF, Et_3N ; (c)NaOMe, MeOH ; (d)TrCl, エリジン; (e)DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g)TIPSCl, DMAP, Et_3N ; (h) NH_4OH ; (i) NH_3/MeOH .

【図 12】

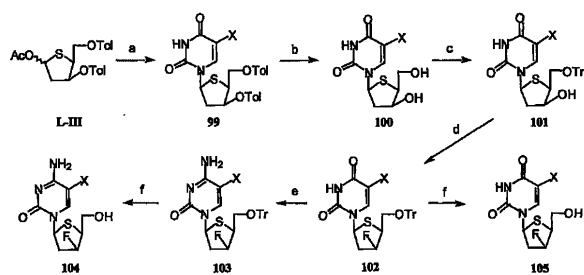
FIGURE 12



キ- X=F, MeまたはH.
 (a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, エリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b)NaOMe, MeOH ; (c)TrCl, エリジン; (d)DAST, CH_2Cl_2 ; (e)TIPSCl, DMAP, Et_3N ; (f) NH_4OH ; (g) HOAc .

【図 13】

FIGURE 13

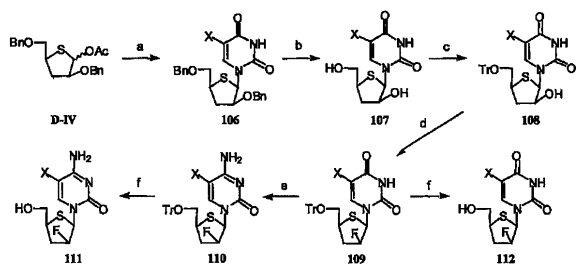


キ- X=F, MeまたはH;

(a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ピリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b)NaOMe, MeOH; (d)TrCl, ピリジン; (d)DAST, CH_2Cl_2 ; (e)TIPSCl, DMAP, Et_3N ; ii) NH_4OH ; iii) 80% HOAc.

【図 14】

FIGURE 14

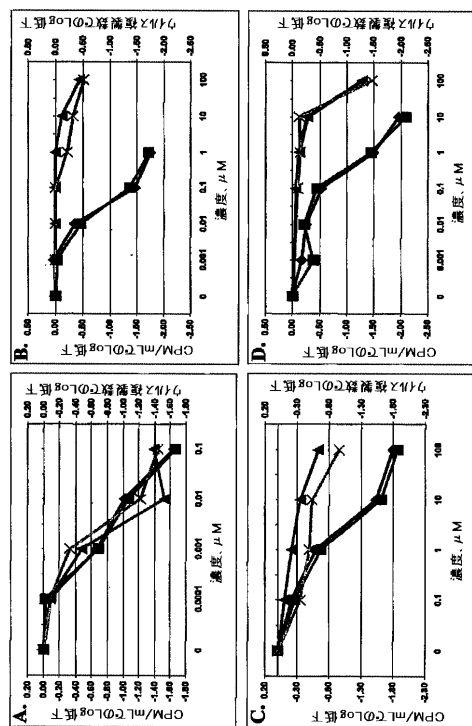


キ- X=F, MeまたはH;

(a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ピリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b) BBr_3 , CH_2Cl_2 ; (d)TrCl, ピリジン; (d)DAST, CH_2Cl_2 ; (e)TIPSCl, DMAP, Et_3N , CH_3CN ; ii) NH_4OH ; iii) 80% HOAc.

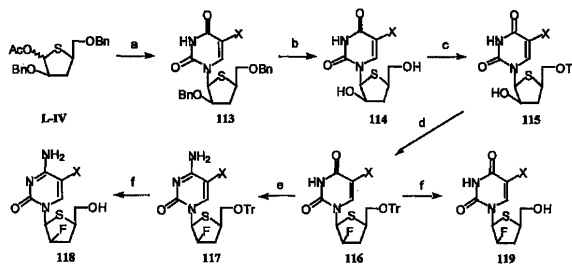
【図 16】

FIGURE 16



【図 15】

FIGURE 15

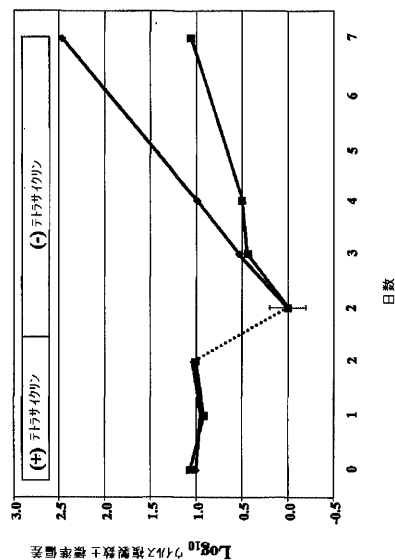


キ- X=F, MeまたはH;

(a)HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ピリジン, CH_3CN , TMSOTf; (b) BBr_3 , CH_2Cl_2 ; (d)TrCl, ピリジン; (d)DAST, CH_2Cl_2 ; (e)TIPSCl, DMAP, Et_3N , CH_3CN ; ii) NH_4OH ; iii) 80% HOAc.

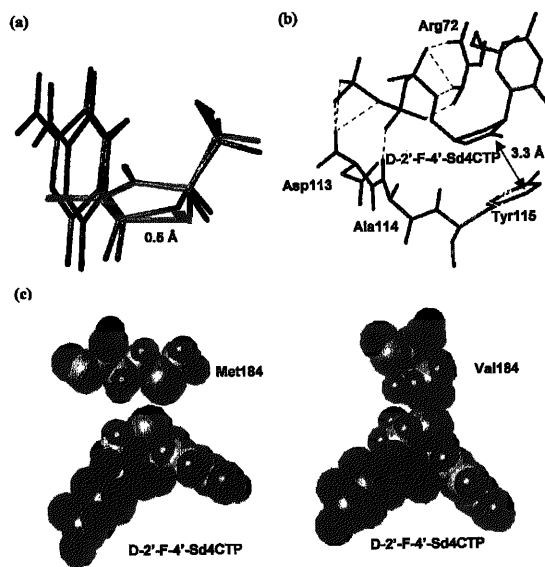
【図 17】

FIGURE 17



【 図 18 】

FIGURE 18



(a) D-2'-F-4'-Sd4C(D-17)とD-2'-Fd4Cを重ね合わせ、構造を最適化した構造。
 (b) HIV-1 RTの結合部位に対するD-2'-F-4'-Sd4C(D-17)の結合様式
 (c) 野生型HIV-1 RT(左側)およびM184V突然変異体RT(右側)と複合したD-2'-F-4'-Sd4C(D-17)のエネルギー最小構造。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
3 January 2003 (03.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/000200 A2

(51) International Patent Classification: A61K

(21) International Application Number: PCT/US02/20245

(22) International Filing Date: 24 June 2002 (24.06.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/300,356 22 June 2001 (22.06.2001) US
60/305,386 13 July 2001 (13.07.2001) US

(71) Applicants (for all designated States except US): PHARMASSET LTD. [BB/BB], c/o Corporate Services Limited, The Financial Services Center, Bishop's Ct. Hill, P.O. Box 111, St Michael (BB). UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH FOUNDATION, INC. [US/US]; Boyd Graduate Research Foundation, Inc., Athens, GA 30602-7411 (US); EMORY UNIVERSITY [US/US]; 1380 S. Oxford Road, Atlanta, GA 30322 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CHU, Chung, K. [US/US]; 115 Cedar Springs Place, Athens, GA 30605 (US). OTTO, Michael, J. [US/US]; 1194 Staples Drive, Lithium, GA 30047 (US). SHI, Junxing [CN/US]; 3345 McClure Woods Drive, Duluth, GA 30096 (US). SCHINAZI, Raymond, F. [US/US]; 1524 Regency Walk Drive, Decatur, GA 30033 (US). CHOI, Yongseok [KR/US]; 825 Quince Orchard Blvd., Apt. 11, Gaithersburg, MD 20878

(US). GUMINA, Giuseppe [IT/US]; 333 Robert C. Wilson Pharmacy Building, Athens, GA 30306 (US). CHONG, Youhoon [KR/US]; 101 Davis St. B8, Athens, GA 30606 (US).

(74) Agents: KNOWLES, Sherry, M. et al.; King & Spalding, 191 Peachtree St., Atlanta, GA 30303-1763 (US).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, SM, SN, SV, TC, TD, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GI, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:
without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 03/000200 A2

(54) Title: β -2'-OR 3'-HALONUCLEOSIDES(57) Abstract: The present invention includes compounds and compositions of β -halonucleosides, as well as methods to treat HIV, HBV or abnormal cellular proliferation comprising administering said compounds or compositions.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

 β -2'- OR 3'-HALONUCLEOSIDES**FIELD OF THE INVENTION**

This application claims priority to U.S. Provisional Application No. 60/300,356, filed on June 22, 2001, and U.S. Provisional Application No. 60/305,386, filed on July 13, 2001.

This invention is in the area of pharmaceutical chemistry, and in particular, describes β -2'- or 3'-halonucleosides and methods for their preparation and use.

The invention described herein was made with Government support under grant number AI32351 and AI25899 awarded by the National Institutes of Health, as well as grant numbers 1R37AI-41890 and 1R01AI-32351. The United States Government has certain rights to this invention.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Synthetic nucleosides such as 5-iodouracil and 5-fluorouracil have been used for the treatment of cancer for many years. Since the 1980's, synthetic nucleosides have also been a focus of interest for the treatment of HIV and hepatitis.

In 1981, acquired immune deficiency syndrome (AIDS) was identified as a disease that severely compromises the human immune system, and that almost without exception leads to death. In 1983, the etiological cause of AIDS was determined to be the human immunodeficiency virus (HIV). In 1985, it was reported that the synthetic nucleoside 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) inhibits the replication of human immunodeficiency virus. Since then, a number of other synthetic nucleosides, including 2',3'-dideoxyinosine (DDI), 2',3'-dideoxycytidine (DDC), and 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine (D4T), have been proven to be effective against HIV. After cellular phosphorylation to the 5'-triphosphate by cellular kinases, these synthetic nucleosides

WO 03/000200

PCT/US02/20245

are incorporated into a growing strand of viral DNA, causing chain termination due to the absence of the 3'-hydroxyl group. They can also inhibit the viral enzyme reverse transcriptase.

5 The success of various synthetic nucleosides in inhibiting the replication of HIV in vivo or in vitro has led a number of researchers to design and test nucleosides that substitute a heteroatom for the carbon atom at the 3'-position of the nucleoside. European Patent Publication No. 0 337 713 and U.S. Patent No. 5,041,449, assigned to BioChem Pharma, Inc., disclose 2-substituted-4-substituted-1,3-dioxolanes that exhibit antiviral activity. U.S. Patent No. 5,047,407 and European Patent Publication No. 0 382
10 526, also assigned to BioChem Pharma, Inc., disclose that a number of 2-substituted-5-substituted-1,3-oxathiolane nucleosides have antiviral activity, and specifically report that 2-hydroxymethyl-5-(cytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (referred to below as BCH-189) has approximately the same activity against HIV as AZT, with little toxicity.

15 It has also been disclosed that cis-2-hydroxymethyl-5-(5-fluorocytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane ("FTC") has potent HIV activity. Schinazi, et al., "Selective Inhibition of Human Immunodeficiency viruses by Racemates and Enantiomers of cis-5-Fluoro-1-[2-(Hydroxymethyl)-1,3-Oxathiolane-5-yl]-Cytosine" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, November 1992, 2423-2431. See also U.S. Patent Nos. 5,210,085; 5,814,639; and 5,914,331.

20 Another virus that causes a serious human health problem is the hepatitis B virus (referred to below as "HBV"). HBV is second only to tobacco as a cause of human cancer. The mechanism by which HBV induces cancer is unknown. It is postulated that it may directly trigger tumor development, or indirectly trigger tumor development through chronic inflammation, cirrhosis, and cell regeneration associated with the
25 infection.

After a two to six month incubation period in which the host is unaware of the infection, HBV infection can lead to acute hepatitis and liver damage, that causes abdominal pain, jaundice, and elevated blood levels of certain enzymes. HBV can cause fulminant hepatitis, a rapidly progressive, often fatal form of the disease in which
30 massive sections of the liver are destroyed.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Patients typically recover from acute hepatitis. In some patients, however, high levels of viral antigen persist in the blood for an extended, or indefinite, period, causing a chronic infection. Chronic infections can lead to chronic persistent hepatitis. Patients infected with chronic persistent HBV are most common in developing countries. By mid-1991, there were approximately 225 million chronic carriers of HBV in Asia alone, and worldwide, almost 300 million carriers. Chronic persistent hepatitis can cause fatigue, cirrhosis of the liver, and hepatocellular carcinoma, a primary liver cancer.

In western industrialized countries, high risk groups for HBV infection include those in contact with HBV carriers or their blood samples. The epidemiology of HBV is very similar to that of acquired immune deficiency syndrome, which accounts for why HBV infection is common among patients with AIDS or AIDS related complex. However, HBV is more contagious than HIV.

Both FTC and 3TC exhibit activity against HBV. Furman, et al., "The Anti-Hepatitis B Virus Activities, Cytotoxicities, and Anabolic Profiles of the (-) and (+) Enantiomers of cis-5-Fluoro-1-[2-(Hydroxymethyl)-1,3-oxathiolane-5-yl]-Cytosine" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, December 1992, pp. 2686-2692; and Cheng, et al., Journal of Biological Chemistry, Volume 267(20), pp.13938-13942 (1992). Other compounds that exhibit activity against HBV in humans include L-FMAU (Triangle Pharmaceuticals, Inc. under license from The University of Georgia Research Foundation and Yale University), and L-dT and L-dC (Idenix Pharmaceuticals, Inc.).

HCV is the major causative agent for post-transfusion and for sporadic non A, non B hepatitis (Alter, H. J. (1990) J. Gastro. Hepatol. 1:78-94; Dienstag, J. L. (1983) Gastro 85:439-462). Despite improved screening, HCV still accounts for at least 25% of the acute viral hepatitis in many countries (Alter, H. J. (1990) supra; Dienstag, J. L. (1983) supra; Alter M. J. et al. (1990a) J.A.M.A. 264:2231-2235; Alter M.J. et al (1992) N. Engl. J. Med. 327:1899-1905; Alter, M.J. et al. (1990b) N. Engl. J. Med. 321:1494-1500). Infection by HCV is insidious in a high proportion of chronically infected (and infectious) carriers who may not experience clinical symptoms for many years. The high rate of progression of acute infection to chronic infection (70-100%) and liver disease (>50%), its world-wide distribution and lack of a vaccine make HCV a significant cause of morbidity and mortality. Currently, there are three types of interferon and a combination of interferon and ribavirin used to treat hepatitis C. Selection of patients for

WO 03/000200

PCT/US02/20245

treatment may be determined by biochemical, virologic, and when necessary, liver biopsy findings, rather than presence or absence of symptoms.

Interferon is given by injection, and may have a number of side effects including flu-like symptoms including headaches, fever, fatigue, loss of appetite, nausea, vomiting, depression and thinning of hair. It may also interfere with the production of white blood cells and platelets by depressing the bone marrow. Periodic blood tests are required to monitor blood cells and platelets. Ribavirin can cause sudden, severe anemia, and birth defects so women should avoid pregnancy while taking it and for 6 months following treatment. The severity and type of side effects differ for each individual. Treatment of children with HCV is not currently approved but is under investigation. While 50-60% of patients respond to treatment initially, lasting clearance of the virus occurs in only about 10-40% of patients. Treatment may be prolonged and given a second time to those who relapse after initial treatment. Re-treatment with bioengineered consensus interferon alone results in elimination of the virus in 58% of patients treated for one year. Side effects occur but the medication is usually well tolerated. Combined therapy (interferon and ribavirin) shows elimination of the virus in 47% after 6 months of therapy. Side effects from both drugs may be prominent.

A tumor is an unregulated, disorganized proliferation of cell growth. A tumor is malignant, or cancerous, if it has the properties of invasiveness and metastasis. Invasiveness refers to the tendency of a tumor to enter surrounding tissue, breaking through the basal laminae that define the boundaries of the tissues, thereby often entering the body's circulatory system. Metastasis refers to the tendency of a tumor to migrate to other areas of the body and establish areas of proliferation away from the site of initial appearance.

Cancer is now the second leading cause of death in the United States. Over 8,000,000 persons in the United States have been diagnosed with cancer, with 1,208,000 new diagnoses expected in 1994. Over 500,000 people die annually from the disease in this country.

Cancer is not fully understood on the molecular level. It is known that exposure of a cell to a carcinogen such as certain viruses, certain chemicals, or radiation, leads to DNA alteration that inactivates a "suppressive" gene or activates an "oncogene."

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Suppressive genes are growth regulatory genes, which upon mutation, can no longer control cell growth. Oncogenes are initially normal genes (called protooncogenes) that by mutation or altered context of expression become transforming genes. The products of transforming genes cause inappropriate cell growth. More than twenty different normal cellular genes can become oncogenes by genetic alteration. Transformed cells differ from normal cells in many ways, including cell morphology, cell-to-cell interactions, membrane content, cytoskeletal structure, protein secretion, gene expression and mortality (transformed cells can grow indefinitely).

All of the various cell types of the body can be transformed into benign or malignant tumor cells. The most frequent tumor site is lung, followed by colorectal, breast, prostate, bladder, pancreas and then ovary. Other prevalent types of cancer include leukemia, central nervous system cancers, including brain cancer, melanoma, lymphoma, erythroleukemia, uterine cancer, and head and neck cancer.

Cancer is now primarily treated with one or a combination of three years of therapies: surgery, radiation and chemotherapy. Surgery involves the bulk removal of diseased tissue. While surgery is sometimes effective in removing tumors located at certain sites, for example, in the breast, colon and skin, it cannot be used in the treatment of tumors located in other areas, such as the backbone, or in the treatment of disseminated neoplastic conditions such as leukemia.

Chemotherapy involves the disruption of cell replication or cell metabolism. It is used most often in the treatment of leukemia, as well as breast, lung, and testicular cancer.

There are five major classes of chemotherapeutic agents currently in use for the treatment of cancer: natural products and their derivatives; antihistamines; alkylating agents; antiproliferatives (also called antimetabolites); and hormonal agents. Chemotherapeutic agents are often referred to as antineoplastic agents.

The alkylating agents are believed to act by alkylating and cross-linking guanine and possibly other bases in DNA, arresting cell division. Typical alkylating agents include nitrogen mustards, ethyleneimine compounds, alkyl sulfates, cisplatin and various nitrosoureas. A disadvantage with these compounds is that they not only attach

WO 03/000200

PCT/US02/20245

malignant cells, but also other cells which are naturally dividing, such as those of bone marrow, skin, gastrointestinal mucosa, and fetal tissue.

Antimetabolites are typically reversible or irreversible enzyme inhibitors, or compounds that otherwise interfere with the replication, translation or transcription of nucleic acids.

Several synthetic nucleosides have been identified that exhibit anticancer activity. A well known nucleoside derivative with strong anticancer activity is 5-fluorouracil. 5-Fluorouracil has been used clinically in the treatment of malignant tumors, including, for example, carcinomas, sarcomas, skin cancer, cancer of the digestive organs, and breast cancer. 5-Fluorouracil, however, causes serious adverse reactions such as nausea, alopecia, diarrhea, stomatitis, leukocytic thrombocytopenia, anorexia, pigmentation and edema. Derivatives of 5-fluorouracil with anti-cancer activity have been described in U.S. Patent No 4,336,381, and in Japanese patent publication Nos. 50-50383, 50-50384, 50-64281, 51-146482, and 53-84981.

U.S. Patent No. 4,000,137 discloses that the peroxidate oxidation product of inosine, adenosine or cytidine with methanol or ethanol has activity against lymphocytic leukemia.

Cytosine arabinoside (also referred to as Cytarabin, araC, and Cytosar) is a nucleoside analog of deoxycytidine that was first synthesized in 1950 and introduced into clinical medicine in 1963. It is currently an important drug in the treatment of acute myeloid leukemia. It is also active against acute lymphocytic leukemia, and to a lesser extent, is useful in chronic myelocytic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma. The primary action of araC is inhibition of nuclear DNA synthesis. Handschumacher, R. and Cheng, Y., "Purine and Pyrimidine Antimetabolites" Cancer Medicine, Chapter XV-1, 3rd Edition, Edited by J. Holland, et al., Lea and Febigol, publishers.

5-Azacytidine is a cytidine analog that is primarily used in the treatment of acute myelocytic leukemia and myelodysplastic syndrome.

2-Fluoroadenosine-5'-phosphate (Fludara, also referred to as FaraA)) is one of the most active agents in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. The compound acts by inhibiting DNA synthesis. Treatment of cells with F-araA is associated with the accumulation of cells at the G1/S phase boundary and in S phase; thus, it is a cell cycle S

WO 03/000200

PCT/US02/20245

phase-specific drug. Incorporation of the active metabolite, F-araATP, retards DNA chain elongation. F-araA is also a potent inhibitor of ribonucleotide reductase, the key enzyme responsible for the formation of dATP.

2-Chlorodeoxyadenosine is useful in the treatment of low grade B-cell neoplasms such as chronic lymphocytic leukemia, non-Hodgkins' lymphoma, and hairy-cell leukemia.

In designing new nucleosides, there have been a number of attempts to incorporate a fluoro substituent into the carbohydrate ring of the nucleoside. Fluorine has been suggested as a substituent because it might serve as an isopolar and isosteric mimic of a hydroxyl group as the C-F bond length (1.35 Å) is so similar to the C-O bond length (1.43 Å) and because fluorine is a hydrogen bond acceptor. Fluorine is capable of producing significant electronic changes in a molecule with minimal steric perturbation. The substitution of fluorine for another group in a molecule can cause changes in substrate metabolism because of the high strength of the C-F bond (116 kcal/mol vs. C-H = 100 kcal/mol).

A number of references have reported the synthesis and use of 2'-arabinofluoro-nucleosides (i.e., nucleosides in which a 2'-fluoro group is in the "up"-configuration). There have been several reports of 2-fluoro-β-D-arabinofuranosyl nucleosides that exhibit activity against hepatitis B and herpes. See, for example, U.S. Patent No. 4,666,892 to Fox, et al.; U.S. Patent No. 4,211,773 to Lopez, et al; Su, et al., Nucleosides. 136. Synthesis and Antiviral Effects of Several 1-(2-Deoxy-2-fluoro-β-D-arabinofuranosyl)-5-alkyluracils. Some Structure-Activity Relationships, J. Med. Chem., 1986, 29, 151-154; Borthwick, et al., Synthesis and Enzymatic Resolution of Carbocyclic 2'-Ara-fluoro-Guanosine: A Potent New Anti-Herpetic Agent, J. Chem. Soc., Chem. Commun, 1988; Wantanabe, et al., Synthesis and Anti-HIV Activity of 2'-"Up"-Fluoro Analogues of Active Anti-Aids Nucleosides 3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) and 2',3'-deoxythymidine (AZT) and 2',3'-dideoxycytidine (DDC), J. Med. Chem. 1990, 33, 2145-2150; Martin, et al., Synthesis and Antiviral Activity of Monofluoro and Difluoro Analogues of Pyrimidine Deoxyribonucleosides against Human Immunodeficiency Virus (HIV-1), J. Med. Chem. 1990, 33, 2137-2145; Sterzycki, et al., Synthesis and Anti-HIV Activity of Several 2'-Fluoro-Containing Pyrimidine Nucleosides, J. Med. Chem. 1990, as well as EPA 0 316 017 also filed by

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Sterzycki, et al.; and Montgomery, et al., 9-(2-Deoxy-2-fluoro- β -D-arabinofuranosyl)-guanine: A Metabolically Stable Cytotoxic Analogue of 2'-Deoxyguanosine. U.S. Patent No. 5,246,924 discloses a method for treating a hepatitis infection that includes the administration of 1-(2'-deoxy-2'-fluoro- β -D-arabinofuranosyl)-3-ethyluracil, also referred to as "FEAU." U.S. Patent No. 5,034,518 discloses 2-fluoro-9-(2-deoxy-2-fluoro- β -D-arabino-furanosyl)adenine nucleosides which exhibit anticancer activity by altering the metabolism of adenine nucleosides by reducing the ability of the compound to serve as a substrate for adenosine. EPA 0 292 023 discloses that certain β -D-2'-fluoroarabinonucleosides are active against viral infections.

U.S. Patent No. 5,128,458 discloses β -D-2',3'-dideoxy-4'-thioribonucleosides as antiviral agents. U.S. Patent No. 5,446,029 discloses that 2',3'-dideoxy-3'-fluoro-nucleosides have anti-hepatitis activity.

European Patent Publication No. 0 409 227 A2 discloses certain 3'-substituted β -D-pyrimidine and purine nucleosides for the treatment of hepatitis B.

It has also been disclosed that L-FMAU (2'-fluoro-5-methyl- β -L-arabinofuranosyl-uracil) is a potent anti-HBV and anti-EBV agent. See Chu, et al., Use of 2'-Fluoro-5-methyl- β -L-arabinofuranosyluracil as a Novel Antiviral Agent for Hepatitis B Virus and Epstein-Barr Virus; Antimicrobial Agents and Chemotherapy, April 1995, 979-981; Balakrishna, et al., Inhibition of Hepatitis B Virus by a Novel L-Nucleoside, 2'-Fluoro-5-Methyl- β -L-arabinofuranosyl Uracil, Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Feb 1996, 380-356; U.S. Patent Nos. 5,587,362; 5,567,688; and 5,565,438.

U.S. Patent Nos. 5,426,183 and 5,424,416 disclose processes for preparing 2'-deoxy-2',2'-difluoronucleosides and 2'-deoxy-2'-fluoro nucleosides. See also Kinetic Studies of 2',2'-difluorodeoxycytidine (Gemcitabine) with Purified Human Deoxycytidine Kinase and Cytidine Deaminase, BioChemical Pharmacology, Vol. 45 (No. 9) pages 4857-1861, 1993.

U.S. Patent No. 5,446,029 to Eriksson, et al., discloses that certain 2',3'-dideoxy-3'-fluoronucleosides have hepatitis B activity. U.S. Patent No. 5,128,458 discloses certain 2',3'-dideoxy-4'-thioribonucleosides wherein the 3'-substituent is H, azide or fluoro. WO 94/14831 discloses certain 3'-fluoro-dihydropyrimidine nucleosides. WO

WO 03/000200

PCT/US02/20245

92/08727 discloses β -L-2'-deoxy-3'-fluoro-5-substituted uridine nucleosides for the treatment of herpes simplex 1 and 2.

European Patent Publication No. 0 352 248 discloses a broad genus of L-ribofuranosyl purine nucleosides for the treatment of HIV, herpes, and hepatitis. While certain 2'-fluorinated purine nucleosides fall within the broad genus, there is no information given in the specification on how to make these compounds in the specification, and they are not among specifically disclosed or the preferred list of nucleosides in the specification. The specification does disclose how to make 3'-ribofuranosyl fluorinated nucleosides. A similar specification is found in WO 88/09001, filed by Aktiebolaget Astra.

European Patent Publication No. 0 357 571 discloses a broad group of β -D and α -D pyrimidine nucleosides for the treatment of AIDS which among the broad class generically includes nucleosides that can be substituted in the 2' or 3'-position with a fluorine group. Among this broad class, however, there is no specific disclosure of 2'-fluorinated nucleosides or a method for their production.

European Patent Publication No. 0 463 470 discloses a process for the preparation of (5S)-3-fluoro-tetrahydro-5-[(hydroxy)methyl]-2-(3H)-furanone, a known intermediate in the manufacture of 2'-fluoro-2',3'-dideoxynucleosides such as 2'-fluoro-2',3'-dideoxycytidine.

U.S. Patent Nos. 5,817,799 and 5,336,764 disclose β -D-2'-fluoroarabino-furanosyl nucleosides, and a method for their production, which are intermediates in the synthesis of 2',3'-dideoxy-2'-fluoroarabinosyl nucleosides.

U.S. Patent No. 4,625,020 discloses a method of producing 1-halo-2-deoxy-2-fluoroarabinofuranosyl derivatives bearing protective ester groups from 1,3,5-tri-O-acyl-ribofuranose.

U.S. Patent No. 6,348,587 and International Publication No. WO 99/43691 disclose certain 2'-fluoronucleosides, including certain 2'-fluoro-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-4'-((S, CH₂ or CHF))-nucleosides, and their uses for the treatment of HIV, hepatitis (B or C), or proliferative conditions.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

International Publication Nos. WO 01/90121 and WO 01/92282 disclose a wide variety of nucleosides for the treatment of HCV and flaviviruses and pestiviruses, respectively, including certain 2'-halo-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-4'-(O, S, SO₂ or CH₂)-nucleosides.

5 The first example of 4'-thionucleosides was reported in 1964 by Reist et al., who synthesized the 4'-thio counterpart of naturally occurring adenosine (Reist, E. J.; Gueffroy, D. E.; Goodman, L. Synthesis of 4-thio-D- & L-ribofuranose and corresponding adenine nucleosides. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 5658-5663).

10 A report by Young et al., emphasized the importance of this class of nucleosides, in which L-4'-thio-d4C analogues showed marked anti-HBV as well and anti-HIV activity (Young, R. J.; Shaw-Ponter, S.; Thomson, J. B.; Miller, J. A.; Cumming, J. G.; Pugh, A. W.; Rider, P. Synthesis and antiviral evaluation of enantiomeric 2',3'-dideoxy- and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-4'-thionucleosides. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 2599-2604).

15 Since then, several classes of 4'-thionucleosides have been reported, (Whistler, R. L.; Doner, L. W.; Nayak, U. G. 4-Thio-D-arabinofuranosylpyrimidine nucleosides. *J. Org. Chem.* 1971, *36*, 108-110; Bobek, M.; Bloch, A.; Parthasarathy, R.; Whistler, R. L. Synthesis and biological activity of 5-fluoro-4'-thiouridine and some related nucleosides. *J. Med. Chem.* 1975, *18*, 784-787), including 9-(4-thio-D-xylofuranosyl)adenine (Reist, E. J.; Fisher, L. V.; Gueffroy, E.; Goodman, L. Neighboring-group participation. Preparation of dithiopentose sugars via a thioacylonium ion intermediate. *J. Org. Chem.* 1968, *33*, 189-192), 9-(4-thio-D-arabinofuranosyl)adenine (Reist, E. J.; Fisher, L. V.; Gueffroy, E.; Goodman, L. Neighboring-group participation. Preparation of dithiopentose sugars via a thioacylonium ion intermediate. *J. Org. Chem.* **1968**, *33*, 189-25
25 192), and 4'-thio-araC (Ototani, N.; Whistler, R. L. Preparation and antitumor activity of 4'-thio analogs of 2,2'-anhydro-1-β-D-arabinofuranosylcytosine. *J. Med. Chem.* **1974**, *17*, 535-537).

30 However, the difficulty of synthesizing optically pure 4'-thionucleosides has impaired additional syntheses of these analogues, and only a few examples have been known until recently (Fu, Y. -L.; Bobek, M. In *Nucleic Acid Chemistry*; Townsend, L.; Tipson, R. S., Eds.; John Wiley & Sons: New York, 1978; pp 317-323). Moreover,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

biologically interesting 2'-deoxy-4'-thionucleosides had not been synthesized until Walker and Secrist independently reported the syntheses of pyrimidine 2'-deoxy-4'-thionucleosides in 1991 (Dyson, M. R.; Coe, P. L.; Walker, R. T. The synthesis and antiviral properties of E-5-(2-bromovinyl)-4'-thio-2'-deoxyuridine. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1991, 741-742; Dyson, M. R.; Coe, P. L.; Walker, R. T. The synthesis and antiviral activity of some 4'-thio-2'-deoxy nucleoside analogs. *J. Med. Chem.* 1991, 34, 2782-2786; Secrist, J. A.; Tiwari, K. N.; Riordan, J. M.; Montgomery, J. A. Synthesis and biological activity of 2'-deoxy-4'-thiopyrimidine nucleosides. *J. Med. Chem.* 1991, 34, 2361-2366), which were followed by an alternative synthesis of 2'-deoxy-4'-thionucleosides using the Sharpless asymmetric epoxidation (Uenishi, J.; Motoyama, M.; Nishiyama, Y.; Wakabayashi, S. Stereocontrolled preparation of cyclic xanthate - A novel synthetic route to 4-thiofuranose and 4'-thionucleoside. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1991, 1421-1422; Uenishi, J.; Takahashi, K.; Motoyama, M.; Akashi, H.; Sasaki, T. Syntheses and antitumor activities of D-2'-deoxy-4'-thio and L-2'-deoxy-4'-thio pyrimidine nucleosides. *Nucleosides Nucleotides* 1994, 13, 1347-1361), synthesis of 4'-thio-2',3'-dideoxynucleosides (Secrist, J. A.; Riggs, R. M.; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A. Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2',3'-dideoxynucleosides. *J. Med. Chem.* 1992, 35, 533-538), and the syntheses of 4'-thioarabinonucleosides (Secrist, J. A.; Tiwari, K. N.; Shortnacy-Fowler, A. T.; Messini, L.; Riordan, J. M.; Montgomery, J. A. Synthesis and biological activity of certain 4'-thio-D-arabinofuranosylpurine nucleosides. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 3865-3871; Yoshimura, Y.; Watanabe, M.; Satoh, H.; Ashida, N.; Ijichi, K.; Sakata, S.; Machida, H.; Matsuda, A. A facile, alternative synthesis of 4'-thioarabinonucleosides and their biological activities. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 2177-2183) as well as 2'-modified 2'-deoxy-4'-thiocytidines (Yoshimura, Y.; Kitano, K.; Yamada, K.; Satoh, H.; Watanabe, M.; Miura, S.; Sakata, S.; Sasaki, T.; Matsuda, A. A novel synthesis of 2'-modified 2'-deoxy-4'-thiocytidines from D-glucose. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 3140-3152). The synthesized 4'-thio-2'-deoxy, 4'-thio-2',3'-dideoxy and 4'-thioarabino nucleosides have shown to have potent anti-herpes, anti-HIV and anti-cytomegalovirus activities, respectively, and some analogues, especially 4'-thiothymidine and 2'-deoxy-4'-thiocytidine, have exhibited potent cytotoxicity. The 4'-thionucleosides are usually resistant to hydrolytic cleavage of glycosyl linkage catalyzed by nucleoside phosphorylase, which is one of the advantages of 4'-thionucleosides compared with several metabolically unstable "4'-oxy" antiviral

WO 03/000200

PCT/US02/20245

agents which are substrates for nucleoside phosphorylase (Parks, R. E., Jr.; Stoeckler, J. D.; Cambor, C.; Savarese, T. M.; Crabtree, G. W.; Chu, S. -H. In *Molecular Actions and Targets for Cancer Chemotherapeutic Agents*; Sartorelli, A. C., Lazo, J. S., Bertino, J. R., Eds.; Academic Press: New York, 1981; pp 229-252; Desgranges, C.; Razaka, G.; Rabaud, M.; Bricaud, H.; Balzarini, J.; De Clercq, E. Phosphorolysis of (E)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine (BVDU) and other 5-substituted-2'-deoxyuridines by purified human thymidine phosphorylase and intact blood-platelets. *Biochem. Pharmacol.* 1983, 32, 3583-3590; Samuel, J.; Gill, M. J.; Iwashina, T.; Tovell, D. R.; Tyrrell, D. L.; Knaus, E. E.; Wiebe, L. I. Pharmacokinetics and metabolism of E-5-(2-[131]iodovinyl)-2'-deoxyuridine in dogs. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1986, 29, 320-324).

Even though 4'-thionucleosides have recently received considerable attention as potential antiviral agents, their 2',3'-unsaturated analogues have not been well investigated probably because of the synthetic difficulties. The known synthetic methods employ either nucleophilic attack of dimesylate by disulfide anion (Yoshimura, Y.; Watanabe, M.; Satoh, H.; Ashida, N.; Ijichi, K.; Sakata, S.; Machida, H.; Matsuda, A. A facile, alternative synthesis of 4'-thioarabinonucleosides and their biological activities. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 2177-2183; Yoshimura, Y.; Kitano, K.; Yamada, K.; Satoh, H.; Watanabe, M.; Miura, S.; Sakata, S.; Sasaki, T.; Matsuda, A. A novel synthesis of 2'-modified 2'-deoxy-4'-thiocytidines from D-glucose. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 3140-3152), ring closure of dithioacetal (Secrist, J. A.; Tiwari, K. N.; Shortnacy-Fowler, A. T.; Messini, L.; Riordan, J. M.; Montgomery, J. A. Synthesis and biological activity of certain 4'-thio-D-arabinofuranosylpurine nucleosides. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 3865-3871) or reductive cyclization of thioacetic acid ester (Secrist, J. A.; Riggs, R. M.; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A. Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2',3'-dideoxynucleosides. *J. Med. Chem.* 1992, 35, 533-538).

The stereoselective synthesis of the β -L-2'-F-4'-Sd4C, which showed potent anti-HIV activity (EC_{50} 0.12 μ M) in human peripheral blood mononuclear (PBM) cells, was reported (Choi, Y.; Choo, H.; Chong, Y.; Lee, S.; Olgen, S.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. Synthesis and potent anti-HIV activity of L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thiocytidine. *Org. Lett.* 2002, 4, 305-307).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In light of the fact that acquired immune deficiency syndrome, AIDS-related complex, hepatitis B virus and hepatitis C virus have reached epidemic levels worldwide, and have tragic effects on the infected patient, there remains a strong need to provide new effective pharmaceutical agents to treat these diseases that have low toxicity to the host. Further, there is a need to provide new antiproliferative agents.

Therefore, it is an object of the present invention to provide a method and composition for the treatment of human patients or other host animals infected with HIV.

It is another object of the present invention to provide a method and composition for the treatment of human patients infected with hepatitis B or C.

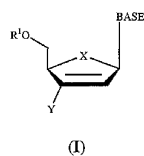
It is a further object of the present invention to provide new antiproliferative agents.

It is still another object of the present invention to provide a new process for the preparation of β -halonucleosides of the present invention.

SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention includes β -D and β -L-3'-halonucleosides, pharmaceutical compositions comprising such compounds, as well as methods to treat or prevent an HIV infection, HBV infection or abnormal cellular proliferation comprising administering said compounds or compositions. In addition, the present invention includes the process for the preparation of such compounds, and the related β -D and β -L-2'-halo-4'-thionucleosides.

In one embodiment of the invention, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is of the formula (I):



WO 03/000200

PCT/US02/20245

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

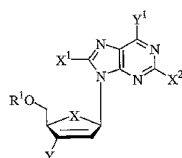
R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

5 X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted, or provided in prodrug form, such as an alkylated or acylated form.

10 In a particular sub-embodiment of the invention, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is of the formula (II):



(II)

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X and Y are as defined above;

15 Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^3 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

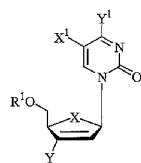
X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

20 R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene (in particular, dimethylaminomethylene), CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In another sub-embodiment of the invention, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is of the formula (III):

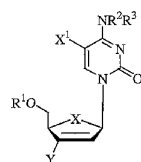


(III)

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X , Y , X^1 and Y^1 are as defined above.

In a particular sub-embodiment, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is a β -D and β -L-3'-halocytidine of the formula (IV):



(IV)

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X , Y , X^1 , R^2 and R^3 are as defined above.

In a preferred embodiment, X is O for the compounds of the formula (I) – (IV).

In an alternatively preferred embodiment, X is S for the compounds of the formula (I) – (IV).

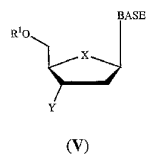
In a preferred embodiment, Y is F for the compounds of the formula (I) – (IV).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In one embodiment of the present invention, the compounds of the formula (I) – (IV) are in the β -D configuration. In an alternate embodiment of the present invention, the compounds of formula (I) – (IV) are in the β -L configuration.

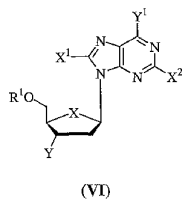
- 5 In a second embodiment of the invention, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is of the formula (V):



or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

- 10 R^1 , Y and BASE are as defined above.

In a particular sub-embodiment of the invention, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VI):



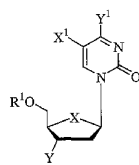
- 15 or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , Y, X^1 , X^2 and Y^1 are as defined above.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In another sub-embodiment of the invention, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VII):

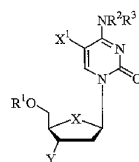


(VII)

5 or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X , Y , X^1 and Y^1 are as defined above.

In a particular sub-embodiment, the β -D and β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VIII):



(VIII)

10

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X , Y , X^1 , R^2 and R^3 are as defined above.

In a preferred embodiment, X is O for the compounds of the formula (V) – (VIII).

15

In an alternatively preferred embodiment, X is S for the compounds of the formula (V) – (VIII).

In a preferred embodiment, Y is F for the compounds of the formula (V) – (VIII).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In one embodiment of the present invention, the compounds of the formula (V) – (VIII) are in the β -D configuration. In an alternate embodiment of the present invention, the compounds of formula (V) – (VIII) are in the β -L configuration.

5 The β -halonucleosides depicted above are in the β -D configuration, however, it should be understood that the β -halonucleosides can be either in the β -L or β -D configuration.

10 The β -halonucleosides of the present invention are biologically active molecules that are useful in the treatment or prophylaxis of viral infections, and in particular an human immunodeficiency virus (HIV) and/or hepatitis B virus (HBV) infection. The compounds are also useful for the treatment of abnormal cellular proliferation, including tumors and cancer. In another embodiment of the present invention, any of the active compounds are useful in the treatment of HCV. One can easily determine the spectrum of activity by evaluating the compound in the assays described herein or with another confirmatory assay.

15 For instance, in one embodiment the efficacy of the antiviral compound is measured according to the concentration of compound necessary to reduce the plaque number of the virus *in vitro*, according to methods set forth more particularly herein, by 50% (i.e. the compound's EC_{50}). In preferred embodiments the compound exhibits an EC_{50} of less than 15 or preferably, less than 10 micromolar *in vitro*.

20 In another embodiment, for the treatment or prophylaxis of a viral infection, and in particular an HIV or HBV infection, in a host, the active compound or its derivative or salt can be administered in combination or alternation with another antiviral agent, such as an anti-HIV agent or anti-hepatitis agent, including those of the formula above. Alternatively, for the treatment of abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, the active compound or its derivative or salt can be administered in combination or alternation with another antiproliferative agent, such as an anti-neoplastic agent, including those of the formula above. In general, in combination therapy, effective dosages of two or more agents are administered together, whereas during alternation therapy, an effective dosage of each agent is administered serially. The dosages will depend on absorption, inactivation and excretion rates of the drug as well as other factors known to those of skill in the art. It is to be noted that dosage values will also vary with

25
30

WO 03/000200

PCT/US02/20245

the severity of the condition to be alleviated. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens and schedules should be adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person administering or supervising the administration of the compositions.

5 Nonlimiting examples of antiviral agents that can be used in combination with the compounds disclosed herein include 2-hydroxymethyl-5-(5-fluorocytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (FTC); the (-)-enantiomer of 2-hydroxymethyl-5-(cytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (3TC); carbovir, acyclovir, interferon, famciclovir, penciclovir, AZT, DDI, DDC, D4T, abacavir, L-(-)-FMAU, L-DDA phosphate prodrugs, and β -D-dioxolane
10 nucleosides such as β -D-dioxolanyl-guanine (DG), β -D-dioxolanyl-2,6-diaminopurine (DAPD), and β -D-dioxolanyl-6-chloropurine (ACP), non-nucleoside room temperature inhibitors such as nevirapine, MKC-442, DMP-266 (sustiva) and also protease inhibitors such as indinavir, saquinavir, AZT, DMP-450 and others.

The compounds can also be used to treat equine infectious anemia virus (EIAV),
15 feline immunodeficiency virus, and simian immunodeficiency virus. (Wang, S., Montelaro, R., Schinazi, R.F., Jagerski, B., and Mellors, J.W.: "Activity of nucleoside and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI) against equine infectious anemia virus (EIAV)." *First National Conference on Human Retro viruses and Related Infections*, Washington, DC, Dec. 12-16, 1993; Sellon D.C., "Equine Infectious
20 Anemia," *Vet. Clin. North Am. Equine Pract. United States*, 9: 321-336, 1993; Philpott, M.S., Ebner, J.P., Hoover, E.A., "Evaluation of 9-(2-phosphonylmethoxyethyl) adenine therapy for feline immunodeficiency virus using a quantitative polymerase chain reaction," *Vet. Immunol. Immunopathol.* 35:155166, 1992.)

The present invention also provides a pharmaceutical composition for the
25 treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human, comprising an effective amount of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention also provides a pharmaceutical composition for the
30 treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human, comprising an effective amount of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The present invention also provides a pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human, comprising an effective amount of an active compound of the present invention, in combination with one or more other effective antiviral agent, and in particular an anti-HBV or anti-HIV agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention also provides a pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human, comprising an effective amount of an active compound of the present invention, in combination with one or more other effective antiproliferative agent, such as an antineoplastic agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention also provides a method for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human, comprising administering to the host an effective amount of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention also provides a method for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human, comprising administering to the host an effective amount of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention also provides a method for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human, comprising administering to the host an effective amount of an active compound of the present invention, in combination and/or alternation with one or more other effective antiviral agent, and in particular an anti-HBV or anti-HIV agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

The present invention also provides a method for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human, comprising administering to the host an effective amount of an

WO 03/000200

PCT/US02/20245

active compound of the present invention, in combination and/or alternation with one or more other effective antiproliferative agent, such as an antineoplastic agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier.

5 The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human.

10 The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human.

15 The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, in combination and/or alternation with one or more other effective antiviral agent, and in particular an anti-HBV or anti-HIV agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human.

20 The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, in combination and/or alternation with one or more other effective antiproliferative agent, such as an antineoplastic agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human.

25 The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human.

The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

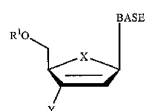
The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, in combination and/or alternation with one or more other effective antiviral agent, and in particular an anti-HBV or anti-HIV agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HBV or HIV infection, in a host, preferably a human.

The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, in combination and/or alternation with one or more other effective antiviral agent, and in particular an anti-HCV agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of a viral infection, and in particular a HCV infection, in a host, preferably a human.

The present invention also provides a use of an active compound of the present invention, in combination and/or alternation with one or more other effective antiproliferative agent, such as an antineoplastic agent, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier, in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation, such as tumors and cancer, in a host, preferably a human.

The invention also provides synthetic methods useful for preparing the compounds of the invention, as well as intermediates disclosed herein that are useful in the preparation of the compounds of the present invention.

In particular, in one embodiment of the present invention, a process for the preparation of the β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



(I)

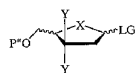
wherein Y, R¹ and BASE are as defined above; and

X is O, S or SO₂; is provided, comprising

WO 03/000200

PCT/US02/20245

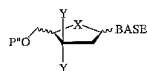
- (a) obtaining an optionally protected compound of the formula (A):



(A)

wherein P' is independently hydrogen or a suitable oxygen protecting group such as alkyl, acyl or silyl; and LG is a suitable leaving group, such as OAcyl, and in particular OAc;

- (b) coupling the compound of formula (A) with a purine or pyrimidine base to obtain the compound of formula (B):



(B)

- (c) eliminating and deprotecting, if necessary, the compound of formula (B) to obtain the compound of formula (I).

In a particular embodiment of the present invention, a process for the preparation of the compound of formula (A) is provided, comprising

- (a) obtaining an optionally protected of the formula (C):



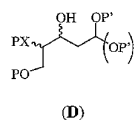
(C)

wherein each P is independently H or a suitable protecting group such as alkyl, acyl or silyl;

WO 03/000200

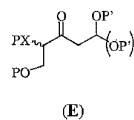
PCT/US02/20245

- (b) coupling the compound of formula (C) with an optionally protected acetaldehyde to obtain a compound of formula (D):

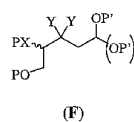


- 5 wherein each P' is independently a suitable oxygen protecting group such as alkyl, acyl or silyl;

- (c) oxidizing the compound of formula (D) to obtain a compound of formula (E):



- 10 (d) halogenating the compound of formula (E) to obtain a compound of formula (F):



wherein each Y is independently fluoro, chloro, bromo or iodo;

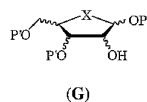
- 15 (e) selectively deprotecting, if necessary; cyclizing; and activating, if necessary, the compound of formula (F) to obtain a compound of formula (A).

Alternately, in another particular embodiment of the present invention, a process for the preparation of the compound of formula (A) is provided, comprising

WO 03/000200

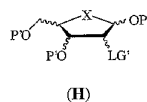
PCT/US02/20245

- (a) obtaining an optionally protected of the formula (G):



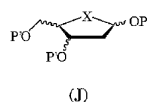
- 5 wherein each P and P' is independently a suitable oxygen protecting group such as alkyl, acyl or silyl;

- (b) activating the compound of formula (G) to obtain a compound of formula (H):

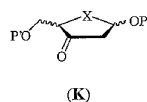


wherein LG' is a suitable leaving group, such as phenyl thionoformate;

- 10 (c) reducing the compound of formula (H) to obtain a compound of formula (J):

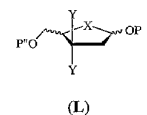


- (d) selectively deprotecting, if necessary, and oxidizing the compound of formula (J) to obtain a compound of formula (K):



15

- (f) halogenating the compound of formula (K) to obtain a compound of formula (L):



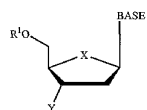
WO 03/000200

PCT/US02/20245

- (g) selectively deprotecting, if necessary, and activating the compound of formula (L) to obtain a compound of formula (A).

In one embodiment of the present invention, the compound of formula (I) can be reduced to obtain a compound of formula (V).

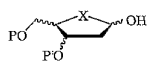
In particular, in a second embodiment of the present invention, a process for the preparation of a β -D or β -L, 3'-halonucleoside of the formula (V):



(V)

wherein Y, R¹ and BASE are as defined above; is provided, comprising

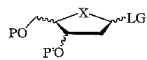
- (a) obtaining an optionally protected of the formula (M):



(M)

wherein each P and P' is independently a suitable oxygen protecting group such as alkyl, acyl or silyl;

- (b) activating the compound of formula (M) to obtain a compound of formula (N):



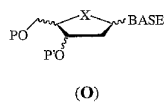
(N)

wherein LG is a suitable leaving group, such as OAcyl, and in particular OAc;

WO 03/000200

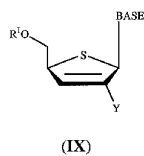
PCT/US02/20245

- (c) coupling the compound of formula (N) with a purine or pyrimidine base to obtain the compound of formula (O):



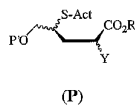
- 5 (d) selectively deprotecting, if necessary, and substituting with a halogen group to obtain the compound of formula (V).

In particular, in a third embodiment of the present invention, a process for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thionucleoside of the formula (IX):



wherein R', Y and BASE are as defined above; is provided, comprising

- (a) obtaining an optionally protected compound of the formula (P):



wherein P' is a suitable oxygen protecting group such as alkyl, acyl or silyl;

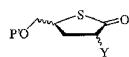
S-Act is an activated sulfur moiety, such as S-Acyl, and in particular S-Ac; and

OR is a suitable oxygen leaving group, such as O-Alkyl and in particular OMe or OEt;

WO 03/000200

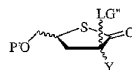
PCT/US02/20245

- (b) cyclizing the compound of formula (P) to obtain a compound of formula (Q):



(Q)

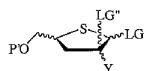
- (c) reacting the compound of formula (Q) with an electrophile to obtain a compound of formula (R):



(R)

wherein LG' is a suitable leaving group, such as phenyl selenium or phenylsulfide;

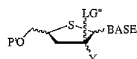
- (d) activating the compound of formula (R) to obtain a compound of formula (S):



(S)

wherein LG is a suitable leaving group, such as OAcyl, and in particular OAc;

- (e) coupling the compound of formula (S) with a purine or pyrimidine base to obtain a compound of formula (T):



(T)

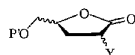
- (f) eliminating and optionally deprotecting, if necessary the compound of formula (T) to obtain the compound of formula (IX).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In a particular embodiment of the present invention, a process for the preparation of the compound of formula (P) is provided, comprising

- (a) obtaining an optionally protected of the formula (U):



(U)

wherein each P' is independently H or a suitable protecting group such as alkyl, acyl or silyl;

- (b) reacting the compound of formula (U) with an activated sulfur to obtain the compound of formula (P).

In one embodiment, the compound of formula (U) is first reacted with a nucleophilic halogen, such as iodine (optionally in the presence of triphenylphosphine), prior to reaction with the activated sulfur.

Alternately, in another particular embodiment of the present invention, the compound of formula (P) is obtained from an appropriately protected D- or L-Glutamic Acid. The D- or L-Glutamic acid can be purchased, which can then be converted to the thio derivative by means well known in the art. Examples of such protocol are Cervinka, O.; Hub, L. Asymmetric reactions. XXVII. Absolute configurations of γ -butyrolactone- γ -carboxylic acid and γ -valerolactone- γ -carboxylic acid. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1968**, *33*, 2927-2932; Hanessian, S.; Murray, P. J. Stereochemical control of nature's biosynthetic pathways: A general strategy for the synthesis of polypropionate-derived structural units from a single chiral progenitor. *Tetrahedron* **1987**, *43*, 5055-5072; Secrist III, J. A.; Riggs, R. H.; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A. Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2',3'-dideoxynucleosides. *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 533-538.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure 1 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -3'-fluoro-2',3'-unsaturated D-cytosine from D-glyceraldehyde, according to the present invention.

Figure 2 are two a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -3'-fluoro unsaturated L-nucleosides from L-xylose, and in particular β -3'-fluoro unsaturated L-cytosine (**2a**) and β -3'-fluoro unsaturated L-thymidine (**2b**), according to the present invention.

Figure 3 are nonlimiting illustrative examples of the synthesis of pyrimidine (**3a**) and purine (**3b**) β -D-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

Figure 4 are nonlimiting illustrative examples of the synthesis of pyrimidine (**4a**) and purine (**4b**) β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

Figure 5 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -D- and β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides from L- and D-glutamic acid, respectively, according to the present invention.

Figure 6 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of 2-deoxy-4-thio-sugars, according to the present invention.

Figure 7 are nonlimiting illustrative examples of the synthesis of 3-deoxy-4-thio-sugars, according to the present invention.

Figure 8 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -D-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

Figure 9 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -L-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

Figure 10 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -D-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

Figure 11 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -L-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Figure 12 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -D-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

Figure 13 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -L-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

5 **Figure 14** is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -D-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

Figure 15 is a nonlimiting illustrative example of the synthesis of β -L-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides, according to the present invention.

10 **Figure 16** are examples of dose-response curves for anti-HIV-1 activities of test compounds. Panel A: AZT; Panel B: 3TC; Panel C: compound **L-17**; Panel D: compound **23**. (◆) RT assay xxBRU; (■) Q-RT-PCR xxBRU; (▲) RT assay xxBRU-184V; (X) Q-RT-PCR xxBRU-184V. CPM/mL: counts per min/mL.

15 **Figure 17** is a non-limiting illustrative example of the time course of HBV induction in HepAD38 cells. (■) HBV DNA levels in medium from untreated cells; (◆) HBV DNA levels in medium from 3TC (10 μ M) treated cells. The differences in viral load are expressed as changes from the day 2 time-point (after removal of tetracycline from medium). The dotted line represents two sampling points on the same day.

20 **Figure 18** is a non-limiting example of the molecular modeling for β -D-2'-halo nucleosides. (a) Superimposed, geometry-optimized structures of D-2'-F-4'-Sd4C; (**17**) and D-2'-F-d4C; (b) Binding mode of D-2'-F-4'-Sd4C (**17**) to the active site of HIV-1 RT; (c) Energy minimized structure of D-2'-F-4'-Sd4C (**17**), complexed with the wild-type HIV-1 RT (left) and M184V mutant RT (right).

25 **Figure 19** is non-limiting example of the molecular modeling for β -L-2'-halo nucleosides. (a) Superimposed, geometry-optimized structures of β -L-2'-F-d4C and β -L-2'-F-4'-S-d4C; (b) The CPK structure showing interaction of β -L-2'-F-4'-S-d4CTP with Arg72; (c) The minimized structure of β -L-2'-F-4'-S-d4CTP after docking to the active site of HIV-1 reverse transcriptase; (d) The minimized structure of β -L-2'-F-d4CTP after docking to the active site of HIV-1 reverse transcriptase; (e) β -L-2'-F-4'-S-d4CTP/RT complex after mutation from M184 to V184 showing a steric hindrance between the

WO 03/000200

PCT/US02/20245

sugar moiety of β -L-2'F-4'S-d4CTP and the side chain of V184; and (f) β -D-2'F-d4CTP/RT complex after mutation showing no steric hindrance.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The invention as disclosed herein is method and composition for the treatment of HIV, hepatitis B or C, or abnormal cellular proliferation, in humans or other host animals, that includes administering an effective amount of a β -D- or β -L-2'-halonucleoside, a pharmaceutically acceptable derivative, including a compound which has been alkylated or acylated at the 5'-position or on the purine or pyrimidine, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier. The compounds of this invention either possess antiviral (i.e., anti-HIV-1, anti-HIV-2, anti-hepatitis B virus) activity or antiproliferative activity, or are metabolized to a compound that exhibits such activity. The invention as disclosed herein also includes the process for the preparation of such β -D- or β -L-2'-halonucleosides, as well as the process for the preparation of a β -D- or β -L-2'-halo-4'-thionucleoside.

In summary, the present invention includes the following features:

- (a) β -L and β -D-halonucleosides (I)-(VIII), as described herein, and pharmaceutically acceptable derivatives and salts thereof;
- (b) synthesis of the β -L and β -D-halonucleosides (I)-(VIII), as described herein, and pharmaceutically acceptable derivatives and salts thereof;
- (c) β -L and β -D-halonucleosides (I)-(VIII) as described herein, and pharmaceutically acceptable derivatives and salts thereof for use in medical therapy, for example for the treatment or prophylaxis of an HIV, hepatitis B (or C) virus infection or for the treatment of abnormal cellular proliferation;
- (d) pharmaceutical formulations comprising the β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, together with a pharmaceutically acceptable carrier or diluent;

WO 03/000200

PCT/US02/20245

- (e) pharmaceutical formulations comprising the β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, together with another active ingredient, such as another antiviral agent or antiproliferative agent;
- (f) methods to treat a host suffering from an HIV infection, hepatitis B virus infection or abnormal cellular proliferation, comprising administering an effective amount of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof;
- (g) methods to treat a host suffering from an HIV infection, hepatitis B virus infection or abnormal cellular proliferation, comprising administering an effective amount of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, in combination or alternation with another active ingredient, such as another antiviral agent or antiproliferative agent;
- (h) use of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, in medical therapy, for example for the treatment or prophylaxis of an HIV infection, an hepatitis B virus infection or an abnormal cellular proliferation;
- (f) use of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, as an antiviral;
- (g) use of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, as an antiproliferative;
- (h) use of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, in combination or alternation with another active ingredient, such as another antiviral agent or antiproliferative agent in medical therapy, for example for the treatment or prophylaxis of an HIV infection, an hepatitis B virus infection or abnormal cellular proliferation;
- (i) use of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, for treatment or prophylaxis of an HIV infection, an hepatitis B virus infection or abnormal cellular proliferation;
- (j) use of a β -D or β -L-halonucleoside (I)-(VIII), or its pharmaceutically acceptable derivative or salt thereof, in the manufacture of a medicament for treatment or

WO 03/000200

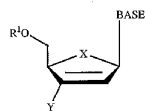
PCT/US02/20245

prophylaxis of an HIV infection, an hepatitis B virus infection or abnormal cellular proliferation; and

- (k) processes for the preparation of β -L and β -D-2'-halo-4'-thionucleosides, as described in more detail below.

5 **I. Active Compound**

In one embodiment of the invention, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (I):



(I)

- 10 or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

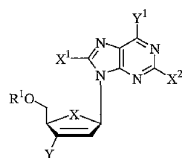
- 15 Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In a particular sub-embodiment of the invention, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (II):



(II)

5 or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X and Y are as defined above;

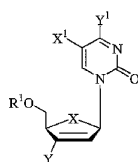
Y^1 is OR^2 , NR^2R^3 or SR^2 ;

X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen, OR^4 , NR^4R^5 or SR^4 ; and

10 R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene (in particular, dimethylaminomethylene), CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or

15 triphosphate, or a phosphate derivative.

In another sub-embodiment of the invention, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (III):



(III)

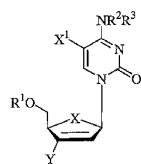
WO 03/000200

PCT/US02/20245

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X, Y, X^1 and Y^1 are as defined above.

In a particular sub-embodiment, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (IV):



(IV)

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X, Y, X^1 , R^2 and R^3 are as defined above.

10 In a preferred embodiment, X is O for the compounds of the formula (I) – (IV).

In an alternatively preferred embodiment, X is S for the compounds of the formula (I) – (IV).

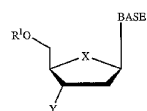
In a preferred embodiment, Y is F for the compounds of the formula (I) – (IV).

15 In one embodiment of the present invention, the compounds of the formula (I) – (IV) are in the β -D configuration. In an alternate embodiment of the present invention, the compounds of formula (I) – (IV) are in the β -L configuration.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In a second embodiment of the invention, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (V):

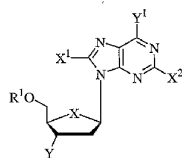


(V)

5 or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , Y and BASE are as defined above.

In a particular sub-embodiment of the invention, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VI):



(VI)

10

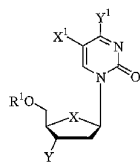
or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , Y, X^1 , X^2 and Y^1 are as defined above.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In another sub-embodiment of the invention, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VII):

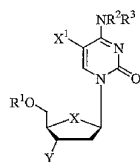


(VII)

5 or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X, Y, X^1 and Y^1 are as defined above.

In a particular sub-embodiment, the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VIII):



(VIII)

10

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X, Y, X^1 , R^2 and R^3 are as defined above.

In a preferred embodiment, X is O for the compounds of the formula (V) – (VIII).

15

In an alternatively preferred embodiment, X is S for the compounds of the formula (V) – (VIII).

In a preferred embodiment, Y is F for the compounds of the formula (V) – (VIII).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In one embodiment of the present invention, the compounds of the formula (V) – (VIII) are in the β -D configuration. In an alternate embodiment of the present invention, the compounds of formula (V) – (VIII) are in the β -L configuration.

In one important embodiment, the purine or pyrimidine base is provided in an alkylated (for example, lower alkyl, including cyclopropyl) or acylated (including but not limited to for example esterified or acetylated), form.

II. Definitions

The term alkyl, as used herein, unless otherwise specified, refers to a saturated straight, branched, or cyclic, primary, secondary, or tertiary hydrocarbon of C₁ to C₁₀, and specifically includes methyl, ethyl, propyl, isopropyl, cyclopropyl, butyl, isobutyl, *t*-butyl, pentyl, cyclopentyl, isopentyl, neopentyl, hexyl, isohexyl, cyclohexyl, cyclohexylmethyl, 3-methylpentyl, 2,2-dimethylbutyl, and 2,3-dimethylbutyl. The alkyl group can be optionally substituted with one or more moieties selected from the group consisting of hydroxyl, amino, alkylamino, arylamino, alkoxy, aryloxy, nitro, cyano, sulfonic acid, sulfate, phosphonic acid, phosphate, or phosphonate, either unprotected, or protected as necessary, as known to those skilled in the art, for example, as taught in Greene, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Second Edition, 1991, hereby incorporated by reference.

The term lower alkyl, as used herein, and unless otherwise specified, refers to a C₁ to C₄ saturated straight, branched, or if appropriate, a cyclic (for example, cyclopropyl) alkyl group.

The term alkylamino or arylamino refers to an amino group that has one or two alkyl or aryl substituents, respectively.

The term “protected” as used herein and unless otherwise defined refers to a group that is added to an oxygen, nitrogen, or phosphorus atom to prevent its further reaction or for other purposes. A wide variety of oxygen and nitrogen protecting groups are known to those skilled in the art of organic synthesis. The term aryl, as used herein, and unless otherwise specified, refers to phenyl, biphenyl, or naphthyl, and preferably phenyl. The aryl group can be optionally substituted with one or more moieties selected

WO 03/000200

PCT/US02/20245

from the group consisting of hydroxyl, amino, alkylamino, arylamino, alkoxy, aryloxy, nitro, cyano, sulfonic acid, sulfate, phosphonic acid, phosphate, or phosphonate, either unprotected, or protected as necessary, as known to those skilled in the art, for example, as taught in Greene, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Second Edition, 1991.

The term alkaryl or alkylaryl refers to an alkyl group with an aryl substituent. The term aralkyl or arylalkyl refers to an aryl group with an alkyl substituent.

The term halo, as used herein, includes chloro, bromo, iodo, and fluoro.

The term purine or pyrimidine base includes, but is not limited to, adenine, N⁶-alkylpurines, N⁶-acylpurines (wherein acyl is C(O)(alkyl, aryl, alkylaryl, or arylalkyl), N⁶-benzylpurine, N⁶-halopurine, N⁶-vinylpurine, N⁶-acetylenic purine, N⁶-acyl purine, N⁶-hydroxyalkyl purine, N⁶-thioalkyl purine, N²-alkylpurines, N²-alkyl-6-thiopurines, thymine, cytosine, 5-fluorocytosine, 5-methylcytosine, 6-azapyrimidine, including 6-azacytosine, 2- and/or 4-mercaptopyrimidine, uracil, 5-halouracil, including 5-fluorouracil, C⁵-alkylpyrimidines, C⁵-benzylpyrimidines, C⁵-halopyrimidines, C⁵-vinylpyrimidine, C⁵-acetylenic pyrimidine, C⁵-acyl pyrimidine, C⁵-hydroxyalkyl purine, C⁵-amidopyrimidine, C⁵-cyanopyrimidine, C⁵-nitropyrimidine, C⁵-aminopyrimidine, N²-alkylpurines, N²-alkyl-6-thiopurines, 5-azacytidinyl, 5-azauracilyl, triazolopyridinyl, imidazolopyridinyl, pyrrolopyrimidinyl, and pyrazolopyrimidinyl. Purine bases include, but are not limited to, guanine, adenine, hypoxanthine, 2,6-diaminopurine, 2-chloro-2-aminopurine, inosine, and 6-chloropurine. Functional oxygen and nitrogen groups on the base can be protected as necessary or desired. Suitable protecting groups are well known to those skilled in the art, and include trimethylsilyl, dimethylhexylsilyl, *t*-butyldimethylsilyl, and *t*-butyldiphenylsilyl, trityl, alkyl groups, acyl groups such as acetyl and propionyl, methanesulfonyl, and *p*-toluenesulfonyl.

The term acyl refers to a carboxylic acid ester in which the non-carbonyl moiety of the ester group is selected from straight, branched, or cyclic alkyl or lower alkyl, alkoxyalkyl including methoxymethyl, aralkyl including benzyl, aryloxyalkyl such as phenoxymethyl, aryl including phenyl optionally substituted with halogen, C₁ to C₄ alkyl or C₁ to C₄ alkoxy, sulfonate esters such as alkyl or aralkyl sulphonyl including

WO 03/000200

PCT/US02/20245

methanesulfonyl, the mono, di or triphosphate ester, trityl or monomethoxytrityl, substituted benzyl, trialkylsilyl (e.g. dimethyl-t-butylsilyl) or diphenylmethylsilyl. Aryl groups in the esters optimally comprise a phenyl group. Acyl can also include a natural or synthetic amino acid moiety.

5 As used herein, the term "substantially free of" or "substantially in the absence of" refers to a nucleoside composition that includes at least 95% to 98%, or more preferably, 99% to 100%, of the designated enantiomer of that nucleoside.

Similarly, the term "isolated" refers to a nucleoside composition that includes at least 85 or 90% by weight, preferably 95% to 98 % by weight, and even more preferably
10 99% to 100% by weight, of the nucleoside, the remainder comprising other chemical species or enantiomers.

The term host, as used herein, refers to a unicellular or multicellular organism in which the virus can replicate, including cell lines and animals, and preferably a human, or a unicellular or multicellular organism in which the conditions of abnormal cellular proliferation can be mimicked. For example, in the case of HIV, HBV or HCV, the host
15 is any unicellular or multicellular organism that can be carrying a part of the viral genome, whose replication or function can be altered by the compounds of the present invention. The term host specifically refers to infected cells, cells transfected with all or part of the viral genome and animals, in particular, primates (including chimpanzees) and
20 humans. In most animal applications of the present invention, the host is a human patient. Veterinary applications, in certain indications, however, are clearly anticipated by the present invention (such as chimpanzees).

The term "pharmaceutically acceptable salt or prodrug" is used throughout the specification to describe any pharmaceutically acceptable form (such as an ester, phosphate ester, salt of an ester, acylation or alkylation product or a related derivative) of
25 a nucleoside compound which, upon administration to a patient, provides the nucleoside compound. Pharmaceutically acceptable salts include those derived from pharmaceutically acceptable inorganic or organic bases and acids. Suitable salts include those derived from alkali metals such as potassium and sodium, alkaline earth metals
30 such as calcium and magnesium, among numerous other acids well known in the pharmaceutical art. Pharmaceutically acceptable prodrugs refer to a compound that is

WO 03/000200

PCT/US02/20245

metabolized, for example hydrolyzed or oxidized, in the host to form the compound of the present invention. Typical examples of prodrugs include compounds that have biologically labile protecting groups on a functional moiety of the active compound. Prodrugs include compounds that can be oxidized, reduced, aminated, deaminated, hydroxylated, dehydroxylated, hydrolyzed, dehydrolyzed, alkylated, dealkylated, acylated, deacylated, phosphorylated, dephosphorylated to produce the active compound. The compounds of this invention possess antiviral activity against flavivirus or pestivirus, or are metabolized to a compound that exhibits such activity.

III. Pharmaceutically Acceptable Derivatives

The active compound can be administered as any derivative that upon administration to the recipient, is capable of providing directly or indirectly, the parent compound. Further, the modifications can affect the biological activity of the compound, in some cases increasing the activity over the parent compound. This can easily be assessed by preparing the derivative and testing its antiviral activity according to the methods described herein, or other method known to those skilled in the art.

In cases where compounds are sufficiently basic or acidic to form stable nontoxic acid or base salts, administration of the compound as a pharmaceutically acceptable salt may be appropriate. Examples of pharmaceutically acceptable salts are organic acid addition salts formed with acids, which form a physiological acceptable anion, for example, tosylate, methanesulfonate, acetate, citrate, malonate, tartarate, succinate, benzoate, ascorbate, α -ketoglutarate, and α -glycerophosphate. Suitable inorganic salts may also be formed, including, sulfate, nitrate, bicarbonate, and carbonate salts.

Pharmaceutically acceptable salts may be obtained using standard procedures well known in the art, for example by reacting a sufficiently basic compound such as an amine with a suitable acid affording a physiologically acceptable anion. Alkali metal (for example, sodium, potassium or lithium) or alkaline earth metal (for example calcium) salts of carboxylic acids can also be made.

Any of the nucleosides described herein can be administered as a nucleotide prodrug to increase the activity, bioavailability, stability or otherwise alter the properties

WO 03/000200

PCT/US02/20245

of the nucleoside. A number of nucleotide prodrug ligands are known. In general, alkylation, acylation or other lipophilic modification of the mono, di or triphosphate of the nucleoside will increase the stability of the nucleotide. Examples of substituent groups that can replace one or more hydrogens on the phosphate moiety are alkyl, aryl, steroids, carbohydrates, including sugars, 1,2-diacylglycerol and alcohols. Many are described in R. Jones and N. Bischofberger, *Antiviral Research*, **27** (1995) 1-17. Any of these can be used in combination with the disclosed nucleosides to achieve a desired effect.

The active nucleoside can also be provided as a 5'-phosphoether lipid or a 5'-ether lipid, as disclosed in the following references, which are incorporated by reference herein: Kucera, L.S., N. Iyer, E. Leake, A. Raben, Modest E.K., D.L.W., and C. Piantadosi. 1990. "Novel membrane-interactive ether lipid analogs that inhibit infectious HIV-1 production and induce defective virus formation." *AIDS Res. Hum. Retro Viruses*. **6**:491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C.J., S.L. Morris-Natschke, K.L. Meyer, F. Gumus, J.R. Surles, K.S. Ishaq, L.S. Kucera, N. Iyer, C.A. Wallen, S. Piantadosi, and E.J. Modest. 1991. "Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV activity." *J. Med. Chem.* **34**:1408.1414; Hostetler, K.Y., D.D. Richman, D.A. Carson, L.M. Stuhmiller, G.M. T. van Wijk, and H. van den Bosch. 1992. "Greatly enhanced inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication in CEM and HT4-6C cells by 3'-deoxythymidine diphosphate dimyristoylglycerol, a lipid prodrug of 3'-deoxythymidine." *Antimicrob. Agents Chemother.* **36**:2025.2029; Hostetler, K.Y., L.M. Stuhmiller, H.B. Lenting, H. van den Bosch, and D.D. Richman, 1990. "Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides." *J. Biol. Chem.* **265**:61127.

Nonlimiting examples of U.S. patents that disclose suitable lipophilic substituents that can be covalently incorporated into the nucleoside, preferably at the 5'-OH position of the nucleoside or lipophilic preparations, include U.S. Patent Nos. 5,149,794 (Sep. 22, 1992, Yatvin et al.); 5,194,654 (Mar. 16, 1993, Hostetler et al., 5,223,263 (June 29, 1993, Hostetler et al.); 5,256,641 (Oct. 26, 1993, Yatvin et al.); 5,411,947 (May 2, 1995, Hostetler et al.); 5,463,092 (Oct. 31, 1995, Hostetler et al.); 5,543,389 (Aug. 6, 1996, Yatvin et al.); 5,543,390 (Aug. 6, 1996, Yatvin et al.); 5,543,391 (Aug. 6, 1996, Yatvin et al.); and 5,554,728 (Sep. 10, 1996; Basava et al.), all of which are incorporated herein

WO 03/000200

PCT/US02/20245

by reference. Foreign patent publications that disclose lipophilic substituents that can be attached to the nucleosides of the present invention, or lipophilic preparations, include WO 89/02733, WO 90/00555, WO 91/16920, WO 91/18914, WO 93/00910, WO 94/26273, WO 96/15132, EP 0 350 287, EP 93917054.4, and WO 91/19721.

- 5 Nonlimiting examples of nucleotide prodrugs are described in the following references: Ho, D.H.W. (1973) "Distribution of Kinase and deaminase of 1 β -D-arabinofuranosylcytosine in tissues of man and mouse." *Cancer Res.* **33**, 2816-2820; Holy, A. (1993) Isopolar phosphorous-modified nucleotide analogues," In: De Clercq (Ed.), *Advances in Antiviral Drug Design*, Vol. I, JAI Press, pp. 179-231; Hong, C.I.,
- 10 Nechaev, A., and West, C.R. (1979a) "Synthesis and antitumor activity of 1- β -D-arabino-furanosylcytosine conjugates of cortisol and cortisone." *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **88**, 1223-1229; Hong, C.I., Nechaev, A., Kirisits, A.J. Buchheit, D.J. and West, C.R. (1980) "Nucleoside conjugates as potential antitumor agents. 3. Synthesis and antitumor activity of 1-(β -D-arabinofuranosyl) cytosine conjugates of corticosteroids and selected lipophilic alcohols." *J. Med. Chem.* **28**, 171-177; Hosteller, K.Y.,
- 15 Stuhmiller, L.M., Lenting, H.B.M. van den Bosch, H. and Richman, D.D. (1991); "Phosphatidylazidothymidine: mechanism of antiretroviral action in CEM cells." *J. Biol. Chem.* **266**, 11714-11717; Hosteller, K.Y., Korba, B. Sridhar, C., Gardener, M. (1994a)
- 20 "Antiviral activity of phosphatidyl-dideoxycytidine in hepatitis B-infected cells and enhanced hepatic uptake in mice." *Antiviral Res.* **24**, 59-67; Hosteller, K.Y., Richman, D.D., Sridhar, C.N. Felgner, P.L. Felgner, J., Ricci, J., Gardener, M.F. Selleseth, D.W. and Ellis, M.N. (1994b) "Phosphatidylazidothymidine and phosphatidyl-ddC: Assessment of uptake in mouse lymphoid tissues and antiviral activities in human
- 25 immunodeficiency virus-infected cells and in raucher leukemia virus-infected mice." *Antimicrobial Agents Chemother.* **38**, 2792-2797; Hunston, R.N., Jones, A.A. McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J., and DeClercq, E. (1984) "Synthesis and biological properties of some cyclic phosphotriesters derived from 2'-deoxy-5-fluorouridine." *J. Med. Chem.* **27**, 440-444; Ji, Y.H., Moog, C., Schmitt, G., Bischoff, P. and Luu, B. (1990); "Monophosphoric acid esters of 7- β -hydroxycholesterol and of
- 30 pyrimidine nucleoside as potential antitumor agents: synthesis and preliminary evaluation of antitumor activity." *J. Med. Chem.* **33** 2264-2270; Jones, A.S., McGuigan,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

- C., Walker, R. T., Balzarini, J. and DeClercq, E. (1984) "Synthesis, properties, and biological activity of some nucleoside cyclic phosphoramidates." *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1471-1474; Juodka, B.A. and Smrt, J. (1974) "Synthesis of diribonucleoside phosph (P→N) amino acid derivatives." *Coll. Czech. Chem. Comm.* 39, 363-968;
- 5 Kataoka, S., Imai, J., Yamaji, N., Kato, M., Saito, M., Kawada, T. and Imai, S. (1989) "Alkylated cAMP derivatives; selective synthesis and biological activities." *Nucleic Acids Res. Sym. Ser.* 21, 1-2; Kataoka, S., Uchida, " (cAMP) benzyl and methyl triesters." *Heterocycles* 32, 1351-1356; Kinchington, D., Harvey, J.J., O'Connor, T.J., Jones, B.C.N.M., Devine, K.G., Taylor-Robinson D., Jeffries, D.J. and McGuigan, C. (1992)
- 10 "Comparison of antiviral effects of zidovudine phosphoramidate and diphosphorodiamidate derivatives against HIV and ULV *in vitro*." *Antiviral Chem. Chemother.* 3, 107-112; Kodama, K., Morozumi, M., Saithoh, K.I., Kuninaka, H., Yosino, H. and Saneyoshi, M. (1989) "Antitumor activity and pharmacology of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine -5'-stearylphosphate; an orally active derivative of 1-β-D-
- 15 arabinofuranosylcytosine." *Jpn. J. Cancer Res.* 80, 679-685; Korty, M. and Engels, J. (1979) "The effects of adenosine- and guanosine 3',5' phosphoric and acid benzyl esters on guinea-pig ventricular myocardium." *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 310, 103-111; Kumar, A., Goe, P.L., Jones, A.S. Walker, R. T. Balzarini, J. and DeClercq, E. (1990) "Synthesis and biological evaluation of some cyclic
- 20 phosphoramidate nucleoside derivatives." *J. Med. Chem.* 33, 2368-2375; LeBec, C., and Huynh-Dinh, T. (1991) "Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine an arabinocytidine as anticancer prodrugs." *Tetrahedron Lett.* 32, 6553-6556; Lichtenstein, J., Barner, H.D. and Cohen, S.S. (1960) "The metabolism of exogenously supplied nucleotides by *Escherichia coli*." *J. Biol. Chem.* 235, 457-465;
- 25 Luchty, J., Von Daeniken, A., Friederich, J. Manthey, B., Zweifel, J., Schlatter, C. and Benn, M.H. (1981) "Synthesis and toxicological properties of three naturally occurring cyanoepithioalkanes". *Mitt. Geg. Lebensmittelunters. Hyg.* 72, 131-133 (*Chem. Abstr.* 95, 127093); McGigan, C. Tollerfield, S.M. and Riley, P.a. (1989) "Synthesis and biological evaluation of some phosphate triester derivatives of the anti-viral drug Ara."
- 30 *Nucleic Acids Res.* 17, 6065-6075; McGuigan, C., Devine, K.G., O'Connor, T.J., Galpin, S.A., Jeffries, D.J. and Kinchington, D. (1990a) "Synthesis and evaluation of some novel phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) as anti-HIV compounds." *Antiviral Chem. Chemother.* 1 107-113; McGuigan, C., O'Connor, T.J.,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

- Nicholls, S.R., Nickson, C. and Kinchington, D. (1990b) "Synthesis and anti-HIV activity of some novel substituted dialkyl phosphate derivatives of AZT and ddCyd." *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 355-360; McGuigan, C., Nicholls, S.R., O'Connor, T.J., and Kinchington, D. (1990c) "Synthesis of some novel dialkyl phosphate derivative of 3'-modified nucleosides as potential anti-AIDS drugs." *Antiviral Chem. Chemother.* 1, 25-33; McGuigan, C., Devin, K.G., O'Connor, T.J., and Kinchington, D. (1991) "Synthesis and anti-HIV activity of some haloalkyl phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT); potent activity of the trichloroethyl methoxyalaninyl compound." *Antiviral Res.* 15, 255-263; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Balzarini, J. and DeClercq, E. (1993b) "Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT." *J. Med. Chem.* 36, 1048-1052.

- Alkyl hydrogen phosphate derivatives of the anti-HIV agent AZT may be less toxic than the parent nucleoside analogue. *Antiviral Chem. Chemother.* 5, 271-277; Meyer, R. B., Jr., Shuman, D.A. and Robins, R.K. (1973) "Synthesis of purine nucleoside 3', 5'-cyclic phosphoramidates." *Tetrahedron Lett.* 269-272; Nagyvary, J. Gohil, R.N., Kirchner, C.R. and Stevens, J.D. (1973) "Studies on neutral esters of cyclic AMP;" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 55, 1072-1077; Namane, A. Gouyette, C., Fillion, M.P., Fillion, G. and Huynh-Dinh, T. (1992) "Improved brain delivery of AZT using a glycosyl phosphotriester prodrug." *J. Med. Chem.* 35, 3039-3044; Nargeot, J. Nerbonne, J.M. Engels, J. and Leser, H.A. (1983) *Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80, 2395-2399; Nelson, K.A., Bentrude, W.G. Stser, W.N. and Hutchinson, J.P. (1987) "The question of chair-twist equilibria for the phosphate rings of nucleoside cyclic 3', 5' monophosphates. ¹HNMR and x-ray crystallographic study of the diastereomers of thymidine phenyl cyclic 3', 5'-monophosphate." *J. Am. Chem. Soc.* 109, 4058-4064; Nerbonne, J.M., Richard, S., Nargeot, J. and Lester, H.A. (1984) "New photoactivatable cyclic nucleotides produce intracellular jumps in cyclic AMP and cyclic GMP concentrations." *Nature* 301, 74-76; Neumann, J.M., Hervé, M., Debouzy, J.C., Guerra, F.I., Gouyette, C., Dupraz, B. and Huynh-Dinh, T. (1989) "Synthesis and transmembrane transport studies by NMR of a glucosyl phospholipid of thymidine." *J. Am. Chem. Soc.* 111, 4270-4277; Ohno, R., Tatsumi, N., Hirano, M., Imai, K. Mizoguchi, H., Nakamura, T., Kosaka, M., Takatuski, K., Yamaya, T., Toyama K., Yoshida, T., Masaoka, T., Hashimoto, S., Ohshima, T., Kimura, I., Yamada, K. and Kimura, J. (1991) "Treatment

WO 03/000200

PCT/US02/20245

- of myelodysplastic syndromes with orally administered 1- β -D-arabinouranosylcytosine - 5' stearylphosphate." *Oncology* 48, 451-455. Palomino, E., Kessle, D. and Horwitz, J.P. (1989) "A dihydropyridine carrier system for sustained delivery of 2', 3' dideoxynucleosides to the brain." *J. Med. Chem.* 32, 22-625; Perkins, R.M., Barney, S.
- 5 Wittrock, R., Clark, P.H., Levin, R. Lambert, D.M., Petteway, S.R., Serafinowska, H.T., Bailey, S.M., Jackson, S., Harnden, M.R. Ashton, R., Sutton, D., Harvey, J.J. and Brown, A.G. (1993) "Activity of BRL47923 and its oral prodrug, SB203657A against a rauscher murine leukemia virus infection in mice." *Antiviral Res.* 20 (Suppl. I). 84; Piantadosi, C., Marasco, C.J., Jr., Norris-Natschke, S.L., Meyer, K.L., Gumus, F., Surles, J.R., Ishaq,
- 10 K.S., Kucera, L.S. Iyer, N., Wallen, C.A., Piantadosi, S. and Modest, E.J. (1991) "Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV-1 activity." *J. Med. Chem.* 34, 1408-1414; Pompon, A., Lefebvre, L., Imbach, J.L., Kahn, S. and Farquhar, D. (1994). "Decomposition pathways of the mono- and bis(pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine-5'-monophosphate in cell extract and in
- 15 tissue culture medium; an application of the 'on-line ISRP-cleaning HPLC technique." *Antiviral Chem. Chemother.* 5, 91-98; Postemark, T., (1974) "Cyclic AMP and cyclic GMP." *Annu. Rev. Pharmacol.* 14, 23-33; Prisbe, E.J., Martin, J.C.M., McGhee, D.P.C., Barker, M.F., Smee, D.F. Duke, A.E., Matthews, T.R. and Verheyden, J.P.J. (1986) "Synthesis and antihherpes virus activity of phosphate an phosphonate derivatives of 9-
- 20 [(1, 3-dihydroxy-2-propoxy)methyl] guanine." *J. Med. Chem.* 29, 671-675; Pucch, F., Gosselin, G., Lefebvre, L., Pompon, a., Aubertin, A.M. Dirn, and Imbach, J.L. (1993) "Intracellular delivery of nucleoside monophosphate through a reductase-mediated activation process." *Antivral Res.* 22, 155-174; Pugaeva, V.P., Klochkeva, S.I., Mashbits, F.D. and Eizengart, R.S. (1969). "Toxicological assessment and health
- 25 standard ratings for ethylene sulfide in the industrial atmosphere." *Gig. Trf. Prof. Zabol.* 14, 47-48 (*Chem. Abstr.* 72, 212); Robins, R.K. (1984) "The potential of nucleotide analogs as inhibitors of Retro viruses and tumors." *Pharm. Res.* 11-18; Rosowsky, A., Kim, S.H., Ross and J. Wick, M.M. (1982) "Lipophilic 5'-(alkylphosphate) esters of 1- β -D-arabinofuranosylecytosine and its N⁴-acyl and 2.2'-anhydro-3'0-acyl derivatives as
- 30 potential prodrugs." *J. Med. Chem.* 25, 171-178; Ross, W. (1961) "Increased sensitivity of the walker turnout towards aromatic nitrogen mustards carrying basic side chains following glucose pretreatment." *Biochem. Pharm.* 8, 235-240; Ryu, E.K., Ross, R.J. Matsushita, T., MacCoss, M., Hong, C.I. and West, C.R. (1982). "Phospholipid-

WO 03/000200

PCT/US02/20245

nucleoside conjugates. 3. Synthesis and preliminary biological evaluation of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine 5' diphosphate [-], 2-diacylglycerols." *J. Med. Chem.* 25, 1322-1329; Saffhill, R. and Hume, W.J. (1986) "The degradation of 5-iododeoxyuridine and 5-bromoethoxyuridine by serum from different sources and its consequences for the use of these compounds for incorporation into DNA." *Chem. Biol. Interact.* 57, 347-355; Saneyoshi, M., Morozumi, M., Kodama, K., Machida, J., Kuninaka, A. and Yoshino, H. (1980) "Synthetic nucleosides and nucleotides. XVI. Synthesis and biological evaluations of a series of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine 5'-alkyl or arylphosphates." *Chem. Pharm. Bull.* 28, 2915-2923; Sastry, J.K., Nehete, P.N., Khan, S., Nowak, B.J., Plunkett, W., Arlinghaus, R.B. and Farquhar, D. (1992) "Membrane-permeable dideoxyuridine 5'-monophosphate analogue inhibits human immunodeficiency virus infection." *Mol. Pharmacol.* 41, 441-445; Shaw, J.P., Jones, R.J., Arimilli, M.N., Louie, M.S., Lee, W.A. and Cundy, K.C. (1994) "Oral bioavailability of PME_A from PME_A prodrugs in male Sprague-Dawley rats." *9th Annual AAPS Meeting*. San Diego, CA (Abstract). Shuto, S., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K., Matsuda, A. and Ueda, T. (1987) "A facile one-step synthesis of 5' phosphatidyl nucleosides by an enzymatic two-phase reaction." *Tetrahedron Lett.* 28, 199-202; Shuto, S., Itoh, H., Ueda, S., Imamura, S., Kukukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. and Ueda, T. (1988) *Pharm. Bull.* 36, 209-217. An example of a useful phosphate prodrug group is the S-acyl-2-thioethyl group, also referred to as "SATE".

IV. Combination and Alternation Therapy for HIV or HBV

It has been recognized that drug-resistant variants of HIV and HBV can emerge after prolonged treatment with an antiviral agent. Drug resistance most typically occurs by mutation of a gene that encodes for an enzyme used in viral replication, and most typically in the case of HIV, reverse transcriptase, protease, or DNA polymerase, and in the case of HBV, DNA polymerase. Recently, it has been demonstrated that the efficacy of a drug against HIV infection can be prolonged, augmented, or restored by administering the compound in combination or alternation with a second, and perhaps third, antiviral compound that induces a different mutation from that caused by the principle drug. Alternatively, the pharmacokinetics, biodistribution, or other parameter

WO 03/000200

PCT/US02/20245

of the drug can be altered by such combination or alternation therapy. In general, combination therapy is typically preferred over alternation therapy because it induces multiple simultaneous stresses on the virus.

The second antiviral agent for the treatment of HIV, in one embodiment, can be a reverse transcriptase inhibitor (a "RTI"), which can be either a synthetic nucleoside (a "NRTI") or a non-nucleoside compound (a "NNRTI"). In an alternative embodiment, in the case of HIV, the second (or third) antiviral agent can be a protease inhibitor. In other embodiments, the second (or third) compound can be a pyrophosphate analog, or a fusion binding inhibitor. A list compiling resistance data collected *in vitro* and *in vivo* for a number of antiviral compounds is found in Schinazi, et al, Mutations in retroviral genes associated with drug resistance, *International Antiviral News*, 1997.

Preferred compounds for combination or alternation therapy for the treatment of HBV include 3TC, FTC, L-FMAU, interferon, β -D-dioxolanyl-guanine (DXG), β -D-dioxolanyl-2,6-diaminopurine (DAPD), and β -D-dioxolanyl-6-chloropurine (ACP), famciclovir, penciclovir, BMS-200475, bis pom PME A (adefovir, dipivoxil); lobucavir, ganciclovir, and ribavarin.

Preferred examples of antiviral agents that can be used in combination or alternation with the compounds disclosed herein for HIV therapy include cis-2-hydroxymethyl-5-(5-fluorocytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (FTC); the (-)-enantiomer of 2-hydroxymethyl-5-(cytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (3TC); carbovir, acyclovir, foscarnet, interferon, AZT, DDI, DDC, D4T, CS-87 (3'-azido-2',3'-dideoxy-uridine), and β -D-dioxolane nucleosides such as β -D-dioxolanyl-guanine (DXG), β -D-dioxolanyl-2,6-diaminopurine (DAPD), and β -D-dioxolanyl-6-chloropurine (ACP), MKC-442 (6-benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyl uracil).

Preferred protease inhibitors include crixivan (Merck), nelfinavir (Agouron), ritonavir (Abbott), saquinavir (Roche), DMP-266 (Sustiva) and DMP-450 (DuPont Merck).

A more comprehensive list of compounds that can be administered in combination or alternation with any of the disclosed nucleosides include (1S,4R)-4-[2-amino-6-cyclopropyl-amino)-9H-purin-9-yl]-2-cyclopentene-1-methanol succinate ("1592", a carbovir analog; GlaxoWellcome); 3TC: (-)- β -L-2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine

WO 03/000200

PCT/US02/20245

(GlaxoWellcome); a-APA R18893: a-nitro-anilino-phenylacetamide; A-77003: C2 symmetry-based protease inhibitor (Abbott); A-75925: C2 symmetry-based protease inhibitor (Abbott); AAP-BHAP: bishetero-arylpiperazine analog (Upjohn); ABT-538: C2 symmetry-based protease inhibitor (Abbott); AzddU: 3'-azido-2',3'-dideoxyuridine; AZT: 3'-azido-3'-deoxythymidine (GlaxoWellcome); AZT-p-ddI: 3'-azido-3'-deoxythymidyl-(5',5')-2',3'-dideoxyinosinic acid (Ivax); BHAP: bisheteroaryl-piperazine; BILA 1906: N-{1S-[[[3-[2S-[(1,1-dimethylethyl)amino]carbonyl]-4R]-3-pyridinylmethyl]thio]-1-piperidinyl]-2R-hydroxy-1S-(phenylmethyl)-propyl]amino]-carbonyl]-2-methylpropyl}-2-quinolinecarboxamide (Bio Mega/Boehringer-Ingelheim); BILA 2185: N-(1,1-dimethylethyl)-1-[2S-[[2-2,6-dimethylphenoxy]-1-oxoethyl]amino]-2R-hydroxy-4-phenylbutyl]4R-pyridinylthio)-2-piperidinecarboxamide (BioMega/Boehringer-Ingelheim); BM+51.0836: thiazolo-iso-indolinone derivative; BMS 186,318: aminodiol derivative HIV-1 protease inhibitor (Bristol-Myers-Squibb); d4API: 9-[2,5-dihydro-5-(phosphonomethoxy)-2-furan]adenine (Gilead); d4C: 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxycytidine; d4T: 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine (Bristol-Myers-Squibb); ddC: 2',3'-dideoxycytidine (Roche); ddI: 2',3'-dideoxyinosine (Bristol-Myers-Squibb); DMP-266: a 1,4-dihydro-2H-3, 1-benzoxazin-2-one; DMP-450: {[4R-(4-a,5-a,6-b,7-b)]-hexahydro-5,6-bis(hydroxy)-1,3-bis(3-amino)phenyl]-methyl}-4,7-bis-(phenylmethyl)-2H-1,3-diazepin-2-one}-bismesylate (Avid); DXG:(-)-β-D-dioxolane-guanosine (Triangle); EBU-dM: 5-ethyl-1-ethoxymethyl-6-(3,5-dimethylbenzyl)-uracil; E-EBU: 5-ethyl-1-ethoxymethyl-6-benzyluracil; DS: dextran sulfate; E-EPSeU: 1-(ethoxymethyl)-(6-phenylselenyl)-5-ethyluracil; E-EPU: 1-(ethoxymethyl)-(6-phenylthio)-5-ethyluracil; FTC: β-2',3'-dideoxy-5-fluoro-3'-thiacytidine (Triangle); HBY097: S-4-isopropoxy-carbonyl-6-methoxy-3-(methylthio-methyl)-3,4-dihydroquinoxalin-2(1H)-thione; HEPT: 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymine; HIV-1: human immunodeficiency virus type 1; JM2763: 1,1'-(1,3-propanediyl)-bis-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane (Johnson Matthey); JM3100: 1,1'-[1,4-phenylenebis-(methylene)]-bis-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane (Johnson Matthey); KNI-272: (2S,3S)-3-amino-2-hydroxy-4-phenylbutyric acid-containing tripeptide; L-697,593: 5-ethyl-6-methyl-3-(2-phthalimido-ethyl)pyridin-2(1H)-one; L-735,524: hydroxy-amino-pentane amide HIV-1 protease inhibitor (Merck); L-697,661: 3-[[(-4,7-dichloro-1,3-benzoxazol-2-yl)methyl]amino]-5-ethyl-6-methylpyridin-2(1H)-one; L-FDDC: (-)-β-L-5-fluoro-2',3'-dideoxycytidine; L-FDOC: (-)-β-L-5-fluoro-dioxolane cytosine; MKC442: 6-benzyl-1-

WO 03/000200

PCT/US02/20245

ethoxymethyl-5-isopropyluracil (I-EBU; Triangle/Mitsubishi); Nevirapine:11-cyclopropyl-5,11-dihydro-4-methyl-6H-dipyridol-[3,2-b:2',3'-e]-diazepin-6-one (Boehringer-Ingelheim); NSC648400:1-benzoyloxymethyl-5-ethyl-6-(alpha-pyridylthio)uracil (E-BPTU); P9941: [2-pyridylacetyl-IlePheAla-y(CHOH)]₂ (Dupont Merck); PFA: 5 phosphonoformate (foscamet; Astra); PME: 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine (Gilead); PMPA: (R)-9-(2-phosphonylmethoxypropyl)adenine (Gilead); Ro 31-8959: hydroxyethylamine derivative HIV-1 protease inhibitor (Roche); RPI-312: peptidyl protease inhibitor, 1-[(3s)-3-(n-alpha-benzoyloxycarbonyl)-l-asparaginyl]-amino-2-hydroxy-4-phenylbutyryl]-n-tert-butyl-l-proline amide; 2720: 6-chloro-3,3-dimethyl-4-(isopropenyloxycarbonyl)-3,4-dihydro-quinoxalin-2-(1H)-thione; SC-52151: hydroxyethylurea isostere protease inhibitor (Searle); SC-55389A: hydroxyethyl-urea isostere protease inhibitor (Searle); TIBO R82150: (+)-(5S)-4,5,6,7-tetrahydro-5-methyl-6-(3-methyl-2-butenyl)imidazo[4,5,1-jk][1,4]-benzodiazepin-2(1H)-thione (Janssen); TIBO 82913: (+)-(5S)-4,5,6,7-tetrahydro-9-chloro-5-methyl-6-(3-methyl-2-butenyl)imidazo-[4,5,1-jk]-[1,4]benzo-diazepin-2(1H)-thione (Janssen); TSAO-m3T:[2',5'-bis-O-(tert-butylidimethylsilyl)-3'-spiro-5'-(4'-amino-1',2'-oxathiole-2',2'-dioxide)]-β-D-pentofuranosyl-N3-methylthymine; U90152:1-[3-[(1-methylethyl)-amino]-2-pyridinyl]-4-[[5-[(methylsulphonyl)-amino]-1H-indol-2-yl]carbonyl]piperazine; UC: thiocarboxanilide derivatives (Uniroyal); UC-781: N-[4-chloro-3-(3-methyl-2-butenyloxy)phenyl]-2-methyl-3-furancarbothioamide; UC-82: N-[4-chloro-3-(3-methyl-2-butenyloxy)phenyl]-2-methyl-3-thiophenecarbothioamide; VB 11,328: hydroxyethyl-sulphonamide protease inhibitor (Vertex); VX-478:hydroxyethylsulphonamide protease inhibitor (Vertex); XM 323: cyclic urea protease inhibitor (Dupont Merck).

The active compound can also be administered in combination or alternation with ribavirin, interferon, interleukin or a stabilized prodrug of any of them. More broadly described, the compound can be administered in combination or alternation with any of the drugs listed below.

Table of Hepatitis C Drugs in Current Clinical Development

Drug Name	Drug Category	Pharmaceutical Company

WO 03/000200

PCT/US02/20245

PEGASYS pegylated interferon alfa 2a	Long acting interferon	Roche
INFERGEN interferon alfacon-1	Interferon, Long acting interferon	InterMune
OMNIFERON natural interferon	Interferon, Long acting interferon	Viragen
ALBUFERON	Longer acting interferon	Human Genome Sciences
REBIF interferon beta-1a	Interferon	Ares-Serono
Omega Interferon	Interferon	BioMedicine
Oral Interferon alpha	Oral Interferon	Amarillo Biosciences
Interferon gamma-1b	Anti-fibrotic	InterMune
Interleukin-10	Anti-fibrotic	Schering-Plough
IP-501	Anti-fibrotic	Interneuron
Merimebodin VX-497	IMPDH inhibitor (inosine monophosphate dehydrogenase)	Vertex
AMANTADINE (Symmetrel)	Broad Antiviral Agent	Endo Labs Solvay
HEPTAZYME	RNA inhibitor using Ribozymes	RPI
IDN-6556	Apoptosis regulation	Idun Pharma
XTL-002	Monoclonal Antibody	XTL
HCV/MF59	Vaccine	Chiron

WO 03/000200

PCT/US02/0245

CIVACIR	Polyclonal Antibody	NABI
	Therapeutic vaccine	Innogenetics
LEVOVIRIN	Nucleoside Analogue	ICN
VIRAMIDINE	Nucleoside Analogue	ICN
ZADAXIN (thymosin α -1)	Immunomodulator	Sci Clone
CEPLENE histamine dihydrochloride	Immunomodulator	Maxim
VX 950 / LY 570310	Protease Inhibitor	Vertex/ Eli Lilly
ISIS 14803	Antisense	Isis Pharmaceutical / Elan
IDN-6556	Caspase inhibitor	Idun Pharmaceuticals, Inc. http://www.idun.com
JTK 003	Polymerase Inhibitor	AKROS Pharma

V. Combination Therapy for the Treatment of Proliferative Conditions

In another embodiment, the compounds, when used as an antiproliferative, can be administered in combination with another compound that increases the effectiveness of the therapy, including but not limited to an antifolate, a 5-fluoropyrimidine (including 5-fluorouracil), a cytidine analogue such as β -L-1,3-dioxolanyl cytidine or β -L-1,3-dioxolanyl 5-fluorocytidine, antimetabolites (including purine antimetabolites, cytarabine, fudarabine, floxuridine, 6-mercaptopurine, methotrexate, and 6-thioguanine), hydroxyurea, mitotic inhibitors (including CPT-11, Etoposide (VP-21), taxol, and vinca alkaloids such as vincristine and vinblastine, an alkylating agent (including but not limited to busulfan, chlorambucil, cyclophosphamide, ifofamide, mechlorethamine,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

melphalan, and thiotepa), nonclassical alkylating agents, platinum containing compounds, bleomycin, an anti-tumor antibiotic, an anthracycline such as doxorubicin and dannomycin, an anthracenedione, topoisomerase II inhibitors, hormonal agents (including but not limited to corticosteroids (dexamethasone, prednisone, and methylprednisone), androgens such as fluoxymesterone and methyltestosterone, 5 estrogens such as diethylstilbesterol, antiestrogens such as tamoxifen, LHRH analogues such as leuprolide, antiandrogens such as flutamide, aminoglutethimide, megestrol acetate, and medroxyprogesterone), asparaginase, carmustine, lomustine, hexamethylmelamine, dacarbazine, mitotane, streptozocin, cisplatin, carboplatin, levamisole, and 10 leucovorin. The compounds of the present invention can also be used in combination with enzyme therapy agents and immune system modulators such as an interferon, interleukin, tumor necrosis factor, macrophage colony-stimulating factor and colony stimulating factor.

VI. Process for the Preparation of Active Compounds

15 **A. Method for the preparation of β -3'-halo-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-nucleosides**

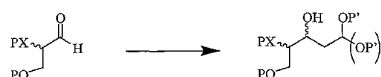
From Glyceraldehyde

The key starting material for this process is an appropriately protected D- or L-glyceraldehyde. The D- or L-glyceraldehyde, or its sulfur analog can be purchased, which can then be protected using standard ketones. In one embodiment, the D- or L-glyceraldehyde, or its sulfur analog, is protected using acetone as taught in Greene, *et al.*, 20 Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Second Edition, 1991.

The protected glyceraldehyde, or its sulfur analog, can then be coupled with a nucleophilic acetaldehyde that is appropriately protected, for example an appropriately protected organometallic reagent, to give the alcohol, as shown below. The organometallic reagent can be derived from any viable metal, such as lithium, copper or 25 magnesium, though most preferably magnesium. In a preferred embodiment, the appropriately protected nucleophilic acetaldehyde is (1,3-dioxolan-2-ylmethyl)magnesium bromide.

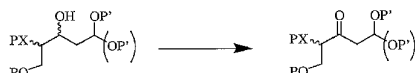
WO 03/000200

PCT/US02/20245



Any reaction solvent can be selected that can achieve the necessary temperature and that can solubilize the reaction components. Nonlimiting examples are any aprotic solvent including, but not limiting to, alkyl solvents such as hexane and cyclohexane, toluene, acetone, ethyl acetate, dithianes, THF, dioxane, acetonitrile, dichloromethane, dichloroethane, diethyl ether, pyridine, dimethylformamide (DMF), dimethylsulfoxide (DMSO), dimethylacetamide or any combination thereof, preferably anhydrous THF.

The coupling reaction can be carried out at any temperature that achieves the desired results, i.e., that is suitable for the reaction to proceed at an acceptable rate without promoting decomposition or excessive side products. Preferred temperatures are refluxing conditions using THF.



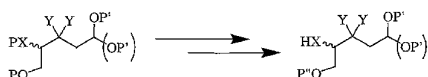
The coupled product, can then be oxidized to the appropriate ketone using any oxidation method to oxidize secondary alcohols to ketones known to those skilled in the art. Examples of suitable oxidative methodologies include the chromate oxidations, manganate and permanganate oxidations, oxidation with Jones reagent, oxidation with Collins reagent, oxidation with Corey's reagent, Oppenauer oxidation and the Swern oxidation, though preferably using the mild conditions of the Swern oxidation.



The ketone can be halogenated using any known halogenating agent in the art appropriate for dihalogenation. In a particular embodiment, the fluorinated product is desired, therefore, the fluorination can be achieved using (diethylamino)sulfur trifluoride (DAST). After halogenation, the compound can be selectively deprotected.

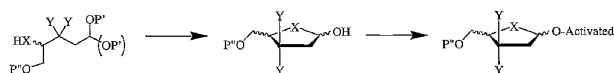
WO 03/000200

PCT/US02/20245

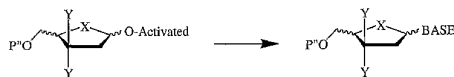


The selective deprotection can be achieved using any means known in the art, including those taught in Greene, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Second Edition, 1991. For instance, when X is O, the deprotected primary hydroxyl can then be selectively reprotected over the secondary hydroxyl using mild conditions as described in Greene, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Second Edition, 1991.

The selectively protected product can be cyclized under acidic conditions (i.e. deprotecting the aldehyde, and coupling with the secondary alcohol), optionally followed by activation of the resulting secondary alcohol. For example, a 1M solution of HCl, followed by a treatment of concentration sulfuric acid and acetic acid with acetic anhydride is sufficient to cyclize the compound and activate the resulting alcohol into an acetate.



The activated cyclized product can then be coupled to the purine or pyrimidine base using any means known in the art, to obtain a protected β -D or β -L-3',3'-dihalonucleoside. For example, an activated purine or pyrimidine base, preferably via silylation of the base, is coupled to the ring using a Lewis acid, such as tin tetrachloride and titanium tetrachloride, or trimethylsilyl triflate.

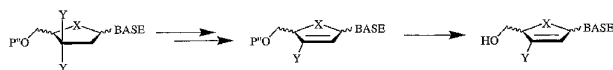


The β -D or β -L-3',3'-dihalonucleoside can then be optionally protected by any means known in the art, then one of the halogens can be eliminated by any means known in the art, or disclosed herein in the examples, to obtain the desired β -2',3'-dideoxy-

WO 03/000200

PCT/US02/20245

2',3'-didehydro-halo-nucleoside. Finally, the 5'-hydroxyl can be deprotected by any means known in the art.

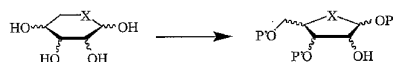


5

From a Sugar Ring

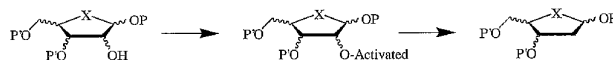
The key starting material for this process is an appropriately protected 5-carbon D- or L-sugar ring, or its sulfur analog. The D- or L-sugar, or its sulfur analog can be purchased as a pyranose or a furanose, preferably as a furanose. However, if the sugar is a pyranose, the 4' and 5' can be selectively protected to give the furanose, as taught in Ma et al., *J. Med. Chem.* **1996**, 39 (14), 2835 and Cooperwood et al. *Nucleosides Nucleotides* **2000**, 19 (1&2), 219.

10



The protected furanose, or its sulfur analog, can then be activated to give an activated hydroxyl, which can then be eliminated.

15

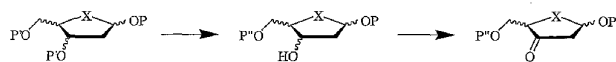


20

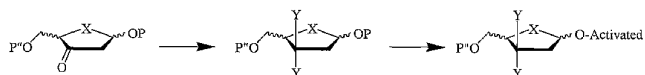
The dehydro product can then be selectively deprotected to give the free secondary hydroxyl, which can then be oxidized to the appropriate ketone using any oxidation method to oxidize secondary alcohols to ketones known to those skilled in the art. Examples of suitable oxidative methodologies include the chromate oxidations, manganate and permanganate oxidations, oxidation with Jones reagent, oxidation with Collins reagent, oxidation with Corey's reagent, Oppenauer oxidation and the Swern oxidation, though preferably using chromic anhydride.

WO 03/000200

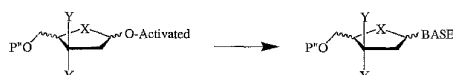
PCT/US02/20245



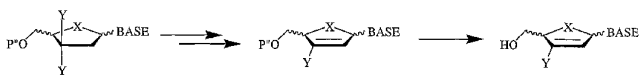
The ketone can be halogenated using any known halogenating agent in the art appropriate for dihalogenation. In a particular embodiment, the fluorinated product is desired, therefore, the fluorination can be achieved using DAST. After halogenation, the compound can be selectively deprotected and activated, preferably in one-pot.



The activated cyclized product can then be coupled to the purine or pyrimidine base using any means known in the art, to obtain a protected β -D or β -L-3',3'-dihalonucleoside. For example, an activated purine or pyrimidine base, preferably via silylation of the base, is coupled to the ring using a Lewis acid, such as tin tetrachloride and titanium tetrachloride, or trimethylsilyl triflate.



The β -D or β -L-3',3'-dihalonucleoside can then be optionally protected by any means known in the art, then one of the halogens can be eliminated by any means known in the art, or disclosed herein in the examples, to obtain the desired β -2',3'-dideoxy-2',3'-dideoxy-halo-nucleoside. Finally, the 5'-hydroxyl can be deprotected by any means known in the art.



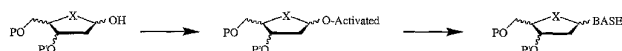
WO 03/000200

PCT/US02/0245

B. Method for the preparation of β -3'-halo-nucleosides**From the Lactol**

The key starting material for this process is an appropriately protected D- or L-lactol. The D- or L-lactol can be purchased or made by any means known in the art. In one embodiment, the thiolactol is desired, which can be made using the protocol set forth by Secrist III, J. A.; Tiwari, K. N.; Riordan, J. M.; Montgomery, J. A. Synthesis and biological activity of 2'-deoxy-4'-thio pyrimidine nucleosides, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2361-2366; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A.; Secrist III, J. A. The synthesis and biological activity of 1-(2-deoxy-4-thio- α -L-threo-pentofuranosyl)thymine, *Nucleosides & Nucleotides*, **1993**, *12*(8), 841-846.

The lactol can then be activated and coupled to the to the purine or pyrimidine base using any means known in the art, to obtain a protected β -D or β -L-3',3'-dihalonucleoside. For example, an activated purine or pyrimidine base, preferably via silylation of the base, is coupled to the ring using a Lewis acid, such as tin tetrachloride and titanium tetrachloride, or trimethylsilyl triflate.



The β -D or β -L-nucleoside can then be optionally deprotected, and the secondary alcohol can be substituted with the appropriate halogen by any means known in the art or methodology set forth herein.



WO 03/000200

PCT/US02/20245

C. Method for the preparation of β -2'-halo-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothionucleosides

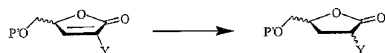
From Glyceraldehyde

5 The key starting material for this process is an appropriately protected D- or L-glyceraldehyde. The D- or L-glyceraldehyde can be purchased, which can then be protected using standard ketones. In one embodiment, the D- or L-glyceraldehyde is protected using acetone as taught in Greene, *et al.*, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Second Edition, 1991.

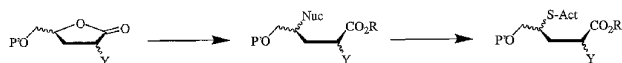
10 The protected glyceraldehyde can then be coupled and cyclized by means well known in the art, or methods disclosed herein. For example, the cyclized compound can be made according to the procedure set for in Chong, Y.; Gumina, G.; Chu, C. K. *Tetrahedron Asymmetry*. **2000**, *11*, 4853-4875.



15 The cyclized product can then be selectively reduced, using any known reducing agent in the art to give the 2',3'-hydro product. For example, the lactone can be selectively reduced using palladium on carbon.



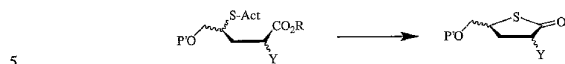
20 The reduced product can then be decyclized via a selective nucleophilic attack on the 4'-position of the lactone, for example, with iodine in the presence of triphenylphosphine and imidazole. The nucleophile can then be substituted with a nucleophilic sulfur by a simple substitution reaction known in the art, preferably with a sulfide such as KSAc.



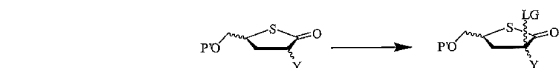
WO 03/000200

PCT/US02/20245

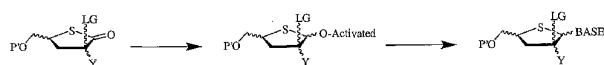
The resulting activated ester can then be reduced using any viable reducing agent known in the art, such as DIBAL-H, optionally activated, such as with an anhydride to give an acyl moiety (for example using acetic anhydride) and cyclized to give the thiolactone.



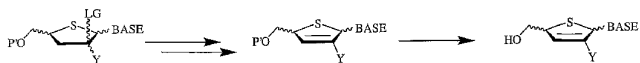
The thiolactone can then be enolized with a strong base, such as LiHMDS, and coupled to an electrophile (LG), which upon simple manipulation can be easily eliminated. Such moieties include phenylselenium and phenylsulfide.



15 The thiolactone can then be reduced with any known reducing agent known in the art, such as with DIBAL-H, optionally activated, such as with an anhydride to give an acyl moiety (for example using acetic anhydride) and coupled to the purine or pyrimidine base using any means known in the art, to obtain a protected β -D or β -L-3',3'-dihalonucleoside. For example, an activated purine or pyrimidine base, preferably via silylation of the base, is coupled to the ring using a Lewis acid, such as tin tetrachloride and titanium tetrachloride, or trimethylsilyl triflate.



After coupling the thiolactone to the base, the LG is manipulated, i.e. in the case of phenylselenium is oxidized with an oxidizing agent, such as mCPBA, and eliminated to give the protected β -2'-halo-2',3'-dideoxy-2',3'-didehydro-thionucleosides, which can be optionally deprotected by any means known in the art.



WO 03/000200

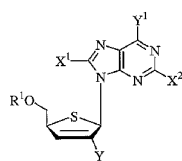
PCT/US02/20245

From Glutamic Acid

The key starting material for this process is an appropriately protected D- or L-Glutamic Acid. The D- or L-Glutamic Acid can be purchased, which can then be converted to the thio derivative by means well known in the art. Examples of such protocol are Cervinka, O.; Hub, L. Asymmetric reactions. XXVII. Absolute configurations of γ -butyrolactone- γ -carboxylic acid and γ -valerolactone- γ -carboxylic acid. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1968**, 33, 2927-2932; Hanessian, S.; Murray, P. J. Stereochemical control of nature's biosynthetic pathways: A general strategy for the synthesis of polypropionate-derived structural units from a single chiral progenitor. *Tetrahedron* **1987**, 43, 5055-5072; Secrist III, J. A.; Riggs, R. H.; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A. Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2',3'-dideoxynucleosides. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 533-538.



In a particular sub-embodiment of the invention, the process for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thionucleoside is for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thiopurine of the formula (X):



(X)

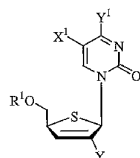
or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , Y , X^1 , X^2 and Y^1 are as defined above.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In another sub-embodiment of the invention, the process for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thionucleoside is for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thiopyrimidine of the formula (XI):

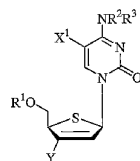


(XI)

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , Y, X^1 and Y^1 are as defined above.

In a particular sub-embodiment, the process for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thionucleoside is for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thiocytidine of the formula (XII):



(XII)

or its enantiomer, or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug, wherein

R^1 , X, Y, X^1 , R^2 and R^3 are as defined above.

In a preferred embodiment, Y is F for the compounds of the formula (IX) – (XII).

In an alternatively preferred embodiment, Y is F for the compounds of the formula (IX) – (XII).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The β -halonucleosides depicted above are in the β -D configuration, however, it should be understood that the β -halonucleosides can be either in the β -L or β -D configuration.

In one embodiment of the present invention, the compounds of the formula (IX) – (XII) are in the β -D configuration. In an alternate embodiment of the present invention, the compounds of formula (IX) – (XII) are in the β -L configuration.

The following working examples provide a further understanding of the method of the present invention. These examples are of illustrative purpose, and are not meant to limit the scope of the invention. Equivalent, similar, or suitable solvents, reagents or reaction conditions may be substituted for those particular solvents, reagents, or reaction conditions described herein without departing from the general scope of the method of synthesis.

EXAMPLES

Melting points were determined on a Mel-temp II apparatus and are uncorrected. NMR spectra were recorded on a Bruker 400 AMX spectrometer at 400 MHz for ^1H NMR and 100 MHz for ^{13}C NMR with TMS as internal standard. Chemical shifts (δ) are reported in parts per million (ppm), and signals are reported as s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), m (multiplet), or bs (broad singlet). IR spectra were measured on a Nicolet 510P FT-IR spectrometer. Mass spectra were recorded on a Micromass Autospec high-resolution mass spectrometer. TLC were performed on Uniplates (silica gel) purchased from Analtech Co. Column chromatography was performed using either silica gel-60 (220-440 mesh) for flash chromatography or silica gel G (TLC grade, > 440 mesh) for vacuum flash column chromatography. UV spectra were obtained on a Beckman DU 650 spectrophotometer. Elemental analysis was performed by Atlantic Microlab, Inc., Norcross, GA, or Galbraith Laboratories, Inc., Knoxville, TN. HPLC was performed with a Waters HPLC system (Millipore Corporation, Milford, MA) equipped with a Model 600 controller, a Model 996 photodiode array detector and a

WO 03/000200

PCT/US02/0245

Model 717 plus autosampler. Millennium 2010 software was used for system control, data acquisition and processing. A chiralyser polarimetric detector, Perkin-Elmer Model 241MC polarimeter (Wilton, CT), was used for the determination of optical rotations.

Example 1

5 1-[(S)-2,2-Dimethyl-(1,3)-dioxolan-4-yl]-4-(1,3-dioxolan-2-yl)-2-ol (2, Figure 1)

To a solution of (1,3-dioxolan-2-ylmethyl)-magnesium bromide (0.5 M in THF, 325 mL, 162.5 mmol) at 60°C was added a solution of D-glyceraldehyde (19.1 g, 147 mmol) in THF (100 mL) dropwise for 45 minutes. The resulting solution was stirred for another hour and then moved to an ice/water bath, followed by treatment with saturated ammonium chloride aqueous solution. The reaction mixture was extracted thoroughly by diethyl ether. The organic layer was dried over MgSO₄. After removal of solvent, the residue was purified by flash silica gel column (35% EtOAc/Hexanes) to yield the alcohol **2** (yellow oil, 30.1 g, 94%). ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.339, 1.356, 1.401, 1.429 (s, 6H), 1.75-1.90 (m, 2H), 2.834 (d, *J*= 3.28 Hz, D₂O exchangeable 0.57H), 3.062 (br s, D₂O exchangeable, 0.43H), 3.755-4.113 (m, 8H), 5.070 (m, 1H), MS (FAB) *m/z* 218 (M⁺)

Example 2

1-[(S)-2,2-Dimethyl-(1,3)-dioxolan-4-yl]-4-(1,3-dioxolan-2-yl)-2-ol (3, Figure 1)

To a solution of DMSO (8.58 mL) in dry CH₂Cl₂ was added dropwise (ClCO)₂ (5.25 mL) at -78°C. After 5 minutes, **2** (12.0 g, 54.9 mmol) in CH₂Cl₂ was added dropwise to the solution in 5 minutes. After another 15 minutes, triethyl amine (38.2 mL) was added to the resulting solution. The reaction solution was then warmed up. After standard work-up, the residue was purified by flash silica gel column (20% EtOAc/Hexanes) to yield **3** (yellow oil, 11.4 g, 95%). ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.354 (s, 3H), 1.453 (s, 3H), 2.953 (m, 2H), 3.83 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 4.027 (m, 1H), 4.154 (m, 1H), 4.417 (m, 1H), 5.268 (m, 1H), MS (FAB) *m/z* 216 (M⁺)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 3

1-[(S)-2,2-Dimethyl-(1,3)-dioxolan-4-yl]-2-difluoro-4-(1,3-dioxolan-2-yl)pentane (4, Figure 1)

To a solution of DAST (15 mL) in dry CH_2Cl_2 at 0°C was added dropwise **3** (8.5 g, 39.4 mmol) in CH_2Cl_2 . The resulting solution was stirred for 24 hours at room temperature. The reaction mixture was then poured into a saturated sodium bicarbonate solution at 0°C . After standard work-up, the residue was purified by flash silica gel column (10% EtOAc/Hexanes) to yield **4** (yellow oil, 4.8 g, 51.3%). ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.340 (s, 3H), 1.424 (s, 3H), 2.23-2.41 (m, 2H), 3.85 (m, 2H), 3.97 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 4.24-4.33 (m, 1H), 5.121 (t, 1H), MS (FAB) m/z 238 (M^+)

Example 4

3-difluoro-5-(1,3-dioxolan-2-yl)-2S-1,2-diol (5, Figure 1)

To a solution of **4** (4.8 g, 20.2 mmol) in 1,4-dioxane at 0°C was added 2.5% HCl aqueous solution. The resulting solution was stirred at room temperature overnight and then neutralized by sodium bicarbonate. After standard work-up, the residue was purified by flash silica gel column (60% EtOAc/Hexanes) to yield **5** (colorless oil, 3.6 g, 90%) ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.30-2.52 (m, 2H), 3.577 (d, $J = 5.88$ Hz, D_2O exchangeable, 1H), 3.83-4.10 (m, 7H), 5.090 (q, 1H), MS (FAB) m/z 198 (M^+)

Example 5

1-Benzoxo-3-difluoro-5-(1,3-dioxolan-2-yl)-2S-ol (6, Figure 1)

To a solution of **5** (3.1 g) in dry pyridine (5 mL) was added dropwise benzoyl chloride (1.82 mL) at 0°C . The resulting solution was stirred at room temperature for 1 hour. After removal of pyridine, the residue was dissolved in CH_2Cl_2 , washed by saturated NaHCO_3 aqueous solution, dried over MgSO_4 . After concentration, the residue was purified by flash silica gel column (30% EtOAc/Hexanes) to yield **6** (colorless oil, 4.0 g, 85%). ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.43 (m, 2H), 3.84 (m, 2H), 3.95 (m, 2H), 4.03 (m, 1H),

WO 03/000200

PCT/US02/20245

4.19 (m, 1H), 4.48 (m, 1H), 4.59 (m, 1H), 5.08 (m, 1H), 7.38 (m, 2H), 7.51 (m, 1H), 8.01 (m, 1H), MS (FAB) m/z 302 (M^+)

Example 6

1-Acetyl-5-*O*-benzoyl-2,3-dideoxy-3,3-difluoro-D-ribofuranose (7, Figure 1)

5 To a solution of **6** (1.6 g, 5.3 mmol) in methanol (15 mL) was added HCl/diethyl ether solution (1.0 M, 15 mL). The resulting solution was stirred and refluxed for 1 hour. After cooled down, the reaction solution was neutralized with NaHCO_3 . After standard work-up, the residue was used for next step. Concentrated sulfuric acid (40 μL , 0.75 mmol) was added to an ice/cold solution of obtained residue and acetic anhydride (3
10 mL, 32.0 mmol) in glacial acetic acid (15 mL). The resulting solution was stirred at room temperature for 30 minutes. The reaction mixture was then poured into an ice-cold saturated solution of sodium bicarbonate (100 mL) and extracted with dichloromethane (3x100 mL). After standard work-up, the residue was purified by flash silica gel column (10% EtOAc/Hexanes) to yield anomeric mixture (2:1) **7** (yellow oil, 1.5 g, 95%). ^1H
15 NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 2.02, 2.10 (s, 3H), 2.53-2.65 (m, 1H), 2.74-2.88 (m, 1H), 4.46-4.66 (m, 3H), 6.442, 6.399 (d, J = 5.85, 5.76 Hz, 1H), 7.38-7.51 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.98-8.12 (m, 2H), MS (FAB) m/z 301 ($M\text{H}^+$).

Example 7

*N*⁴-Benzoyl-1-(5-*O*-benzoyl-2,3-dideoxy-3,3-difluoro- β -L-ribofuranosyl)cytosine (**8**, Figure 1)

20 A mixture of *N*⁴-benzoylcytosine (900 mg, 4.20 mmol) and ammonium sulfate (28 mg, 0.212 mmol) in 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazane (HMDS) (30 mL) was refluxed for 4 hours, then the solvent was removed *in vacuo* at 30-35°C. To the residual oil, a solution of **7** (630 mg, 2.1 mmol) in anhydrous acetonitrile (15 mL) was added followed,
25 upon cooling to 0°C, by trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (TMSOTf, 0.60 mL, 3.2 mmol). The resulting mixture was stirred at room temperature for 3 hours, then poured into an ice/cold saturated solution of sodium bicarbonate (25 mL). The organic phase

WO 03/000200

PCT/US02/20245

was separated, washed with brine (5 mL), dried over MgSO_4 , filtered and concentrated to a crude that was purified by flash silica gel column (50% EtOAc/Hexanes) to give **8** (white solid, 350 mg, 36%). mp 166-167 °C (dec.); $[\alpha]_D^{24}$ 80.50° (c 0.50, CHCl_3); UV (MeOH) λ_{max} 259.5, 301.0; ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.57 (m, J = 15.6, 10.5, 5.3 Hz, 1H, $\text{H}_{2\text{p}}$), 3.26 (m, J = 15.6, 12.8, 7.0 Hz, 1H, $\text{H}_{2'\text{a}}$), 4.57 (ddd, J = 18.0, 9.7, 4.8 Hz 1H, H_e), 4.71 (dd, J = 12.5, 5.5 Hz 1H, $\text{H}_{5\text{b}}$), 4.75 (dd, J = 12.5, 4.3 Hz, 1H, $\text{H}_{5\text{a}}$), 6.30 (t, J = 6.1 Hz, 1H, $\text{H}_{1'}$), 7.65-7.44 (m, 7 H), 8.10-7.88 (m, 5H), 8.81 (bs, 1H); HRMS (FAB) obsd, m/z 456.1377, calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_5$, m/z 456.1371 (MH^+). Anal. Calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_5$: C, 60.66; H, 4.21; N, 9.23. Found: C, 60.50, H, 4.19, N, 9.00.

Example 8

1-(2,3-Dideoxy-3,3-difluoro- β -L-ribofuranosyl)cytosine (**9**, Figure 1)

A mixture of **8** (140 mg, 0.30 mmol) in saturated ammonia/methanol solution (10 mL) was stirred at room temperature for 4 hours, and then concentrated to dryness under reduced pressure. The residue was purified by flash silica gel column (10% methanol/chloroform) to give **9** (white solid, 80 mg, 100 %). mp 194-196 °C (dec.); $[\alpha]_D^{24}$ 45.56° (c 1.0, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 276.5 (ϵ 18160) (pH 2), 268.0 (ϵ 13280) (pH 7), 268.5 (ϵ 13580) (pH 11); ^1H NMR (CD_3OD) δ 2.51 (m, 1H, H_2), 2.90 (m, 1H, H_2), 3.83 (m, 2H, H_5), 4.17 (m, 1H, H_4), 5.93 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H_5), 6.27 (t, J = 6.8 Hz 1H, $\text{H}_{1'}$), 7.97 (d, J = 7.3 Hz, 1H, H_6); HRMS (FAB) obsd, m/z 248.0841, calcd for $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$, m/z 248.0847 (MH^+). Anal. Calcd for $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{F}_2\text{N}_3\text{O}_3$ 0.1 H_2O : C, 43.41; H, 4.53; N, 16.88. Found: C, 43.45; H, 4.50; N, 16.54.

Example 9

1-(2,3-Dideoxy-3-fluoro- β -L-glycero-pent-2-eno-furanosyl)cytosine (**10**, Figure 1)

A mixture of **9** (90 mg, 0.36 mmol) and sodium methoxide (150 mg, 1.1 mmol) in anhydrous DMF (3 mL) was stirred at room temperature overnight, then neutralized by Dowex 50 wx8 (H^+). After filtration and concentration, the crude solid was purified by silica gel column (10% methanol/chloroform) to yield **10** (white solid, 54 mg, 60%).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

mp 182-183 °C (dec.); $[\alpha]_D^{22}$ -5.34° (c 0.39, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 276.0 (ε 11990) (pH 2), 267.5 (ε 8010) (pH 7), 264.5 (ε 8060) (pH 11); $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD) δ 3.766, 3.771 (m, 2H, H5'), 4.733 (m, 1H, H_a), 5.438 (m, 1H, H_b), 5.887 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H₅), 6.975 (m, 1H, H₁'), 8.137 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H, H₆), HRMS (FAB) obsd, m/z 228.0776, calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{FN}_3\text{O}_3$, m/z 228.0784 (MH⁺). Anal. Calcd for $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{FN}_3\text{O}_3$: C, 47.58; H, 4.44; N, 18.50. Found: C, 47.34; H, 4.45; N, 18.27.

Example 10

5-*O*-Benzoyl-1,2-*O*-isopropylidene- α -L-ribofuranose (11, Figure 2a)

See Ma *et al.*, *J. Med. Chem.* **1996**, 39(14), 2835 and Cooperwood *et al.*, *Nucleosides Nucleotides* **2000**, 19(1&2), 219-236.

Example 11

5-*O*-Benzoyl-3-*O*-benzyl-1,2-*O*-isopropylidene- α -L-ribofuranose (12, Figure 2a)

A solution of 11 (20.00 g, 67.96 mmol) in anhydrous THF (120 mL) was slowly added to a suspension of sodium hydride (60% dispersion in mineral oil, 4.00 g, 100 mmol) at 0°C, and the mixture was stirred at room temperature for 1 hour. To the resulting suspension tetrabutylammonium iodide (2.50 g, 6.77 mmol) was added followed, upon re-cooling to 0°C, by benzyl bromide (9.0 mL, 75.67 mmol). The reaction was stirred in the dark at room temperature for 9 hours, then cooled to 0°C and carefully quenched (being cautious of foaming) with ice-cold water (100 mL), then extracted with ethyl acetate (3x350 mL). The combined organic extracts were washed with brine (100 mL), dried over magnesium sulfate (MgSO_4), filtered and concentrated to dryness under reduced pressure. The resulting crude 12 (dark yellow oil, 34.40 g, 132% of the theoretical yield) was used in the following step without further purification.

12. Yellow oil: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7.93 (m, 2H), 7.56 (m, 1H), 7.43-7.21 (m, 7H), 5.78 (d, 1H, H₁, $J = 3.7$ Hz), 4.81 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz), 4.66-4.62 (m, 2H, H₂, H₄), 4.57 (d, 1H, $J = 12.1$ Hz), 4.39-4.33 (m, 2H, H₅), 3.79 (dd, 1H, H₃, $J = 8.9, 4.3$ Hz), 1.63

WO 03/000200

PCT/US02/20245

(s, 3H), 1.39 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 166.11, 137.08, 132.97, 129.65, 128.45, 128.21, 128.05, 127.97, 113.06, 104.09, 77.22, 76.92, 76.31, 72.11, 62.87, 26.72, 26.43; MS (FAB) m/z 385 (MH^+).

Example 12

5-*O*-Benzoyl-3-*O*-benzyl-1-methyl- β -L-ribofuranose (13, Figure 2a)

To an ice-cooled solution of crude **12** (33.24 g) in methanol (700 mL) was added a 4.0 M solution of HCl in dioxane (350 mL), and the mixture was stirred at room temperature for 90 minutes, then quenched with saturated sodium bicarbonate solution (200 mL) followed by solid sodium bicarbonate (125 g). The volatiles were evaporated under reduced pressure to ca. 250 mL and the aqueous residue was extracted with ethyl acetate (3x500 mL). The combined organic extracts were dried over MgSO_4 , filtered and concentrated under reduced pressure to a crude that was purified by vacuum TLC-grade silica gel column chromatography (hexanes to ethyl 1:3 acetate/hexanes) to give 21.46 g (91% from **11**) of **13** as a yellow oil.

13. Yellow oil: ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8.04 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.38-7.26 (m, 5H), 4.90 (s, 1H, H_1), 4.63 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz), 4.58 (d, 1H, $J = 11.6$ Hz), 4.50 (dd, 1H, $J = 11.1, 3.2$ Hz), 4.38-4.29 (m, 2H, H_2), 4.24 (m, 1H), 4.08 (m, 1H), 3.30 (s, 3H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ 166.28, 136.71, 133.08, 129.82, 129.66, 128.66, 128.40, 128.34, 128.01, 108.27, 79.06, 78.98, 73.06, 72.94, 64.98, 55.00; HRMS (FAB) obsd, m/z 359.1517, calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{O}_6$, m/z 359.1495 (MH^+). Anal. Calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$: C, 67.03; H, 6.19. Found: C, 66.87, H, 6.22.

Example 13

5-*O*-Benzoyl-3-*O*-benzyl-2-deoxy-1-methyl- β -L-ribofuranose (14, Figure 2a)

Phenyl chlorothionoformate (9.3 mL, 67.24 mmol) was added to a solution of **13** and 4-(dimethylamino)pyridine (16.32 g, 133.58 mmol) in anhydrous toluene (700 mL), and the resulting bright yellow slurry was stirred at 90°C for 3 hours. The reaction mixture was then cooled to 0°C and the yellow solid was filtered off and washed with

WO 03/000200

PCT/US02/20245

small portions of anhydrous toluene. To the orange filtrate was added 2,2'-azobisisobutyronitrile (AIBN, 0.92 g, 5.60 mmol), then, upon refluxing, a solution of tributyltin hydride (37.4 mL, 139.04 mmol) and AIBN (0.92 g, 5.60 mmol) in anhydrous toluene was added over 30 minutes. The reaction was refluxed for 30 minutes more, to give a colorless cloudy mixture that was concentrated to dryness under reduced pressure. This crude was purified by vacuum column TLC-grade silica gel chromatography (1:9 hexanes to ethyl acetate/hexanes) to give 14.14 g (74%) of **14** as a colorless oil.

14. Colorless oil: $[\alpha]_D^{22}$ 45.11° (*c* 5.58, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.05 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.44 (m, 2H), 7.32-7.26 (m, 5H), 5.12 (dd, 1H, H₁, *J* = 5.3, 1.3 Hz), 4.53 (s, 2H), 4.46-4.33 (m, 3H, H₃, H₄), 4.30 (td, 1H, H₃, *J* = 6.6, 3.8 Hz), 3.32 (s, 3H), 2.33 (ddd, 1H, H_{2β}, *J* = 13.2, 6.9, 1.3), 2.16 (ddd, 1H, H_{2α}, *J* = 13.2, 6.5, 5.3); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 166.30, 137.61, 133.04, 129.93, 129.67, 128.44, 128.35, 127.82, 127.67, 105.41, 81.60, 79.32, 71.88, 65.62, 54.93, 39.38; HRMS (FAB) obsd, *m/z* 343.1543, calcd for C₂₀H₂₃O₅, *m/z* 343.1545 (MH⁺). Anal. Calcd for C₂₀H₂₃O₅: C, 70.16; H, 6.48. Found: C, 69.90, H, 6.42.

Example 14

5-O-Benzoyl-2-deoxy-1-methyl-β-L-ribofuranose (**15**, Figure 2a)

A mixture of **14** (4.27 g, 12.47 mmol) and 10% Pd/C (2.65 g, 2.49 mmol) in absolute ethanol (200 mL) was hydrogenated at room temperature and 50 psi of H₂ for 72 hours. The resulting mixture was filtered over Celite, washed with ethanol, and concentrated in vacuo to a crude, which was purified by silica gel flash column chromatography (1:2 ethyl acetate/hexanes) to give 1.88 g (60%) of **15** as a light yellow oil.

15. Yellow oil: $[\alpha]_D^{23}$ 65.85° (*c* 5.23, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.07 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.46-7.41 (m, 2H), 5.10 (dd, 1H, H₁, *J* = 5.2, 1.3 Hz), 4.56 (m, 1H, H₃), 4.48 (dd, 1H, H_{5a}, *J* = 11.6, 4.9 Hz), 4.38 (dd, 1H, H_{5b}, *J* = 11.6, 5.7 Hz), 4.20 (dd, 1H, H₄, *J* = 10.2, 5.1 Hz), 3.31 (s, 3H), 2.76 (m, exchangeable, 3'-OH), 2.31 (ddd, 1H, H_{2β}, *J* = 13.3, 6.8, 1.3), 2.12 (ddd, 1H, H_{2α}, *J* = 13.3, 6.8, 5.2); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 166.59, 133.07, 129.66, 129.58, 128.28, 104.97, 83.53, 71.93, 65.25, 54.85,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

41.39; HRMS (FAB) obsd, m/z 253.1083, calcd for $C_{13}H_{17}O_5$, m/z 253.1076 (MH^+).
Anal. Calcd for $C_{13}H_{16}O_5$: C, 61.90; H, 6.39. Found: C, 61.57, H, 6.38.

Example 15

Methyl 5-O-benzoyl-2-deoxy- β -L-glycero-pentofuranosid-3-ulose (16, Figure 2a)

- 5 Chromic anhydride (2.73 g, 27.30 mmol) was added to a stirred mixture of anhydrous pyridine (4.5 mL, 55.64 mmol) and anhydrous dichloromethane (50 mL) at room temperature, and stirring was continued at room temperature for 15 minutes. A solution of **15** (1.72 g, 6.82 mmol) in anhydrous dichloromethane (20 mL) was then added, followed immediately by acetic anhydride (2.6 mL, 27.51 mmol). After 15
- 10 minutes, the dark brown solution was treated with ethyl acetate (400 mL) and the resulting mixture was filtered through a TLC-grade silica gel pad, which was washed with ethyl acetate (one portion of 500 mL). The filtrate was concentrated under reduced pressure, co-evaporated with toluene (3x100 mL), and solvents were removed in vacuo to give 1.50 g (88%) of **16** as an orange oil.
- 15 **16**. Orange oil: $[\alpha]_D^{25}$ 64.89° (c 1.25, $CHCl_3$); ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.08 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.46-7.42 (m, 2H), 5.37 (d, 1H, H_1 , $J = 5.6$ Hz), 4.66 (dd, 1H, H_{5a} , $J = 11.7$, 3.2 Hz), 4.46 (dd, 1H, H_{5b} , $J = 11.7$, 6.1 Hz), 4.40 (dd, 1H, H_4 , $J = 6.1$, 3.2 Hz), 3.40 (s, 3H), 2.82 (dd, 1H, H_{2a} , $J = 18.3$, 5.6), 2.12 (d, 1H, H_{2b} , $J = 18.3$); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 210.70, 166.17, 133.11, 129.73, 129.69, 128.33, 102.36, 77.63,
- 20 64.55, 55.07, 43.54; HRMS (FAB) obsd, m/z 251.0920, calcd for $C_{13}H_{15}O_5$, m/z 251.0919 (MH^+). Anal. Calcd for $C_{13}H_{14}O_5$ 0.07Tol: C, 63.12; H, 5.72. Found: C, 63.51, H, 5.37.

Example 16

5-O-Benzoyl-2,3-dideoxy-3,3-difluoro-1-methyl- β -L-ribofuranose (17, Figure 2a)

- 25 (Diethylamino)sulfur trifluoride (3.0 mL, 22.71 mmol) was added to a solution of **16** (1.40 g, 5.59 mmol) in anhydrous dichloromethane (25 mL) and the reaction mixture was refluxed for 36 hours. The resulting solution was then carefully poured into an ice-

WO 03/000200

PCT/US02/20245

cooled saturated solution of sodium bicarbonate (50 mL) and extracted with diethyl ether (4x100 mL). The combined organic extracts were washed with brine (50 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated to a crude oil that is purified by silica gel flash column chromatography (1:9 ethyl acetate/hexanes) to give 1.01 g (66%) of **17** as a yellow oil.

17. Yellow oil: $[\alpha]_D^{25}$ 40.78° (c 4.28, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.08 (m, 2H), 7.57 (m, 1H), 7.45 (m, 2H), 5.15 (dt, 1H, H₁, J = 5.7, 1.7 Hz), 4.63-4.41 (m, 3H, H₄, H₅), 3.40 (s, 3H), 2.67 (tdd, 1H, H_{2a}, J = 16.6, 15.0, 5.7 Hz), 2.49 (tdd, 1H, H_{2b}, J = 15.0, 9.0, 2.0 Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 166.05, 133.14, 129.71, 128.38, 128.32 (t, J_{C-F} = 252.8 Hz), 103.70 (dd, J_{C-F} = 7.1, 4.2 Hz), 79.46 (dd, J_{C-F} = 32.1, 24.9 Hz), 62.94 (dd, J_{C-F} = 7.5, 4.5 Hz), 55.38, 42.26 (t, J_{C-F} = 24.3 Hz); HRMS (FAB) obsd, m/z 273.0950, calcd for C₁₃H₁₅F₂O₄, m/z 273.0938 (MH⁺). Anal. Calcd for C₁₃H₁₄F₂O₄: C, 57.35; H, 5.18. Found: C, 57.64, H, 5.30.

Example 17

15 **1-Acetyl-5-O-benzoyl-2,3-dideoxy-3,3-difluoro-β-L-ribofuranose (18, Figure 2a)**

Concentrated sulfuric acid (80 μL, 1.50 mmol) was added to an ice-cold solution of **17** (200 mg, 0.73 mmol) and acetic anhydride (300 μL, 3.20 mmol) in glacial acetic acid, and the reaction was stirred at 0 °C for 5 minutes, then at room temperature for 10 minutes more. The resulting mixture is poured into an ice-cold saturated solution of sodium bicarbonate (100 mL) and extracted with dichloromethane (3 x 100 mL). The combined organic extracts were washed with water (30 mL), brine (30 mL), dried over MgSO₄, filtered, concentrated and co-evaporated with toluene (3 x 10 mL) to give 210 mg (95%) of 5:3 epimeric mixture **18** as a crude yellow oil which was used in the following reaction without further purification.

18. Yellow oil: ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.06-8.02 (m, 4H), 7.57 (m, 2H), 7.47-7.43 (m, 4H), 6.45 [d, 1H, H₁ (*major isomer*), J = 5.3 Hz], 6.41 [d, 1H, H₁ (*minor isomer*), J = 5.9 Hz], 4.65-4.49 (m, 6H, H₄, H₅), 2.11 (s, 3H), 2.04 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) (*major isomer*) δ 169.72, 165.91, 133.28, 129.68, 128.43, 127.50 (dd, J_{C-F} = 254.9, 251.6 Hz), 95.34 (dd, J_{C-F} = 7.7, 4.5 Hz), 79.10 (dd, J_{C-F} = 33.0, 24.7 Hz),

WO 03/000200

PCT/US02/20245

61.01 (dd, $J_{C-F} = 7.7, 2.4$ Hz), 41.91 (t, $J_{C-F} = 25.1$ Hz) 21.03; (*minor isomer*) δ 169.62, 165.91, 133.27, 129.73, 128.41, 127.35 (dd, $J_{C-F} = 255.1, 251.3$ Hz), 95.83 (dd, $J_{C-F} = 7.6, 3.8$ Hz), 80.31 (dd, $J_{C-F} = 32.0, 25.0$ Hz), 62.12 (dd, $J_{C-F} = 7.8, 3.5$ Hz), 41.27 (t, $J_{C-F} = 24.8$ Hz) 21.00; MS (FAB) m/z 301 (MH⁺).

5

Example 18

*N*⁴-Benzoyl-1-(5-*O*-benzoyl-2,3-dideoxy-3,3-difluoro- β -L-ribofuranosyl)cytosine (19, Figure 2a) and *N*⁴-benzoyl-1-(5-*O*-benzoyl-2,3-dideoxy-3,3-difluoro- α -L-ribofuranosyl)cytosine (20, Figure 2a)

A mixture of *N*⁴-benzoylcytosine (225 mg, 1.05 mmol) and ammonium sulfate (7 mg, 0.053 mmol) in 1,1,1,3,3,3-hexamethyldisilazane (HMDS) was refluxed for 4 hours, then the solvent was removed *in vacuo* at 30-35 °C. To the residual oil, a solution of 18 (210 mg, 0.70 mmol) in anhydrous acetonitrile (10 mL) was added followed, upon cooling to 0°C, by trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate (TMSOTf, 0.19 mL, 1.05 mmol). The resulting mixture was stirred at room temperature overnight, then diluted to 50 mL with dichloromethane and poured into an ice-cold saturated solution of sodium bicarbonate (25 mL). The organic phase was separated, washed with brine (5 mL), dried over MgSO₄, filtered and concentrated to a crude that was purified by flash column chromatography (3:97 methanol/chloroform) to give 80 mg of 20 (25%) as the first eluted product and 100 mg of 19 (31%) as the second eluted product. Both isomers are colorless oils, which become white solids upon trituration with diethyl ether and a drop of methanol.

19. White solid; mp 166-167 °C (dec.); $[\alpha]_D^{24} -89.75^\circ$ (c 0.31, CHCl₃); UV (MeOH) λ_{max} 259.5, 301.0; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.81 (bs, 1H), 8.10-7.88 (m, 5H), 7.65-7.44 (m, 7 H), 6.30 (t, 1H, H_{1'}, $J = 6.1$ Hz), 4.75 (dd, 1H, H_{5'a}, $J = 12.5, 4.3$ Hz), 4.71 (dd, 1H, H_{5'b}, $J = 12.5, 5.5$ Hz), 4.57 (ddd, 1H, H_{4'}, $J = 18.0, 9.7, 4.8$ Hz), 3.26 (dtd, 1H, H_{2'a}, $J = 15.6, 12.8, 7.0$ Hz), 2.57 (m, 1H, H_{2'b}, $J = 15.6, 10.5, 5.3$ Hz); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 166.48, 165.91, 162.58, 154.55, 143.35, 133.59, 133.31, 129.63, 129.07, 128.60, 127.53, 125.71 (t, $J_{C-F} = 253.6$ Hz), 96.90, 84.39 (dd, $J_{C-F} = 6.6, 3.6$ Hz),

WO 03/000200

PCT/US02/20245

79.80 (dd, $J_{C-F} = 31.5, 25.1$ Hz), 60.77 (d, $J_{C-F} = 4.8$ Hz), 41.69 (t, $J_{C-F} = 23.7$ Hz); HRMS (FAB) obsd, m/z 456.1377, calcd for $C_{23}H_{20}F_2N_3O_5$, m/z 456.1371 (MH^+).

20. White solid: mp 176-178 °C (dec.); $[\alpha]_D^{24}$ 42.61° (c 1.19, $CHCl_3$); UV (MeOH) λ_{max} 259.0; ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 8.89 (bs, 1H), 8.06-7.89 (m, 5H), 7.65-7.47 (m, 7 H), 6.29 (dd, 1H, $H_{1'}$, $J = 7.3, 3.2$ Hz), 4.82 (m, 1H, $H_{4'}$), 4.69 (dd, 1H, $H_{5'as}$, $J = 12.4, 3.8$ Hz), 4.57 (dd, 1H, $H_{5'bs}$, $J = 12.4, 4.6$ Hz), 3.21 (dddd, 1H, $H_{2'p}$, $J = 15.4, 12.8, 7.3, 5.4$ Hz), 2.82 (dtd, 1H, $H_{2'os}$, $J = 15.4, 7.5, 3.2$ Hz); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ 166.54, 165.80, 162.77, 154.62, 143.48, 133.51, 133.19, 129.58, 128.94, 128.60, 127.58, 126.51 (dd, $J_{C-F} = 255.7, 249.3$ Hz), 96.71, 86.83 (dd, $J_{C-F} = 8.1, 2.0$ Hz), 80.78 (dd, $J_{C-F} = 31.7, 25.2$ Hz), 61.47 (t, $J_{C-F} = 5.3$ Hz), 41.14 (t, $J_{C-F} = 24.0$ Hz); HRMS (FAB) obsd, m/z 456.1374, calcd for $C_{23}H_{20}F_2N_3O_5$, m/z 456.1371 (MH^+).

Example 19

*N*⁴-Benzoyl-1-(5-*O*-benzoyl-2,3-dideoxy-3,3-difluoro- α / β -L-ribofuranosyl)thymine (25, Figure 2b)

Alternatively, a mixture of 17 (170 mg, 0.62 mmol), thymine (160 mg, 1.27 mmol) and *N,O*-bis-trimethylsilyl trifluoroacetamide (0.83 mL, 3.12 mmol) in anhydrous acetonitrile (10 mL) was stirred at room temperature for 3h. The resulting clear solution was treated with TMSOTf (0.17 mL, 0.94 mmol) at 0 °C, then allowed to reach room temperature and stirred for 72 hours. The resulting mixture was diluted to 100 mL with dichloromethane and poured into an ice-cold saturated solution of sodium bicarbonate (50 mL). The organic phase was separated, washed with water (20 mL) and brine (20 mL), then dried over $MgSO_4$, filtered and concentrated to a crude that was purified by flash column chromatography (1:49 methanol/chloroform) to give 120 mg of 25 (53%) as a yellow oil.

25. Yellow oil: UV (MeOH) λ_{max} 263.5; ^1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 9.60 [bs, 1H (*major isomer*)], 9.55 (bs, 1H (*minor isomer*)), 8.04 (m, 4H), 7.59 (m, 2 H), 7.49 (m, 4H), 7.22 [d, 1H, H_6 (*minor isomer*), $J = 1.2$ Hz], 7.18 [d, 1H, H_6 (*major isomer*), $J = 1.2$ Hz], 6.42 [t, 1H, $H_{1'}$ (*minor isomer*), $J = 7.0$ Hz], 6.33 (dd, 1H, $H_{1'}$ (*major isomer*), $J = 7.5, 5.0$ Hz], 4.81-4.73 (m, 2H, $H_{4'}$), 4.62-4.53 (m, 4H, $H_{5'}$), 3.10-2.94 (m, 2H, $H_{2'}$),

WO 03/000200

PCT/US02/20245

2.83-2.76 (m, 1H, H_{2'}), 2.57- 2.43 (m, 1H, H_{2'}); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) (*major isomer*) δ 165.87, 163.78, 150.25, 135.05, 133.47, 126.67 (dd, J_{C-F} = 255.7, 251.1 Hz), 111.71, 84.84 (t, J_{C-F} = 5.9 Hz), 80.15 (dd, J_{C-F} = 31.3, 24.5 Hz), 61.51 (dd, J_{C-F} = 6.7, 4.1 Hz), 40.34 (t, J_{C-F} = 24.3 Hz), 12.59; (*minor isomer*) δ 165.84, 163.45, 150.25, 133.82, 133.59, 125.91 (dd, J_{C-F} = 255.1, 252.3 Hz), 112.39, 81.18 (t, J_{C-F} = 5.9 Hz), 79.11 (dd, J_{C-F} = 31.6, 24.6 Hz), 60.88 (dd, J_{C-F} = 6.1, 3.1 Hz), 40.47 (t, J_{C-F} = 23.9 Hz), 12.32; HRMS (FAB) obsd, *m/z* 367.1122, calcd for C₁₇H₁₇F₂N₂O₅, *m/z* 367.1106 (MH⁺). Anal. Calcd for C₁₇H₁₆F₂N₂O₅·0.03 CHCl₃: C, 55.30; H, 4.37; N, 7.57. Found: C, 54.92; H, 4.40; N, 7.37.

Example 20

1-(2,3-Dideoxy-3,3-difluoro-β-L-ribofuranosyl)cytosine (21, Figure 2a) and 1-(2,3-dideoxy-3,3-difluoro-α-L-ribofuranosyl)cytosine (22, Figure 2a)

A mixture of **19** (70 mg, 0.15 mmol) or **20** (40 mg, 0.09 mmol) in saturated ammonia/methanol solution (10 or 5 mL, respectively) was stirred at room temperature for 4h, and then concentrated to dryness under reduced pressure. The residue was purified by preparative TLC (1:9 methanol/chloroform) to give 38 mg of **21** (100 %) or 20 mg of **22** (100%) as white solids.

21. White solid; mp 194-196 °C (dec.); [α]_D²⁴ -51.89° (c 1.15, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 276.5 (ε 18160) (pH 2), 268.0 (ε 13280) (pH 7), 268.5 (ε 13580) (pH 11); ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 7.97 (d, 1H, H₆, J = 7.3 Hz), 6.27 (t, 1H, H_{1'}, J = 6.8 Hz), 5.93 (d, 1H, H₅, J = 7.3 Hz), 4.17 (m, 1H, H_{4'}), 3.83 (m, 2H, H_{3'}), 2.90 (m, 1H, H_{2'}), 2.51 (m, 1H, H_{2'}); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 168.19, 158.46, 142.62, 128.71 (dd, J_{C-F} = 255.1, 247.4 Hz), 97.04, 84.73 (dd, J_{C-F} = 6.7, 4.9 Hz), 83.74 (dd, J_{C-F} = 29.5, 25.0 Hz), 60.73 (t, J_{C-F} = 4.8 Hz), 42.14 (t, J_{C-F} = 23.4 Hz), 12.29; HRMS (FAB) obsd, *m/z* 248.0850, calcd for C₉H₁₂F₂N₃O₃, *m/z* 248.0847 (MH⁺). Anal. Calcd for C₉H₁₁F₂N₃O₃·0.1 H₂O: C, 43.41; H, 4.53; N, 16.88. Found: C, 43.63; H, 4.50; N, 16.48.

22. White solid; [α]_D²⁵ 28.23° (c 0.27, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 277.5 (ε 15010) (pH 2), 269.0 (ε 10130) (pH 7), 269.0 (ε 10150) (pH 11); ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 7.69 (d, 1H, H₆, J = 7.5 Hz), 6.21 (dd, 1H, H_{1'}, J = 7.4, 3.6 Hz), 5.90 (d, 1H, H₅, J = 7.5

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Hz), 4.49 (m, 1H, H_{4'}), 3.79 (dd, 1H, H_{5'}, $J = 12.5, 3.6$ Hz), 3.74 (ddd, 1H, H_{5'}, $J = 12.5, 4.0, 1.5$ Hz), 3.01 (m, 1H, H_{2'}), 2.63 (m, 1H, H_{2'}); ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ 168.37, 158.54, 142.57, 129.28 (dd, $J_{C-F} = 254.3, 247.2$ Hz), 96.48, 87.75 (dd, $J_{C-F} = 8.7, 3.6$ Hz), 84.93 (dd, $J_{C-F} = 29.3, 25.3$ Hz), 61.24 (t, $J_{C-F} = 5.4$ Hz), 42.63 (t, $J_{C-F} = 23.9$ Hz), 12.29; HRMS (FAB) obsd, m/z 248.0829, calcd for C₉H₁₂F₂N₃O₃, m/z 248.0847 (MH⁺).

1-(2,3-Dideoxy-3,3-difluoro- β -L-ribofuranosyl)thymine (**26**, Figure 2b) and 1-(2,3-dideoxy-3,3-difluoro- α -L-ribofuranosyl)thymine (**27**, Figure 2b) were obtained analogously to compounds **21-22**.

26. White solid; mp 140 °C (dec.); UV (MeOH) λ_{max} 264.0 (e 11700) (pH 2), 263.5 (e 12170) (pH 7), 264.0 (e 8660) (pH 11); ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11.43 (bs, 1H), 7.64 (s, 1H, H₆), 6.21 (t, 1H, H_{1'}, $J = 7.2$), 5.25 (t, 1H, 5'-OH), 4.11 (m, 1H, H_{4'}), 3.67 (m, 2H, H_{5'}), 2.83 (m, 1H, H_{2'}), 2.65 (m, 1H, H_{2'}), 1.78 (s, 3H); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 163.59, 150.36, 135.40, 127.26 (dd, $J_{C-F} = 255.8, 246.7$ Hz), 110.20, 80.97 (dd, $J_{C-F} = 28.5, 24.4$ Hz), 80.32 (dd, $J_{C-F} = 7.1, 4.1$ Hz), 58.50, 38.54 (t, $J_{C-F} = 23.6$ Hz), 12.29; HRMS (FAB) obsd, m/z 263.0849, calcd for C₁₀H₁₃F₂N₂O₄, m/z 263.0843 (MH⁺). Anal. Calcd for C₁₀H₁₂F₂N₂O₄ · 0.14 Et₂O: C, 46.53; H, 4.95; N, 10.28. Found: C, 46.28; H, 4.90; N, 9.88.

27. White solid; mp 145-148 °C (dec.); $[\alpha]_D^{25} -26.50^\circ$ (c 0.15, CHCl₃); UV (MeOH) λ_{max} 265.5 (e 12820) (pH 2), 263.5 (e 12590) (pH 7), 264.0 (e 10030) (pH 11); ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 11.41 (bs, 1H), 7.52 (s, 1H, H₆), 6.21 (t, 1H, H_{1'}, $J = 6.4$), 5.13 (t, 1H, 5'-OH), 4.50 (m, 1H, H_{4'}), 3.59 (m, 2H, H_{5'}), 2.97-2.73 (m, 2H, H_{2'}), 1.78 (s, 3H); ¹³C NMR (DMSO-d₆, 100 MHz) δ 163.77, 150.38, 136.32, 127.77 (dd, $J_{C-F} = 252.3, 249.2$ Hz), 109.82, 83.47 (t, $J_{C-F} = 6.0$ Hz), 81.75 (dd, $J_{C-F} = 28.5, 24.3$ Hz), 58.76, 38.57 (t, $J_{C-F} = 23.6$ Hz), 12.17; HRMS (FAB) obsd, m/z 263.0835, calcd for C₁₀H₁₃F₂N₂O₄, m/z 263.0843 (MH⁺). Anal. Calcd for C₁₀H₁₂F₂N₂O₄ · 0.5 MeOH: C, 45.33; H, 5.07; N, 10.07. Found: C, 45.49; H, 4.96; N, 9.76.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 21

1-(2,3-Dideoxy-3-fluoro-β-L-glycero-pent-2-eno-furanosyl)cytosine (**23**, Figure 2a)

A mixture of **21** (30 mg, 0.12 mmol) and sodium methoxide (50 mg, 0.37 mmol) in anhydrous DMF (5 mL) was stirred at room temperature overnight, then quenched with 1 mL of a saturated aqueous solution of ammonium chloride. Evaporation of volatiles *in vacuo* gave a crude solid that was purified by a very short silica gel flash column chromatography (chloroform to 1:15 methanol/chloroform) to yield 15 mg (54%) of **23** as a white solid.

23. White solid; mp 182-183 °C (dec.); $[\alpha]_D^{22}$ 6.67° (c 0.54, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} 276.0 (ε 11990) (pH 2), 267.5 (ε 8010) (pH 7), 264.5 (ε 8060) (pH 11); ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 8.14 (d, 1H, H₆, J = 7.5 Hz), 7.01 (m, 1H, H₁), 5.90 (d, 1H, H₃, J = 7.5 Hz), 5.46 (m, 1H, H₃), 4.76 (m, 1H, H₄), 3.80 (m, 1H, H₅'), 3.79 (m, 1H, H₅'); ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ 168.31, 163.40 (d, J_{C-F} = 284.8 Hz), 159.05, 144.05, 102.34 (d, J_{C-F} = 9.7 Hz), 95.68, 88.42 (d, J_{C-F} = 14.9 Hz), 81.96 (d, J_{C-F} = 24.7 Hz), 61.82 (d, J_{C-F} = 2.2 Hz); HRMS (FAB) obsd, m/z 228.0778, calcd for C₉H₁₁FN₃O₃, m/z 228.0784 (MH⁺). Anal. Calcd for C₉H₁₀FN₃O₃: C, 47.58; H, 4.44; N, 18.50. Found: C, 47.47; H, 4.44; N, 18.17.

1-(2,3-dideoxy-3-fluoro-β-L-glycero-pent-2-eno-furanosyl)thymine (**28**, Figure 2b) was obtained analogously to compound **23**.

28. White solid; mp 146-148 °C (dec.); $[\alpha]_D^{22}$ 32.19° (c 0.20, CHCl₃); UV (MeOH) λ_{max} 264.0 (ε 10080) (pH 2), 264.5 (ε 10130) (pH 7), 264.5 (ε 7710) (pH 11); ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8.94 (bs, 1H), 7.70 (s, 1H, H₆), 7.05 (s, 1H, H₁), 5.26 (s, 1H, H₂), 4.73 (s, 1H, H₄), 3.94 (m, 2H, H₅), 3.30 (bs, 1H, 5'-OH), 1.86 (s, 3H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ 164.01, 161.54 (d, J_{C-F} = 287.8 Hz), 150.50, 136.85, 110.83, 99.64 (d, J_{C-F} = 10.2 Hz), 85.65 (d, J_{C-F} = 14.8 Hz), 79.98 (d, J_{C-F} = 24.5 Hz), 60.56 (d, J_{C-F} = 1.8 Hz), 12.28; HRMS (FAB) obsd, m/z 243.0789, calcd for C₁₀H₁₂FN₂O₄, m/z 243.0781 (MH⁺). Anal. Calcd for C₁₀H₁₁FN₂O₄: C, 49.59; H, 4.58; N, 11.57. Found: C, 49.33; H, 4.30; N, 11.78.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 22

(S)-(-)-4-tert-butylidiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-2-buten-4-olide (D-2, Figure 3a)

The detailed procedure for the preparation of this compound is described in the literature; A divergent synthesis of D- and L-carbocyclic 4'-fluoro-2',3'-dideoxynucleosides as potential antiviral agents. Chong, Y.; Gumina, G.; Chu, C. K. *Tetrahedron Asymmetry*. **2000**, *11*, 4853-4875.

Example 23

(R)-(+)-4-tert-butylidiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-2-buten-4-olide (L-2, Figure 4a)

The detailed procedure for the preparation of this compound is described in the literature; Synthesis and anti-HIV and anti-HBV activities of 2'-fluoro-2',3'-unsaturated L-nucleosides. Lee, K.; Choi, Y.; Gullen E.; Schlueter-Wirtz, S.; Schinazi, R. F.; Cheng, Y. C.; Chu, C. K. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1320-1328.

Example 24

(2S,4S)-(+)-4-tert-butylidiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-γ-butyrolactone (D-3, Figure 3a)

To a solution of lactone D-2 (14.8 g, 39.9 mmol) in 200 mL of EtOAc, was added 2.0 g of Pd/C (5% w/w) under H₂ atmosphere for 3 hours. After filtration of the reaction mixture through a celite pad, the filtrate was concentrated, purified by silica gel column chromatography with 5% EtOAc in hexanes to give compound D-3 (13.9 g, 37.5 mmol, 94 % yield) as a white solid. mp 87-89°C; $[\alpha]_D^{24}$ 15.5° (c 0.85, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.70-7.35 (m, 10H), 5.26 (dt, J = 51.2, 8.8 Hz, 1H), 4.54-4.47 (m, 1H), 3.93 (dd, J = 11.4, 2.3 Hz, 1H), 3.71 (dd, J = 11.4, 3.6 Hz, 1H), 2.65 (ddt, J = 13.1, 8.4, 6.6 Hz, 1H), 2.54 (ddt, J = 24.2, 13.2, 9.0 Hz, 1H), 1.04 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.30 (d, J = 21.3 Hz), 135.59, 135.30, 132.52, 132.20, 129.76, 129.35, 127.82, 127.63, 89.30 (d, J = 191.0 Hz), 76.24 (d, J = 6.1 Hz), 63.73, 30.14 (d, J = 20.0 Hz), 26.58, 19.12; Anal. Calcd for C₂₁H₂₅FO₃Si: C, 67.71; H, 6.76. Found: C, 67.70; H, 6.79.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 25

(2*R*,4*R*)-(-)-4-*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro- γ -butyrolactone (L-3, Figure 4a)

A solution of compound L-2 (25 g, 67.5 mmol) in 500 mL of EtOAc was treated with 2.5 g of palladium on carbon (5% w/w) under H₂ atmosphere for 3 hours. After filtration through a celite pad, the filtrate was concentrated and purified by silica gel column chromatography with 7% EtOAc in hexanes to give compound L-3 (23.8 g, 64.1 mmol, 95% yield) as a white solid. mp 88–89°C; $[\alpha]_D^{24}$ -15.3° (c 0.835, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.69–7.38 (m, 10H), 5.27 (dt, *J* = 51.4, 8.9 Hz, 1H), 4.54–4.47 (m, 1H), 3.92 (dd, *J* = 11.7, 2.4 Hz, 1H), 3.74 (dd, *J* = 11.7, 3.7 Hz, 1H), 2.67 (ddt, *J* = 13.2, 8.6, 6.6 Hz, 1H), 2.54 (ddt, *J* = 24.4, 13.2, 9.0 Hz, 1H), 1.06 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.19 (d, *J* = 21.3 Hz), 135.62, 135.51, 132.73, 132.40, 129.97, 129.95, 127.97, 127.84, 89.82 (d, *J* = 193.0 Hz), 76.31 (d, *J* = 6.1 Hz), 63.94, 30.26 (d, *J* = 20.0 Hz), 26.64, 19.21; FABMS *m/z* 373 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₂₁H₂₃FO₃Si: C, 67.71; H, 6.76. Found: C, 67.71; H, 6.78.

Example 26

(2*S*,4*S*/*R*)-5-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-2-fluoro-4-iodopentanoic acid methyl ester (D-4, Figure 3a) and (2*R*,4*R*/*S*)-5-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-2-fluoro-4-iodopentanoic acid methyl ester (L-4, Figure 4a)

A mixture of compound D-3 (7.49 g, 20.1 mmol) in 5% aqueous EtOH was treated with solid NaOH (0.885 g, 22.1 mmol) at room temperature for 2 hours. The resulting mixture was concentrated and co-evaporated two times with 250 mL of toluene to dryness. The crude carboxylate sodium salt was dissolved in 15 mL of DMSO and treated with dimethyl sulfate (2.29 mL, 24.2 mmol) at 0°C. After addition, the ice-bath was removed. The reaction mixture was stirred for 1 hour and then, poured to ice-cooled water (500 mL) and extracted with ethyl ether (3X200 mL). The combined organic layer was washed with water (3X200 mL), dried over MgSO₄, and concentrated to dryness. The crude methyl ester was treated with I₂ (7.65 g, 30.1 mmol), imidazole (4.11 g, 60.4 mmol), and Ph₃P (10.55 g, 40.2 mmol) in toluene (300 mL) at 60°C for 4 hours.

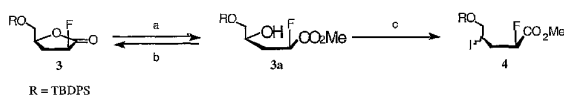
WO 03/000200

PCT/US02/20245

Aqueous NaHCO_3 (200 mL) was added to the resulting mixture and iodine was added portion-wise until the iodine color persisted to remove remaining Ph_3P . Aqueous $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ was added dropwise until the iodine color disappeared to remove the remaining iodine. The resulting mixture was poured to a separatory funnel, diluted with 300 mL of toluene, washed with brine, dried over MgSO_4 , filtered, concentrated, and purified by silica gel column chromatography with 7% EtOAc in hexanes to give compounds **D-4** (7.52 g, 14.6 mmol, 73% yield) as pale yellow oil. ^1H NMR (CDCl_3) for major δ 7.71–7.33 (m, 10H), 5.08 (ddd, $J = 47.9, 7.2, 5.0$ Hz, 1H), 4.31–4.17 (m, 1H), 3.96–3.76 (m, 2H), 3.79 (s, 3H) 2.75–2.08 (m, 2H), 1.10 (s, 9H), for minor δ 7.71–7.33 (m, 10H), 5.16 (ddd, $J = 48.2, 10.3, 2.1$ Hz, 1H), 4.31–4.17 (m, 1H), 3.96–3.76 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.75–2.08 (m, 2H), 1.08 (s, 9H); HRMS (FAB) obsd, m/z 515.0945, calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{FIO}_3\text{Si}$, m/z 515.0915 ($\text{M}+\text{H}^+$); Anal. Calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{FIO}_3\text{Si} \cdot 0.2\text{C}_6\text{H}_{14}$: C, 52.41; H, 5.84; I, 23.87. Found: C, 52.30; H, 5.55; I, 23.83.

The ^1H NMR of the crude compound **D-3** showed no contamination by the epimer at C2.

Scheme 1. Epimerization at C4 during iodination^a



^aKeys: (a) i) NaOH , EtOH , ii) dimethyl sulfate, DMSO , (b) pyridine, rt, c) I_2 , Ph_3P , imidazole, toluene

In order to confirm which carbon center has epimerized, the hydroxyl methylester **D-3a** was subjected to re-closure of the ring to give the starting 2-fluorobutenolide **D-3** under basic conditions (**Scheme 1**). The spectroscopic data (^1H and ^{13}C NMR) of this compound matched that of the starting compound, which suggested that there was no significant epimerization during saponification followed by methylation. Iodination under several different reaction conditions, however, confirmed that high temperature and longer reaction time resulted in partial epimerization at C4. Treatment of the hydroxyl methylester **D-3a** under Mitsunobu conditions at 60°C for 4 hours was found to be the optimum conditions to minimize the epimerization. The epimeric mixture of iodoester **4** was subjected to nucleophilic attack by potassium thioacetate in DMF to give

WO 03/000200

PCT/US02/20245

an epimeric mixture of thioacetates **D-5**. DIBAL-mediated reduction of the thioacetates **5** followed by Moffat-type oxidation provided the corresponding thiolactone **D-6** and **D-6a**, in 54% yield. At this stage, the two epimers could be separated by column chromatography on silica gel. During the ensuing phenylselenylation, the C2 position was sp²-hybridized by trapping the enolate as silylenolether. The phenylselenenyl group approached the least hindered α face of the silylenolether to give the corresponding enantiomers **D-7** and **L-7** (Figure 3a). The optical rotation values of these two compounds were matched with opposite signs {for **D-7**; $[\alpha]_D^{24}$ 54.0° (c 0.606, CHCl₃) and for **L-7**; $[\alpha]_D^{24}$ -56.4° (c 0.542, CHCl₃)}, which finally confirmed the epimerization at C4 during iodination under Mitsunobu conditions. The epimerized product **L-7**, therefore, can be recycled as the key intermediate for the synthesis of L-antipodes.

A similar procedure was followed using compound **L-3** (12.2 g, 32.6 mmol) treated with solid NaOH (1.44 g, 36.0 mmol) to give compounds **L-4** (13.7 g, 26.6 mmol, 82% yield) as pale yellow oil. ¹H NMR (CDCl₃) for major δ 7.75~7.35 (m, 10H), 5.10 (ddd, J = 48.4, 7.5, 5.2 Hz, 1H), 4.33~4.18 (m, 1H), 3.95~3.78 (m 2H), 3.82 (s, 3H) 2.80~2.40 (m, 2H), 1.10 (s, 9H), for minor δ 7.75~7.35 (m, 10H), 5.18 (ddd, J = 49.2, 10.8, 2.3 Hz, 1H), 4.33~4.18 (m, 1H), 3.95~3.78 (m 2H), 3.83 (s, 3H), 2.45~2.10 (m, 2H), 1.09 (s, 9H); HRMS (FAB) obsd, m/z 515.0972, calcd for C₂₂H₂₉FO₃Si, m/z 515.0915 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₂₂H₂₈FO₃Si 0.05C₆H₁₄: C, 51.63; H, 5.58; I, 24.46. Found: C, 51.84; H, 5.53; I, 24.52.

Example 27

(2*S*,4*R*/*S*)-4-acetylsulfanyl-5-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-2-fluoropentanoic acid methyl ester (**D-5**, Figure 3a) and (2*R*,4*S*/*R*)-4-acetylsulfanyl-5-*tert*-butyldiphenylsilyloxy-2-fluoropentanoic acid methyl ester (**L-5**, Figure 4a)

A solution of compounds **D-4** (11.72 g, 22.8 mmol) in 12 mL of DMF was treated with solid KSAC (5.2 g, 45.7 mmol) at room temperature for 8 hours. The resulting mixture was diluted with EtOAc (500 mL), washed with water (2X200 mL), dried over MgSO₄, filtered, concentrated and purified by column chromatography with

WO 03/000200

PCT/US02/20245

10% EtOAc in hexanes to give products **D-5** (9.2 g, 19.9 mmol, 87% yield) as a red-brown oil. ¹H NMR (CDCl₃) for major δ 7.61~7.32 (m, 10H), 5.22~4.88 (m, 1H), 3.89~3.65 (m, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.41~2.07 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 1.05 (s, 9H), for major δ 7.61~7.32 (m, 10H), 5.22~4.88 (m, 1H), 3.89~3.65 (m, 3H), 3.78 (s, 3H), 2.41~2.07 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 1.06 (s, 9H); HRMS (FAB) obsd, *m/z* 463.1770, calcd for C₂₄H₃₂FO₄SSi, *m/z* 463.1775 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₂₄H₃₁FO₄SSi: C, 62.31; H, 6.75; S, 6.93. Found: C, 62.03; H, 6.63; S, 6.98.

A similar procedure was followed using compound **L-4** (13.7 g, 26.6 mmol) in 20 mL of DMF was treated with solid KSAc (6.08 g, 53.2 mmol) to give products **L-5** (11.14 g, 24.1 mmol, 91% yield) as a red-brown oil. ¹H NMR (CDCl₃) for major δ 7.67~7.35 (m, 10H), 5.12~4.92 (m, 1H), 3.93~3.68 (m, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.44~2.10 (m, 2H), 2.32 (s, 3H), 1.057 (s, 9H), for major δ 7.67~7.35 (m, 10H), 5.12~4.92 (m, 1H), 3.93~3.68 (m, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.44~2.10 (m, 2H), 2.30 (s, 3H), 1.062 (s, 9H); HRMS (FAB) obsd, *m/z* 463.1789, calcd for C₂₄H₃₂FO₄SSi, *m/z* 463.1775 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₂₄H₃₁FO₄SSi: C, 62.31; H, 6.75; S, 6.93. Found: C, 62.36; H, 6.69; S, 7.04.

Example 28

(2*S*,4*S*)-(+)-4-*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-γ-thiobutyrolactone (**D-6**, Figure 3a) and (2*R*,4*R*)-(-)-4-*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-γ-thiobutyrolactone (**L-6**, Figure 4a)

A solution of compounds **D-5** (9.2 g, 19.9 mmol) in toluene (200 mL) was treated with 43.7 mL of 1M DIBAL-H in hexane at -78°C for 1 hour. The reaction was quenched with 9.6 mL of MeOH and warmed up to room temperature for 1 hour and aqueous NaHCO₃ (19 mL) and EtOAc (200 mL) were added to the mixture. The resulting mixture was filtered and the filtrate was concentrated to dryness. The crude thiolactol was treated with Ac₂O (19 mL) and DMSO (20 mL) at room temperature for 24 hours. The reaction mixture was poured to a separatory funnel containing ice-cooled water (300 mL) and extracted with ethyl ether (3 x 300 mL). The combined organic layer was washed with water (3 x 300 mL), dried over MgSO₄, filtered, concentrated and purified by silica gel column chromatography with 5% Et₂O in hexanes to give the

WO 03/000200

PCT/US02/20245

product **D-6** (4.2 g, 10.8 mmol, 54% yield) and **D-6a** (0.7 g, 1.8 mmol, 9% yield) as a yellow oil. For **D-6**: $[\alpha]_D^{25}$ 28.2° (c 1.08, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.68–7.37 (m, 10H), 5.07 (ddd, *J* = 50.5, 10.2, 6.9 MHz, 1H), 3.96–3.78 (m, 3H), 2.70–2.62 (m, 1H), 2.18–2.05 (m, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 200.69 (d, *J* = 18.0 MHz), 135.53, 132.68, 132.60, 130.01, 127.86, 93.27 (d, *J* = 197.0 MHz), 66.64, 43.98 (d, *J* = 7.0 MHz), 32.61 (d, *J* = 19.4 MHz), 26.69, 19.23; Anal. Calcd for C₂₁H₂₅FO₂SSi: C, 64.91; H, 6.48; S, 8.25. Found: C, 64.88; H, 6.51; S, 8.15. For **D-6a**: $[\alpha]_D^{27}$ -46.7° (c 0.5, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.66–7.40 (m, 10H), 5.18 (dt, *J* = 44.4, 7.0 Hz, 1H), 4.02 (quint, *J* = 5.0 Hz) 3.86 (dd, *J* = 10.8, 5.0 Hz, 1H), 3.84 (dd, *J* = 10.8, 5.0 Hz, 1H), 2.88–2.78 (m, 2H), 1.07 (s, 9H); Anal. (C₂₁H₂₅FO₂SSi) C, H, S.

Similarly, (2R,4R)-(-)-4-tert-butylidiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-γ-thiobutyrolactone (**L-6**, **Figure 4a**), was made. A solution of compounds **L-5** (11.1 g, 24.1 mmol) in toluene (200 mL) was treated with 53 mL of 1M DIBAL-H in hexane at -78°C for 1 hour. The reaction was quenched with 12 mL of MeOH and warmed up to room temperature for 1 hour and aqueous NaHCO₃ (23 mL) and EtOAc (200 mL) were added to the mixture. The resulting mixture was filtered and the filtrate was concentrated to dryness. The crude thiolactol was treated with Ac₂O (34 mL) and DMSO (35 mL) at room temperature for 24 hours. The reaction mixture was poured to a separatory funnel containing ice-cooled water (300 mL) and extracted with ethyl ether (3 x 300 mL). The combined organic layer was washed with water (3 x 300 mL), dried over MgSO₄, filtered, concentrated and purified by silica gel column chromatography with 5% Et₂O in hexanes to give the product **L-6** (5.08 g, 13.1 mmol, 54% yield) as a yellow oil: $[\alpha]_D^{25}$ -29.4° (c 1.18, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.68–7.37 (m, 10H), 5.07 (ddd, *J* = 50.5, 10.2, 6.9 MHz, 1H), 3.96–3.78 (m, 3H), 2.72–2.62 (m, 1H), 2.18–2.07 (m, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 200.70 (d, *J* = 17.4 MHz), 135.50, 132.66, 132.58, 129.99, 127.85, 93.26 (d, *J* = 196.9 MHz), 66.61, 43.97 (d, *J* = 7.1 MHz), 32.58 (d, *J* = 19.6 MHz), 26.68, 19.21; Anal. Calcd for C₂₁H₂₅FO₂SSi: C, 64.91; H, 6.48; S, 8.25. Found: C, 65.15; H, 6.58; S, 8.12.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 29

(2*R*,4*S*)-(+)-4-*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-2-phenylselenenyl- γ -thiobutyro-lactone (**D-7**, Figure 3a) and (2*S*,4*R*)-(-)-4-*tert*-butyldiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-2-phenylselenenyl- γ -thiobutyro-lactone (**L-7**, Figure 4a)

5 To a solution of compound **D-6** (4.74 g, 12.2 mmol) in THF (60 mL), 14.7 mL of 1M LiHMDS in THF was added slowly at -78°C, and the reaction mixture was stirred at the same temperature for 1 hour. TMSCl (2.01 mL, 15.9 mmol) was added dropwise to the reaction mixture and the mixture was allowed to warm to room temperature. The resulting mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and cooled to -78°C. A
10 solution of PhSeBr (4.37 g, 18.3 mmol) in THF (20 mL) was rapidly added and the mixture was stirred at -78°C for 1 hour. The mixture was diluted with ethyl ether (300 mL), washed with water (4 x 100 mL), dried over MgSO₄, filtered, concentrated and purified by silica gel column chromatography with 3% Et₂O in hexanes to give desired product **D-7** (4.77 g, 8.76 mmol, 72% yield) as a pale yellow syrup. [α]_D²⁴ 54.0° (c
15 0.606, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.68~7.35 (m, 15H), 3.96~3.89 (m, 1H), 3.87 (dd, *J* = 10.2, 5.1 Hz, 1H), 3.80 (dd, *J* = 10.1, 7.1 Hz, 1H), 2.49 (dd, *J* = 13.4, 4.0 Hz, 1H), 2.22 (td, *J* = 13.5, 10.5 Hz, 1H), 1.06 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 196.32 (d, *J* = 23.1 Hz), 137.01, 135.52, 132.63, 132.50, 130.02, 129.99, 129.38, 127.87, 124.78, 105.12 (d, *J* = 260.6 Hz), 65.66, 44.58 (d, *J* = 2.9 Hz), 39.13 (d, *J* = 21.4 Hz), 26.69, 19.20; Anal. Calcd for C₂₇H₂₉FO₂SSeSi: C, 59.65; H, 5.38; S, 5.90. Found: C, 60.10; H, 5.46; S, 5.85.

Similarly, to a solution of compound **L-6** (5.08 g, 13.1 mmol) in THF (60 mL), 15.7 mL of 1M LiHMDS in THF was added slowly at -78°C, and the reaction mixture was stirred at the same temperature for 1 hour. TMSCl (2.16 mL, 17 mmol) was added dropwise to the reaction mixture and the mixture was allowed to warm to room
25 temperature. The resulting mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and cooled to -78°C. A solution of PhSeBr (4.69 g, 19.6 mmol) in THF (20 mL) was rapidly added and the mixture was stirred at -78°C for 1 hour. The mixture was diluted with ethyl ether (300 mL), washed with water (4X100 mL), dried over MgSO₄, filtered, concentrated and purified by silica gel column chromatography with 3% Et₂O in hexanes to give desired product **L-7** (5.28 g, 9.69 mmol, 74% yield) as a pale yellow syrup.
30 [α]_D²⁴ -56.4° (c 0.542, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.70~7.35 (m, 15H), 3.97~3.77 (m,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

3H), 2.49 (dd, $J = 13.3, 4.5$ Hz, 1H), 2.22 (td, $J = 14.4, 10.5$ Hz, 1H), 1.05 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 196.34 (d, $J = 22.7$ Hz), 137.03, 135.53, 132.63, 132.50, 130.03, 129.39, 127.87, 124.79, 105.13 (d, $J = 260.6$ Hz), 65.67, 44.59 (d, $J = 2.9$ Hz), 39.13 (d, $J = 21.4$ Hz), 26.70, 19.21; HRMS (FAB) obsd, m/z 545.0873, calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{FO}_2\text{SSeSi}$, m/z 545.0885 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; Anal. Calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{FO}_2\text{SSeSi} \cdot 0.15\text{CHCl}_3$: C, 58.07; H, 5.23; S, 5.70. Found: C, 57.88; H, 5.36; S, 5.76.

Alternatively, **L-6** was prepared from **D-6a** in the same manner on 9.69 mmol scale. **D-7a** was obtained in 74 % yield as a pale yellow syrup: $[\alpha]_D^{24} -56.4^\circ$ (c 0.542, CHCl_3); ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.70–7.35 (m, 15H), 3.97–3.77 (m, 3H), 2.49 (dd, $J = 13.3, 4.5$ Hz, 1H), 2.22 (td, $J = 14.4, 10.5$ Hz, 1H), 1.05 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 196.34 (d, $J = 22.7$ Hz), 137.03, 135.53, 132.63, 132.50, 130.03, 129.39, 127.87, 124.79, 105.13 (d, $J = 260.6$ Hz), 65.67, 44.59 (d, $J = 2.9$ Hz), 39.13 (d, $J = 21.4$ Hz), 26.70, 19.21; HRMS (FAB) obsd, m/z 545.0873, calcd for $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{FO}_2\text{SSeSi}$, m/z 545.0885 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; Anal. ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{FO}_2\text{SSeSi} \cdot 0.15\text{CHCl}_3$) C, H, S.

Example 30

(1R,5R,2R,4S)-1-O-acetyl-5-O-(tert-butylidiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenyl-4-thio-β-D-ribofuranoside (D-8, Figure 3a)

A solution of compounds **D-7** (4.77 g, 8.76 mmol) in toluene (100 mL) was treated with 17.5 mL of 1M DIBAL-H in hexane at -78°C for 1 hour. The reaction was quenched with 4 mL of MeOH and warmed up to room temperature for 1 hour and aqueous NaHCO_3 (8 mL) and EtOAc (100 mL) were added to the mixture. The resulting mixture was filtered, and the filtrate was concentrated to dryness. A solution of the crude thiolactol in CH_2Cl_2 (100 mL) was treated with Ac_2O (2.48 mL, 26.3 mmol), TEA (3.66 mL, 26.3 mmol) and catalytic amount of 4-DMAP at room temperature for 3 hours. The resulting mixture was concentrated and purified by silica gel column chromatography with 3% Et₂O in hexanes to give the acetate **D-8** (4.4 g, 7.48 mmol, 85% yield) as a pale yellow oil. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.70–7.32 (m, 15H), 6.03, 5.99 (d & s, $J = 7.6$ Hz, 1H), 3.76–3.60 (m, 3H), 2.60–2.53 (m, 1H), 2.41–2.31 (m, 1H) 2.13,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

2.01 (2s, 3H), 1.04, 0.99 (2s, 9H); Anal. Calcd for C₂₉H₂₈FO₃SSeSi: C, 59.27; H, 5.66; S, 5.46. Found: C, 59.61; H, 5.72; S, 5.57.

Example 31

(1*S*,2*S*,4*R*)-1-*O*-acetyl-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenyl-selenyl-4-thio-β-L-ribofuranoside (L-8, Figure 4a)

A solution of compound L-7 (4.98 g, 9.14 mmol) in toluene (100 mL) was treated with 18.3 mL of 1M DIBAL-H in hexane at -78°C for 1 hour. The reaction was quenched with 4 mL of MeOH and warmed up to room temperature for 1 hour and aqueous NaHCO₃ (8 mL) and EtOAc (100 mL) were added to the mixture. The resulting mixture was filtered, and the filtrate was concentrated to dryness. A solution of the crude thiolactol in CH₂Cl₂ (100 mL) was treated with Ac₂O (2.6 mL, 28 mmol), TEA (3.8 mL, 28 mmol) and catalytic amount of 4-DMAP at room temperature for 3 hours. The resulting mixture was concentrated and purified by silica gel column chromatography with 3% Et₂O in hexanes to give the acetate L-8 (4.48 g, 7.61 mmol, 83% yield) as a pale yellow oil. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.70–7.32 (m, 15H), 6.03, 5.99 (d & s, J = 7.6 Hz, 1H), 3.76–3.60 (m, 3H), 2.60–2.53 (m, 1H), 2.41–2.31 (m, 1H) 2.13, 2.01 (2s, 3H), 1.04, 0.99 (2s, 9H); Anal. Calcd for C₂₉H₂₈FO₃SSeSi: C, 59.27; H, 5.66; S, 5.46. Found: C, 59.24; H, 5.68; S, 5.42.

Example 32

(+)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(1*S*,2*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenyl-selenyl-4-thio-β-D-ribofuranosyl]cytosine (D-9, Figure 3a)

A mixture of *N*⁴-benzoylcytosine (0.505 g, 2.35 mmol) in HMDS (15 mL) and CH₃CN (15 mL) was refluxed for 5 hours. After removing solvent using vacuum pump, a solution of the acetate D-8 (0.460 g, 0.786 mmol) in 15 mL of CH₃CN was added to the reaction flask containing the silylated *N*⁴-benzoylcytosine, then TMSOTf (0.28 mL, 1.4 mmol) was added dropwise at room temperature. After 16 hours, the reaction was quenched with 1 mL of saturated NaHCO₃ and the resulting mixture was concentrated.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The crude mixture was diluted with 100 mL of CH₂Cl₂, washed with aqueous NaHCO₃, dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The crude product was purified by silica gel column chromatography with 30% EtOAc in hexanes to give cytosine derivative **D-9** (0.269 g, 0.362 mmol, 46 % yield) as a foam. The condensation gave the β-anomer exclusively by virtue of the bulky α-phenylselenenyl group (Chu, C. K.; Babu, J. R.; Beach, W.; Ahn, S. K.; Huang, H.; Jeong, L. S.; Lee, S. J. A highly stereoselective glycosylation of 2-(phenylselenenyl)-2,3-dideoxyribose derivative with thymine: Synthesis of 3'-deoxy-2',3'-didehydrothymidine and 3'-deoxythymidine. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 1418-1420). [α]_D²⁴ 179.9° (c 0.50, CH₂Cl₂); UV(MeOH) λ_{max} 308 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.69-7.27 (m, 19H), 6.91 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 3.87-3.72 (m, 2H), 3.68-3.58 (m, 1H), 2.62-2.47 (m, 2H), 1.02 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 161.94, 155.42, 147.17, 136.96, 135.60, 135.54, 133.21, 132.83, 129.96, 129.92, 129.41, 129.20, 129.03, 127.78, 127.60, 125.73, 106.39 (d, *J* = 248.8 Hz), 96.87, 66.74 (d, *J* = 17.6 Hz), 66.29, 47.21, 42.39 (d, *J* = 22.2 Hz), 26.73, 19.15; Anal. Calcd for C₃₈H₃₈FN₃O₅SSeSi: C, 61.44; H, 5.16; N, 5.66; S, 4.32. Found: C, 61.52; H, 5.42; N, 5.47; S, 4.21.

A similar procedure for condensation of the acetate **D-8** with various pyrimidines can be performed to obtain the various other (+)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(*1S,2S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldi-phenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenyl-selenenyl-4-thio-β-D-ribofuranosyl]pyrimidines.

For instance, (+)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(*1S,2S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenenyl-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-5-fluorocytosine (**D-10**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for condensation reaction of the acetate **D-8** with pyrimidines. The compound **D-10** was obtained on 0.850-mmol scale in 52 % yield. [α]_D²⁴ 202.6° (c 0.410, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 332.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.87 (dd, *J* = 5.9, 1.7 Hz, 1H), 7.72-7.28 (m, 18H), 6.73 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H), 3.92-3.76 (m, 2H), 3.67-3.58 (dt *J* = 11.5, 6.8 Hz, 1H), 2.63-2.46 (m, 2H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 151.88 (d *J* = 19.2 Hz), 147.15, 139.01 (d, *J* = 237.9 Hz), 136.78, 135.90, 135.49, 135.47, 133.00, 132.71, 130.01, 129.96, 129.91, 129.51, 129.18, 128.24, 127.76, 126.85 (d, *J* = 34.4 Hz), 124.74, 105.60 (d, *J* = 247.5 Hz), 67.01 (d, *J* = 18.6), 66.43, 47.19, 41.64 (d, *J* = 21.0 Hz), 26.68, 19.09.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In addition, the thymine analog (**D-11**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for condensation reaction of the acetate **D-8** with pyrimidines. The compound **D-11** was obtained on 0.850-mmol scale in 45 % yield. $[\alpha]_D^{25}$ 137.8° (c 0.42, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ (CH₂Cl₂) 266.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.13 (br s, 1H), 7.74~7.25 (m, 16H), 6.72 (d, *J* = 18.1 Hz, 1H), 3.87~3.73 (m, 2H), 3.67~3.57 (m, 1H), 2.62~2.44 (m, 2H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 163.25, 150.93, 137.22 (d, *J* = 6.1 Hz), 136.88, 135.48, 132.94, 132.90, 129.87, 129.46, 129.15, 127.74, 125.16, 110.67, 106.15 (d, *J* = 247.03 Hz), 66.76, 65.85 (d, *J* = 18.3 Hz), 46.79, 42.04 (d, *J* = 21.0 Hz), 26.70, 19.17, 12.59.

Similarly, the uracil analog (**D-12**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for condensation reaction of the acetate **D-8** with pyrimidines. The compound **D-12** was obtained on 0.766-mmol scale in 53 % yield. $[\alpha]_D^{23}$ 136.5° (c 0.36, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 262.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.68~7.30 (m, 15H), 6.63 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H), 5.56 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 3.87~3.72 (m, 2H), 3.62~3.58 (ps quin, *J* = 6.2 Hz, 1H), 2.55~2.41 (m, 2H), 1.03 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 162.77, 150.77, 141.80 (d, *J* = 5.0 Hz), 136.94, 135.58, 135.51, 132.80, 132.77, 129.93, 129.61, 129.26, 127.79, 125.12, 106.24 (d, *J* = 248.7 Hz), 102.31, 66.06, 65.99 (d, *J* = 14.6 Hz), 46.86, 41.58 (d, *J* = 21.8 Hz), 26.75, 19.18.

The synthesis of purine analogues needed more careful treatments. The key intermediate **D-8** was condensed with 6-chloropurine and 2-fluoro-6-chloropurine to give the corresponding nucleosides **D-21** and **D-22** in 65% and 66% yield, respectively. To achieve a clean and high-yield conversion, the temperature of the reaction mixture had to be carefully controlled in such a manner that, after addition of TMSOTf at 0°C, the reaction mixture was stirred for 6 hours at room temperature and then for 2 hours at 60°C. The 6-chloropurine derivative **D-21** was *syn*-eliminated by successive treatment with mCPBA and pyridine to give an inseparable mixture of 2',3'-unsaturated nucleoside **D-23** and its $\Delta^{1,2}$ -isomer **D-24** in 81% yield (3:1 determined by ¹H NMR). Amination of the mixture of **D-23** and **D-24** by treatment with methanolic ammonia at 100°C in a steel bomb gave the adenosine analogue, which was deprotected by TBAF in THF to give 2'-fluoro-4'-thio-2',3'-unsaturated adenosine **24** in 61% yield. The $\Delta^{1,2}$ -isomer **D-24**, however, did not survive under reaction conditions and silica gel column chromatography due to its instability. The 2-fluoro-6-chloropurine derivative **D-22** was

WO 03/000200

PCT/US02/20245

also treated with mCPBA followed by pyridine to give an inseparable mixture of the *syn*-eliminated product **D-25** and its $\Delta^{1,2}$ -isomer **D-26** in 71% yield. Dry ammonia gas was bubbled into a solution of **D-25** and **D-26** in ethylene glycol dimethyl ether (DME) at room temperature for 16 hours to give the 2-amino-6-chloropurine derivative **D-29** and 2-fluoro-6-aminopurine derivative **D-30** in 45% and 25% yield, respectively, which were readily separated by silica gel column chromatography. The $\Delta^{1,2}$ -isomer **D-26** was not stable enough to survive the reaction and purification conditions.

Example 33

(-)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(1*S*,2*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenenyl-4-thio- β -L-ribofuranosyl]cytosine (**L-9**, Figure 4a)

A mixture of *N*⁴-benzoylcytosine (0.548 g, 2.55 mmol) in HMDS (15 mL) and CH₃CN (15 mL) was refluxed for 5 hours. After removing solvent using vacuum pump, a solution of the acetate **L-8** (0.500 g, 0.849 mmol) in 15 mL of CH₃CN was added to the reaction flask containing the silylated *N*⁴-benzoylcytosine, and then TMSOTf (0.31 mL, 1.7 mmol) was added dropwise at room temperature. After 16 hours, the reaction was quenched with 1 mL of saturated NaHCO₃ and the resulting mixture was concentrated to one fifth of volume. The crude mixture was diluted with 100 mL of CH₂Cl₂, washed with aqueous NaHCO₃, dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The crude product was purified by silica gel column chromatography with 30% EtOAc in hexanes to give cytosine derivative **L-9** (0.300 g, 0.404 mmol, 48% yield) as a foam. $[\alpha]_D^{24}$ -168.38° (c 0.486, CH₂Cl₂); UV(MeOH) $\lambda_{\max}$ 308 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, *J* = 6.5 Hz, 1H), 7.92 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.69~7.27 (m, 19H), 6.91 (d, *J* = 15.6 Hz, 1H), 3.87~3.72 (m, 2H), 3.68~3.58 (m, 1H), 2.62~2.47 (m, 2H), 1.02 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 161.94, 155.42, 147.17, 136.96, 135.60, 135.54, 133.21, 132.83, 129.96, 129.92, 129.41, 129.20, 129.03, 127.78, 127.60, 125.73, 106.39 (d, *J* = 248.8 Hz), 96.87, 66.74 (d, *J* = 17.6 Hz), 66.29, 47.21, 42.39 (d, *J* = 22.2 Hz), 26.73, 19.15; Anal. Calcd for C₃₈H₃₈FN₃O₃SSeSi0.2Et₂O: C, 61.51; H, 5.32; N, 5.55; S, 4.23. Found: C, 61.88; H, 5.55; N, 5.56; S, 4.21.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

(-)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(*1S,2S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenyl-4-thio-β-*L*-ribofuranosyl]-5-fluorocytosine (**L-10**, **Figure 4a**) was made using the general procedure for condensation reaction of the acetate **L-8** with pyrimidines. The compound **L-10** was obtained on 0.849-mmol scale in 59% yield: $[\alpha]_D^{24} -209.1^\circ$ (c 0.693, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 332.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.87 (dd, *J* = 5.9, 1.7 Hz, 1H), 7.72~7.28 (m, 18H), 6.73 (d, *J* = 16.3 Hz, 1H), 3.92~3.76 (m, 2H), 3.67~3.58 (dt *J* = 11.5, 6.8 Hz, 1H), 2.63~2.46 (m, 2H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 151.88 (d *J* = 19.2 Hz), 147.15, 139.01 (d, *J* = 237.9 Hz), 136.78, 135.90, 135.49, 135.47, 133.00, 132.71, 130.01, 129.96, 129.91, 129.51, 129.18, 128.24, 127.76, 126.85 (d, *J* = 34.4 Hz), 124.74, 105.60 (d, *J* = 247.5 Hz), 67.01 (d, *J* = 18.6), 66.43, 47.19, 41.64 (d, *J* = 21.0 Hz), 26.68, 19.09; FABMS *m/z* 762 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₃₈H₃₇F₂N₃O₃SSeSi: C, 59.99; H, 4.90; N, 5.52; S, 4.21. Found: C, 59.97; H, 5.05; N, 5.44; S, 4.23.

This general procedure for condensation reaction of the acetate **L-8** is applicable for condensation with various pyrimidines.

(-)-1-[(*1S,2S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenyl-4-thio-β-*L*-ribofuranosyl]thymine (**L-11**, **Figure 4a**) was made using the general procedure for condensation reaction of the acetate **L-8** with pyrimidines. The compound **L-11** was obtained on 0.849-mmol scale in 38% yield: $[\alpha]_D^{26} -130.6^\circ$ (c 0.464, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ (CH₂Cl₂) 266.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.13 (br s, 1H), 7.74~7.25 (m, 16H), 6.72 (d, *J* = 18.1 Hz, 1H), 3.87~3.73 (m, 2H), 3.67~3.57 (m, 1H), 2.62~2.44 (m, 2H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 163.25, 150.93, 137.22 (d, *J* = 6.1 Hz), 136.88, 135.48, 132.94, 132.90, 129.87, 129.46, 129.15, 127.74, 125.16, 110.67, 106.15 (d, *J* = 247.03 Hz), 66.76, 65.85 (d, *J* = 18.3 Hz), 46.79, 42.04 (d, *J* = 21.0 Hz), 26.70, 19.17, 12.59; FABMS *m/z* 655 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₃₂H₃₅FN₂O₃SSeSi 0.1CH₂Cl₂: C, 58.22; H, 5.36; N, 4.23; S, 4.84. Found: C, 58.05; H, 5.46; N, 4.20; S, 4.98.

(-)-1-[(*1S,2S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenyl-4-thio-β-*L*-ribofuranosyl]uracil (**L-12**, **Figure 4a**) was made using the general procedure for condensation reaction of the acetate **L-8** with pyrimidines. The compound **L-12** was obtained on 0.849-mmol scale in 48% yield: $[\alpha]_D^{23} -129.2^\circ$ (c 0.578, CH₂Cl₂);

WO 03/000200

PCT/US02/20245

UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 262.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.68~7.30 (m, 15H), 6.63 (d, J = 14.7 Hz, 1H), 5.56 (dd, J = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 3.87~3.72 (m, 2H), 3.62~3.58 (ps quin, J = 6.2 Hz, 1H), 2.55~2.41 (m, 2H), 1.03 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 162.77, 150.77, 141.80 (d, J = 5.0 Hz), 136.94, 135.58, 135.51, 132.80, 132.77, 129.93, 129.61, 129.26, 127.79, 125.12, 106.24 (d, J = 248.7 Hz), 102.31, 66.06, 65.99 (d, J = 14.6 Hz), 46.86, 41.58 (d, J = 21.8 Hz), 26.75, 19.18; Anal. Calcd for C₃₁H₃₃FN₂O₃SSi: C, 58.20; H, 5.20; N, 4.38; S, 5.01. Found: C, 58.18; H, 5.33; N, 4.33; S, 4.95.

Example 34

10 (-)-N⁴-Benzoyl-1-[(1*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]cytosine (D-13, Figure 3a)

To a solution of compound **D-9** (0.229 g, 0.310 mmol) in 5 mL of CH₂Cl₂, a solution of mCPBA (57~86%, 69 mg) in 5 mL of CH₂Cl₂ was added at -78°C and the mixture was stirred at -78°C for 30 minutes. Pyridine (0.07 mL, 0.9 mmol) was then added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 2 hours. The reaction mixture was diluted with 50 mL of CH₂Cl₂, washed with aqueous NaHCO₃, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The crude product was purified by silica gel column chromatography with 40% EtOAc in hexanes to give eliminated product **D-13** (0.107 g, 0.225 mmol, 72 % yield) as a foam. $[\alpha]_{\text{D}}^{25}$ -140.2° (c 0.366, CH₂Cl₂); UV(MeOH) λ_{max} 308 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.95 (brs, 1H), 7.91 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.69~7.38 (m, 15H), 7.03 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 4.23~4.15 (m, 1H), 3.83 (dd, J = 10.4, 6.1 Hz, 1H), 3.78 (dd, J = 10.4, 6.3 Hz, 1H), 1.10 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.09, 166.78, 162.14, 155.06, 155.04 (d, J = 280.8 Hz), 144.49, 135.58, 135.50, 133.19, 132.96, 132.76, 132.43, 130.11, 128.97, 127.89, 127.58, 111.29 (d, J = 16.6 Hz), 98.40, 67.75, 61.91 (d, J = 23.6 Hz), 46.83 (d, J = 7.2 Hz), 26.82, 19.24; Anal. Calcd for C₃₂H₃₃FN₂O₃SSi: C, 65.88; H, 5.66; N, 7.07; S, 5.39. Found: C, 66.01; H, 5.88; N, 6.82; S, 5.20.

General procedure for *syn*-elimination reaction using mCPBA to give 2',3'-unsaturated nucleosides.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

A similar procedure for *syn*-elimination reaction using mCPBA can be performed to obtain the various other 2',3'-unsaturated nucleosides.

For instance, (-)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(*1S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-5-fluorocytosine (**D-14**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for *syn*-elimination reaction using mCPBA. The compound **D-14** was obtained on 0.465-mmol scale in 69 % yield. $[\alpha]_D^{25} -150.5^\circ$ (c 0.345, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 331.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.72~7.38 (m, 14H), 6.95 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 4.23~4.15 (m, 1H), 3.84 (dd, *J* = 10.5, 6.2 Hz, 1H), 3.79 (dd, *J* = 10.2, 6.6 Hz, 1H), 1.10 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 152.88 (d, *J* = 281.3 Hz), 152.08 (d, *J* = 19.1 Hz), 147.13, 140.42 (d, *J* = 241.0 Hz), 135.86, 135.59, 135.50, 133.17, 132.59, 132.39, 130.18, 130.15, 130.11, 128.33, 127.93, 124.05 (d, *J* = 36.2 Hz), 111.24 (d, *J* = 16.5 Hz), 67.77, 61.85 (d, *J* = 23.54 Hz), 47.05 (d, *J* = 7.1 Hz), 26.79, 19.23.

In addition, (-)-1-[(*1S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]thymine (**D-15**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for *syn*-elimination reaction using mCPBA. The compound **D-15** was obtained on 0.375-mmol scale in 69 % yield: $[\alpha]_D^{26} -43.2^\circ$ (c 0.34, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 266.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.45 (br s, 1H), 7.72~7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 5.81 (s, 1H), 4.22~4.13 (m, 1H), 3.85 (dd, *J* = 10.5, 6.5 Hz, 1H), 3.77 (dd, *J* = 10.2, 7.0 Hz, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.08 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 163.47, 154.97 (d, *J* = 281.2 Hz), 150.78, 135.52, 135.43, 134.52, 132.79, 132.51, 130.03, 127.84, 112.65, 110.45 (d, *J* = 16.8 Hz), 68.23, 60.49 (d, *J* = 23.7 Hz), 46.74 (d, *J* = 7.1 Hz), 26.74, 19.23, 12.54.

Similarly, (-)-1-[(*1S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]uracil (**D-16**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for *syn*-elimination reaction using mCPBA. The compound **D-16** was obtained on 0.391-mmol scale in 58 % yield. $[\alpha]_D^{25} -72.1^\circ$ (c 0.35, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 262.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 9.34 (br s, 1H), 7.70~7.35 (m, 11H), 6.93 (s, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.44 (dd, *J* = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 4.22~4.14 (m, 1H), 3.85 (dd, *J* = 10.6, 5.9 Hz, 1H), 3.81 (dd, *J* = 10.5, 5.6 Hz, 1H), 1.09 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 162.78, 154.79 (d, *J* = 280.9 Hz), 150.59, 139.55, 135.59, 135.49, 132.79, 132.37,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

130.13, 130.10, 127.92, 127.90, 110.70 (d, $J = 16.9$ Hz), 104.01, 67.33, 60.74 (d, $J = 23.7$ Hz), 46.88 (d, $J = 7.2$ Hz), 26.87, 19.31.

9-[(*1R,4S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**D-23**, **Figure 3b**) and 9-[(*4S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-1,2-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**D-24**, **Figure 3b**) were also made using the general procedure for *syn*-elimination reactions. A mixture of compounds **D-23** and **D-24** (3:1) were obtained on 1.48-mmol scale in 86% yield as a pale yellow foam. UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 264.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃), for major **D-23**: δ 8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.69~7.35 (m, 10H), 6.87 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 4.33~4.25 (m, 1H), 3.96 (dd, $J = 10.2$, 6.8 Hz, 1H), 3.86 (ps t, $J = 8.8$ Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); for minor **D-24** δ 8.82 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.69~7.35 (m, 10H) 4.05~3.78 (m, 3H), 3.25 (ddd, $J = 16.6$, 9.2, 3.1 Hz, 1H), 3.03 (dd, $J = 16.6$, 5.2 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); Anal. Calcd for C₂₆H₂₆ClFN₄OSSi: C, 59.47; H, 4.99; N, 10.67; S, 6.11. Found: C, 59.58; H, 5.03; N, 10.41; S, 6.09.

Similarly, 9-[(*1R,4S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-6-chloro-2-fluoropurine (**D-25**, **Figure 3b**) and 9-[(*4S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-1,2-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -ribofuranosyl]-6-chloro-2-fluoropurine (**D-26**, **Figure 3b**) were made using the general procedure for *syn*-elimination reactions. A mixture of compounds **D-25** and **D-26** were obtained on 1.14-mmol scale in 71% yield as a pale yellow foam. UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 266.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) for major **D-25**: δ 8.08 (s, 1H), 7.69~7.36 (m, 10H), 6.68 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 4.32~4.23 (m, 1H), 3.94 (dd, $J = 10.2$, 6.0 Hz, 1H), 3.87~3.83 (m, 1H), 1.08 (s, 9H), for minor **D-26** δ 8.12 (s, 1H), 7.75~7.31 (m, 10H) 4.04~3.80 (m, 3H), 3.24 (ddd, $J = 16.3$, 9.3, 3.1 Hz, 1H), 3.01 (ddd, $J = 16.8$, 5.1, 0.6 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 35

(+)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(*IS,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-*L*-ribofuranosyl]cytosine (**L-13**, Figure 4a)

To a solution of compound **L-9** (0.169 g, 0.228 mmol) in 5 mL of CH₂Cl₂, a solution of mCPBA (57~86%, 69 mg) in 5 mL of CH₂Cl₂ was added at -78°C and the mixture was stirred at -78°C for 30 minutes. Pyridine (0.07 mL, 0.9 mmol) was then added and the resulting mixture was stirred at room temperature for 2 hours. The reaction mixture was diluted with 50 mL of CH₂Cl₂, washed with aqueous NaHCO₃, dried over MgSO₄, filtered, and concentrated. The crude product was purified by silica gel column chromatography with 30% EtOAc in hexanes to give eliminated product **L-13** (0.107 g, 0.183 mmol, 80% yield) as a foam. $[\alpha]_D^{24}$ 128.81° (c 0.515, CH₂Cl₂); UV(MeOH) λ_{max} 308 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.95 (brs, 1H), 7.91 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.69~7.38 (m, 15H), 7.03 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 4.23~4.15 (m, 1H), 3.83 (dd, *J* = 10.4, 6.1 Hz, 1H), 3.78 (dd, *J* = 10.4, 6.3 Hz, 1H), 1.10 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 171.09, 166.78, 162.14, 155.06, 155.04 (d, *J* = 280.8 Hz), 144.49, 135.58, 135.50, 133.19, 132.96, 132.76, 132.43, 130.11, 128.97, 127.89, 127.58, 111.29 (d, *J* = 16.6 Hz), 98.40, 67.75, 61.91 (d, *J* = 23.6 Hz), 46.83 (d, *J* = 7.2 Hz), 26.82, 19.24; Anal. Calcd for C₃₂H₃₂FN₃O₃SSi0.1C₆H₁₄: C, 65.88; H, 5.66; N, 7.07; S, 5.39. Found: C, 66.01; H, 5.88; N, 6.82; S, 5.20.

This general procedure for *syn*-elimination reaction using mCPBA can be used to give various 2',3'-unsaturated nucleosides.

(+)-*N*⁴-Benzoyl-1-[(*IS,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-*L*-ribofuranosyl]-5-fluorocytosine (**L-14**, Figure 4a) was made using the general procedure for *syn*-elimination reaction. The compound **L-14** was obtained on 0.493-mmol scale in 73% yield: $[\alpha]_D^{26}$ 152.58° (c 0.485, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 331.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, *J* = 7.3 Hz, 2H), 7.72~7.38 (m, 14H), 6.95 (s, 1H), 5.80 (s, 1H), 4.23~4.15 (m, 1H), 3.84 (dd, *J* = 10.5, 6.2 Hz, 1H), 3.79 (dd, *J* = 10.2, 6.6 Hz, 1H), 1.10 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 152.88 (d, *J* = 281.3 Hz), 152.08 (d, *J* = 19.1 Hz), 147.13, 140.42 (d, *J* = 241.0 Hz), 135.86, 135.59, 135.50, 133.17, 132.59, 132.39, 130.18, 130.15, 130.11, 128.33, 127.93, 124.05 (d, *J* = 36.2 Hz), 111.24 (d, *J* = 16.5 Hz), 67.77, 61.85 (d, *J* = 23.54 Hz), 47.05 (d,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

$J = 7.1$ Hz), 26.79, 19.23; FABMS m/z 604 ($M+H$)⁺; Anal. Calcd for $C_{32}H_{31}FN_3O_3SSi$: C, 63.66; H, 5.18; N, 6.96; S, 5.31. Found: C, 63.69; H, 5.30; N, 6.78; S, 5.26.

(+)-1-[(1*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribofuranosyl]thymine (**L-15**, **Figure 4a**) was made using the general procedure for *syn*-elimination reaction. The compound **L-15** was obtained on 0.326-mmol scale in 76% yield: $[\alpha]_D^{26}$ 50.7° (c 0.530, CH_2Cl_2); UV(CH_2Cl_2) λ_{max} 266.0 nm; ¹H NMR ($CDCl_3$) δ 9.45 (br s, 1H), 7.72–7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 5.81 (s, 1H), 4.22–4.13 (m, 1H), 3.85 (dd, $J = 10.5$, 6.5 Hz, 1H), 3.77 (dd, $J = 10.2$, 7.0 Hz, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.08 (s, 9H); ¹³C NMR ($CDCl_3$) δ 163.47, 154.97 (d, $J = 281.2$ Hz), 150.78, 135.52, 135.43, 134.52, 132.79, 132.51, 130.03, 127.84, 112.65, 110.45 (d, $J = 16.8$ Hz), 68.23, 60.49 (d, $J = 23.7$ Hz), 46.74 (d, $J = 7.1$ Hz), 26.74, 19.23, 12.54; HRMS (FAB) obsd, m/z 497.1725, calcd for $C_{26}H_{30}FN_2O_3SSi$, m/z 497.1730 ($M+H$)⁺; Anal. Calcd for $C_{26}H_{29}FN_2O_3SSi \cdot 0.1CHCl_3$: C, 61.64; H, 5.65; N, 5.38; S, 6.30. Found: C, 61.34; H, 5.82; N, 5.36; S, 6.13.

(+)-1-[(1*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribofuranosyl]uracil (**L-16**, **Figure 4a**) was made using the general procedure for *syn*-elimination reaction. The compound **L-16** was obtained on 0.411-mmol scale in 68% yield: $[\alpha]_D^{26}$ 77.7° (c 0.492, CH_2Cl_2); UV(CH_2Cl_2) λ_{max} 262.5 nm; ¹H NMR ($CDCl_3$) δ 9.34 (br s, 1H), 7.70–7.35 (m, 11H), 6.93 (s, 1H), 5.75 (s, 1H), 5.44 (dd, $J = 8.1$, 1.2 Hz, 1H), 4.22–4.14 (m, 1H), 3.85 (dd, $J = 10.6$, 5.9 Hz, 1H), 3.81 (dd, $J = 10.5$, 5.6 Hz, 1H), 1.09 (s, 9H); ¹³C NMR ($CDCl_3$) δ 162.78, 154.79 (d, $J = 280.9$ Hz), 150.59, 139.55, 135.59, 135.49, 132.79, 132.37, 130.13, 130.10, 127.92, 127.90, 110.70 (d, $J = 16.9$ Hz), 104.01, 67.33, 60.74 (d, $J = 23.7$ Hz), 46.88 (d, $J = 7.2$ Hz), 26.87, 19.31; HRMS (FAB) obsd, m/z 483.1572, calcd for $C_{25}H_{28}FN_3O_3SSi$, m/z 483.1574 ($M+H$)⁺; Anal. Calcd for $C_{25}H_{27}FN_3O_3SSi$: C, 62.21; H, 5.64; N, 5.80; S, 6.64. Found: C, 62.41; H, 5.68; N, 5.71; S, 6.52.

9-[(1*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**L-23**, **Figure 4b**) and 9-[(4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-1,2-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**L-24**, **Figure 4b**) were also made using the general procedure for *syn*-elimination reaction. A mixture of title compounds **L-23** and **L-24** (3:1) were obtained

WO 03/000200

PCT/US02/20245

on 1.10-mmol scale in 81% yield as a pale yellow foam. UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 264.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) for major **L-23**: δ 8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.67 (t, J = 14.4 Hz, 4H), 7.50~7.36 (m, 6H), 6.87 (s, 1H), 5.87 (s, 1H), 4.33~4.24 (m, 1H), 3.96 (dd, J = 10.2, 6.8 Hz, 1H), 3.86 (dd, J = 10.0, 7.5 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); for minor **L-24**: δ 8.81 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.70~7.35 (m, 10H) 4.03~3.83 (m, 3H), 3.25 (ddd, J = 16.8, 9.3, 3.3 Hz, 1H), 3.03 (ddd, J = 16.6, 5.7, 1.2 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); Anal. Calcd for C₂₆H₂₆ClFN₄OSSi: 0.4C₆H₁₄: C, 60.96; H, 5.69; N, 10.01; S, 5.73. Found: C, 60.96; H, 5.50; N, 10.13; S, 5.93.

9-[(*1S,4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribofuranosyl]-6-chloro-2-fluoropurine (**L-25**, **Figure 4b**) and 9-[(*4R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-1,2-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribofuranosyl]-6-chloro-2-fluoropurine (**L-26**, **Figure 4b**) were made using the general procedure for *syn*-elimination reaction. A mixture of compounds **L-25** and **L-26** were obtained on 1.12-mmol scale in 71% yield as a pale yellow foam: UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 266.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) for major **L-25**: δ 8.01 (s, 1H), 7.63~7.28 (m, 10H), 6.68 (s, 1H), 5.79 (s, 1H), 4.25~4.18 (m, 1H), 3.86 (td, J = 10.2, 6.5 Hz, 1H), 3.82~3.77 (m, 1H), 1.01 (s, 9H), for minor **L-26**: δ 8.12 (s, 1H), 7.75~7.31 (m, 10H) 4.04~3.80 (m, 3H), 3.24 (ddd, J = 16.3, 9.3, 3.1 Hz, 1H), 3.01 (ddd, J = 16.8, 5.1, 0.6 Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); Anal. Calcd for C₂₆H₂₅ClF₂N₄OSSi: C, 57.50; H, 4.64; N, 10.32; S, 5.90. Found: C, 57.42; H, 5.02; N, 9.93; S, 5.65.

Example 36

(-)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-cytosine (**D-17**, **Figure 3a**)

A solution of the protected cytidine **D-13** (0.135 g, 0.225 mmol) in 15 mL of THF was treated with 0.31 mL of 1M TBAF in THF for 2 hours. The mixture was concentrated, and filtered through a short pad of silica gel. After the filtrate was concentrated, without further purification, the crude product was treated with methanolic ammonia at room temperature for 30 hours. After removal of solvent, the residue was purified by silica gel column chromatography with 5% MeOH in CH₂Cl₂ to give cytidine

WO 03/000200

PCT/US02/20245

analog **D-17** (0.048 g, 0.186 mmol, 84% yield) as a white solid: mp 89-91°C (dec.); $[\alpha]_D^{24}$ -171.3° (c 0.44, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 279.5 nm (ϵ 19,900, pH 2), 272.0 nm (ϵ 15,900, pH 7), 272.5 nm (ϵ 16,200, pH 11); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 7.83 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.33, 7.37 (2 br s, 2H), 6.85 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.84 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 5.28 (t, *J* = 5.4 Hz, 1H, D₂O exchangeable), 4.02 (m, 1H), 3.59-3.62 (m, 2H); Anal. Calcd for C₉H₁₀FN₃O₅S·0.6H₂O·0.5MeOH: C, 42.36; H, 4.74; N, 15.94; S, 12.16. Found: C, 42.07; H, 4.45; N, 15.62; S, 12.06.

A similar procedure for the two successive deprotections of protected unsaturated nucleosides can be used of the other (-)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]nucleosides.

For example, (-)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-5-fluorocytosine (**D-18**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for two successive deprotections from **D-14**. The compound **D-18** was obtained on 0.296-mmol scale in 90 % yield: mp 187-189°C; $[\alpha]_D^{25}$ -208.3° (c 0.42, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 286.0 nm (ϵ 8,600, pH 2), 282.0 nm (ϵ 7,500, pH 7), 282.0 nm (ϵ 6,900, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.39 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.84 (s, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.84 (dd, *J* = 11.8, 3.7 Hz, 1H), 3.68 (br d, *J* = 10.6, 1H).

Similarly, (-)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-thymine (**D-19**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for two successive deprotections from **D-15**. The compound **D-19** was obtained on 0.235 mmol scale in 88% yield as a white solid: mp 174-176°C; $[\alpha]_D^{25}$ -46.5° (c 0.29, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 268.5 nm (ϵ 5,700, pH 2), 268.5 nm (ϵ 5,500, pH 7), 269.0 nm (ϵ 4,500, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.03 (s, 1H), 6.87 (ps t, *J* = 1.0, 1H), 5.86 (s, 1H), 4.17 (m, 1H), 3.84 (dd, *J* = 11.9, 4.0 Hz, 1H), 3.77 (ddd, *J* = 11.9, 3.7, 1.7 Hz, 1H), 1.88 (d, *J* = 1.2, 3H).

(-)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-uracil (**D-20**, **Figure 3a**) was made using the general procedure for desilylation reaction from **D-16**. The compound **D-20** was obtained on 0.193-mmol scale in 89 % yield: mp 184-185°C; $[\alpha]_D^{25}$ -136.4° (c 0.47, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 263.0 nm (ϵ 9,100, pH 2), 263.0 nm (ϵ 9,700, pH 7), 263.5 nm (ϵ 7,800, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.11 (dd, *J*

WO 03/000200

PCT/US02/20245

= 8.1, 0.8 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.19–4.13 (m, 1H), 3.80 (dd, $J = 11.7, 4.5$ Hz, 1H), 3.71 (ddd, $J = 11.7, 4.1, 1.4$ Hz, 1H).

Similarly, the purine, (+)-9-[(1*R*,4*S*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-2-fluoroadenosine (**D-33**, Figure 3b) was made using the general procedure of desilylation. The compound **D-33** was obtained on 0.22-mmol scale in 70% yield: mp >300°C; $[\alpha]_D^{26} 17.1^\circ$ (c 0.15, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 261.0 nm (ϵ 12,700, pH 2), 261.0 nm (ϵ 12,900, pH 7), 260.5 nm (ϵ 13,100, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.44 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.27–4.22 (m, 1H), 3.89 (dd, $J = 11.7, 4.9$ Hz, 1H), 3.82 (ddd, $J = 12.0, 4.6, 1.2$ Hz, 1H); Anal. Calcd for C₁₀H₉F₂N₅O₅·0.4Et₂O: C, 44.24; H, 4.16; N, 22.24; S, 10.18. Found: C, 44.28; H, 3.97; N, 22.39; S, 10.29.

Alternatively, a similar procedure can be used for analogous desilylations of *tert*-butyldiphenyl ethers by using TBAF.

Example 37

(+)-1-[(1*S*,4*R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-cytosine (**L-17**, Figure 4a)

A solution of the unsaturated cytidine **L-13** (0.180 g, 0.307 mmol) in 15 mL of THF was treated with 0.37 mL of 1M TBAF in THF for 2 hours. The mixture was concentrated, and filtered through a short pad of silica gel. The filtrate was concentrated and, without further purification, the crude product was treated with methanolic ammonia at room temperature for 30 hours. After removal of solvent, the residue was purified by silica gel column chromatography with 5% MeOH in CHCl₃ to give cytidine analog **L-17** (0.066 g, 0.27 mmol, 88% yield) as a white solid: mp 89–91 °C (dec.); $[\alpha]_D^{24} 205.3^\circ$ (c 0.140, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 279.5 nm (ϵ 19,900, pH 2), 272.0 nm (ϵ 15,900, pH 7), 272.5 nm (ϵ 16,200, pH 11); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 7.83 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.33, 7.37 (2 br s, 2H), 6.85 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.84 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 5.28 (t, $J = 5.4$ Hz, 1H, D₂O exchangeable), 4.02 (m, 1H), 3.59–3.62 (m, 2H); Anal. Calcd for C₉H₁₀FN₃O₅·0.32CH₂Cl₂: C, 41.39; H, 3.97; N, 15.54; S, 11.86. Found: C, 41.15; H, 4.10; N, 15.55; S, 11.82.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The general procedure for successive deprotections of protected unsaturated nucleoside can be used to prepare analogous deprotected unsaturated nucleosides.

(+)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-5-fluoro-cytosine (**L-18**, **Figure 4a**) was made using the general procedure for successive deprotections. The compound **L-18** was obtained on 0.346-mmol scale in 88% yield: mp 189~190°C; $[\alpha]_D^{24}$ 169.2° (c 0.159, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 286.0 nm (ϵ 8,600, pH 2). 282.0 nm (ϵ 7,500, pH 7), 282.0 nm (ϵ 6,900, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.39 (d, *J* = 6.6 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 5.84 (s, 1H), 4.17 (s, 1H), 3.84 (dd, *J* = 11.8, 3.7 Hz, 1H), 3.68 (br d, *J* = 10.6, 1H); Anal. Calcd for C₉H₁₀FN₃O₂S: C, 41.38; H, 3.47; N, 16.08; S, 12.27. Found: C, 41.45; H, 3.60; N, 15.95; S, 12.14.

Similarly, (+)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-thymine (**L-19**, **Figure 4a**) was made using the general procedure of desilylation. The compound **L-29** was obtained on 0.248 mmol scale in 91% yield as a white solid: mp 174~176°C; $[\alpha]_D^{24}$ 50.4° (c 0.180, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 268.5 nm (ϵ 5,700, pH 2), 268.5 nm (ϵ 5,500, pH 7), 269.0 nm (ϵ 4,500, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.03 (s, 1H), 6.87 (ps t, *J* = 1.0, 1H), 5.86 (s, 1H), 4.17 (m, 1H), 3.84 (dd, *J* = 11.9, 4.0 Hz, 1H), 3.77 (ddd, *J* = 11.9, 3.7, 1.7 Hz, 1H), 1.88 (d, *J* = 1.2, 3H); Anal. Calcd for C₁₀H₁₁FN₂O₃S·0.35Et₂O: C, 48.18; H, 5.14; N, 9.86; S, 11.28. Found: C, 48.49; H, 4.88; N, 10.07; S, 11.59.

(+)-1-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-uracil (**L-20**, **Figure 4a**) was made using the general procedure for desilylation reaction. The compound **L-20** was obtained on 0.280-mmol scale in 92% yield: mp 184~185°C; $[\alpha]_D^{24}$ 132.9° (c 0.103, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 263.0 nm (ϵ 9,100, pH 2), 263.0 nm (ϵ 9,700, pH 7), 263.5 nm (ϵ 7,800, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.11 (dd, *J* = 8.1, 0.8 Hz, 1H), 6.87 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.77 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 4.19~4.13 (m, 1H), 3.80 (dd, *J* = 11.7, 4.5 Hz, 1H), 3.71 (ddd, *J* = 11.7, 4.1, 1.4 Hz, 1H); Anal. Calcd for C₉H₉FN₂O₃S·0.03CHCl₃: C, 43.76; H, 3.67; N, 11.30; S, 12.94. Found: C, 43.77; H, 3.91; N, 11.13; S, 12.62.

A similar procedure can be used for analogous desilylations of *tert*-butyldiphenyl ethers by using TBAF.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 38

(+)-9-[(1*R*,2*R*,4*S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenyl-selenyl-4-thio-β-L-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**D-21**, Figure 4a)

A mixture of 6-chloropurine (0.947 g, 6.12 mmol) and ammonium sulfate (0.135 g, 1.02 mmol) in 60 mL of HMDS was refluxed for 5 hours. HMDS was evaporated to give yellow solid. To this flask containing the silylated 6-chloropurine, a solution of the acetate **D-8** (1.2 g, 2.04 mmol) in 1,2-dichloroethane (30 mL) was added. The resulting slurry was cooled to -25°C and TMSOTf (0.74 mL, 4.08 mmol) was added dropwise at -25°C. The reaction mixture was stirred for 3 hours at -25 ~ -10°C, for 8 hours at room temperature, and for 5 hours at 40°C. The resulting mixture was diluted with 300 mL of CH₂Cl₂, washed with aqueous NaHCO₃, dried over MgSO₄, filtered and concentrated. The crude product was purified by silica gel column chromatography with 11% EtOAc in hexanes to give compound **D-21** (1.01 g, 1.48 mmol, 73% yield) as a pale yellow foam. $[\alpha]_D^{25}$ 75.4° (c 1.08, CHCl₃); UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 264.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.69 (s, 1H), 8.31 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.70~7.13 (m, 15H), 6.63 (d, *J* = 14.7 Hz, 1H), 3.96 (ps t, *J* = 8.2 Hz, 1H), 3.88 (ps td, *J* = 7.6, 1.8 Hz, 1H), 3.80~3.73 (m, 1H), 2.75~2.63 (m, 1H), 2.60 (td, *J* = 14.7, 7.8 Hz, 1H), 1.05 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 151.84, 150.87, 144.98 (d, *J* = 5.7 Hz), 136.32, 135.60, 135.53, 132.85, 132.76, 131.21, 130.02, 129.96, 129.44, 128.99, 128.79, 127.82, 124.34, 105.10 (d, *J* = 248.1 Hz), 66.64, 65.68 (d, *J* = 20.3 Hz), 47.33, 41.68 (d, *J* = 20.7 Hz), 26.74, 19.17; Anal. Calcd for C₃₂H₃₂ClFN₄OSseSi0.5EtOAc: C, 56.23; H, 5.00; N, 7.71; S, 4.42. Found: C, 56.66; H, 5.26; N, 7.40; S, 4.51.

A similar procedure for the condensation reaction of the acetate **D-8** can be done with the other purines.

For example, (+)-9-[(1*R*,2*R*,4*S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenyl-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-6-chloro-2-fluoropurine (**D-22**, Figure 3b) was made using the same general procedure for condensation reaction of the acetate **D-8**. The compound **D-22** was obtained on 1.70-mmol scale in 67% yield. $[\alpha]_D^{23}$ 81.0° (c 1.37, CHCl₃); UV(CHCl₃) λ_{max} 270.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.27 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H), 7.70~7.14 (m, 15H), 6.45 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 3.97 (dd, *J* = 9.7, 7.3 Hz, 1H), 3.89 (ps td, *J* = 7.6, 1.2 Hz, 1H), 3.80~3.72 (m, 1H), 2.76~2.63 (m, 1H), 2.60 (td, *J* = 14.8, 7.9

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Hz, 1H), 1.06 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 157.00 (d, $J = 220.8$ Hz), 153.53 (d, $J = 17.1$ Hz), 152.4 (d, $J = 17.3$ Hz), 145.53, 136.26, 135.59, 135.52, 132.80, 132.70, 130.03, 129.97, 129.79 (d, $J = 4.9$ Hz), 129.49, 129.00, 127.83, 124.19, 104.99 (d, $J = 248.5$ Hz), 66.53, 65.90 (d, $J = 20.7$ Hz), 47.36, 41.48 (d, $J = 20.7$ Hz), 26.75, 19.17; Anal. Calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{31}\text{ClF}_2\text{N}_4\text{OSSeSi} \cdot 0.2\text{Hexane}$: C, 55.58; H, 4.75; N, 7.81; S, 4.47. Found: C, 55.55; H, 4.68; N, 7.74; S, 4.36.

Example 39

(-)-9-[(1*S*,2*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenenyl-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**L-21**, Figure 4b)

A mixture of 6-chloropurine (0.789 g, 5.10 mmol) and ammonium sulfate (0.112 g, 0.85 mmol) in 30 mL of HMDS was refluxed for 5 hours. HMDS was evaporated to give yellow solid. To this flask containing the silylated 6-chloropurine, a solution of the acetate **L-8** (1.0 g, 1.70 mmol) in 1,2-dichloroethane (30 mL) was added. The resulting slurry was cooled to -25°C and TMSOTf (0.62 mL, 3.40 mmol) was added dropwise at -25°C . The reaction mixture was stirred for 3 hours at -25°C , for 8 hours at room temperature, and for 5 hours at 40°C . The resulting mixture was diluted with 300 mL of CH_2Cl_2 , washed with aqueous NaHCO_3 , dried over MgSO_4 , filtered and concentrated. The crude product was purified by silica gel column chromatography with 11% EtOAc in hexanes to give compound **L-21** (0.754 g, 1.10 mmol, 65% yield) as a pale yellow foam. $[\alpha]_D^{24} -90.0^\circ$ (c 1.287, CHCl_3); UV(CH_2Cl_2) λ_{max} 264.5 nm; ^1H NMR (CDCl_3) δ 8.60 (s, 1H), 8.23 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.63~7.01 (m, 15H), 6.55 (d, $J = 14.7$ Hz, 1H), 3.88 (ps t, $J = 8.5$ Hz, 1H), 3.80 (ps t, $J = 8.7$ Hz, 1H), 3.72~3.62 (m, 1H), 2.67~2.46 (m, 2H), 0.96 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 151.76, 151.73, 150.77, 144.92 (d, $J = 5.7$ Hz), 136.24, 135.53, 135.46, 132.77, 132.68, 131.13, 129.95, 129.89, 129.35, 128.91, 127.75, 124.26, 105.04 (d, $J = 248.1$ Hz), 66.56, 65.60 (d, $J = 20.4$ Hz), 47.30, 41.59 (d, $J = 20.9$ Hz), 26.69, 19.10; Anal. Calcd for $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{ClFN}_4\text{OSSeSi}$: C, 56.34; H, 4.73; N, 8.21; S, 4.70. Found: C, 56.00; H, 4.81; N, 8.04; S, 4.73.

A similar procedure for the condensation reaction of the acetate **L-8** can be done with the other purines.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

(-)-9-[(1*S*,2*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2-fluoro-2-phenylselenyl-4-thio-β-L-ribofuranosyl]-6-chloro-2-fluoropurine (**L-22**, **Figure 4b**) was made using the general procedure for condensation reaction of the acetate **L-8** with purines. The compound **L-22** was obtained on 1.70-mmol scale in 66% yield. $[\alpha]_D^{24}$ -86.5° (c 1.44, CHCl₃); UV(CHCl₃) $\lambda_{\max}$ 266.0 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 8.20 (s, 1H), 7.62~7.06 (m, 15H), 6.37 (d, *J* = 13.9 Hz, 1H), 3.89 (dd, *J* = 9.7, 6.9 Hz, 1H), 3.80 (td, *J* = 7.8, 1.3 Hz, 1H), 3.72~3.64 (m, 1H), 2.68~2.57 (m, 1H), 2.52 (td, *J* = 12.9, 7.7 Hz, 1H), 0.98 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 157.03 (d, *J* = 220.8 Hz), 153.55 (d, *J* = 16.7 Hz), 152.44 (d, *J* = 17.3 Hz), 145.53, 136.28, 135.61, 135.54, 132.82, 132.72, 130.05, 129.99, 129.80 (d, *J* = 4.6 Hz), 129.51, 129.03, 127.84, 124.20, 105.00 (d, *J* = 248.3 Hz), 66.56, 65.92 (d, *J* = 21.1 Hz), 47.38, 41.51 (d, *J* = 20.9 Hz), 26.76, 19.19; Anal. Calcd for C₃₂H₃₁ClF₂N₄OSSeSi: C, 54.89; H, 4.46; N, 8.00; S, 4.58. Found: C, 54.81; H, 4.64; N, 7.81; S, 4.63.

Example 40

(-)-9-[(1*R*,4*S*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-adenine (**D-27**, **Figure 3b**)

A mixture of compound **D-23** and compound **D-24** (0.342 g, 0.65 mmol) was treated with methanolic ammonia at 80°C for 12 hours using steel bomb. Solvent was evaporated and the residue was dried under vacuum for 3 hours. A solution of the dried crude product in 30 mL of THF was treated with 0.3 mL of 1M TBAF in THF at room temperature for 3 hours. The resulting mixture was concentrated and purified by preparative TLC chromatography with 5~10% MeOH in CH₂Cl₂ to give the desired compound **D-27** (0.099 g, 0.37 mmol 57% yield) as a white solid. mp 190~191°C; $[\alpha]_D^{25}$ -33.7° (c 0.164, 7:1 CH₂Cl₂:MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 257.5 nm (ε 9,600, pH 2), 259.0 nm (ε 9,500, pH 7), 259.0 nm (ε 9,800, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.31~4.24 (m, 1H), 3.90 (dd, *J* = 11.6, 4.4 Hz, 1H), 3.81 (ddd, *J* = 11.5, 4.1, 1.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (MeOH-*d*₄) δ 157.43, 156.31 (d, *J* = 277.9 Hz), 153.98, 150.51, 141.22, 120.10, 111.65 (d, *J* = 17.1 Hz), 65.63, 60.38 (d, *J* = 24.7 Hz), 49.73 (d, *J* = 7.7 Hz); Anal. Calcd for C₁₀H₁₀FN₅O₅OSi: C, 45.26; H, 3.93; N, 25.77; S, 11.80. Found: C, 45.33; H, 4.07; N, 25.38; S, 11.59.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 41

(-)-9-[(1*S*,4*R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-*L*-ribofuranosyl]adenine (L-27, Figure 4b)

5 A mixture of compound L-23 and compound L-24 (0.241 g, 0.46 mmol) was treated with methanolic ammonia at 80°C for 12 hours using steel bomb. Solvent was evaporated and the residue was dried under vacuum for 3 hours. A solution of the dried crude product in 30 mL of THF was treated with 0.5 mL of 1M TBAF in THF at room temperature for 3 hours. The resulting mixture was concentrated and purified by preparative TLC chromatography with 5~10% MeOH in CH₂Cl₂ to give the desired compound L-27 (0.075 g, 0.28 mmol 61% yield) as a white solid: mp 192~194°C; [α]_D²⁵ -38.1° (c 0.165, MeOH); UV(H₂O) λ_{max} 258.0 nm (ε 9,500, pH 2), 259.0 nm (ε 8,900, pH 7), 259.5 nm (ε 8,600, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 6.89 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.28 (s, 1H), 3.90 (dd, *J* = 11.5, 4.2 Hz, 1H), 3.81 (dd, *J* = 11.4, 3.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (MeOH-*d*₄) δ 157.46, 156.31 (d, *J* = 278.2 Hz), 154.01, 150.51, 141.21, 120.10, 111.64 (d, *J* = 17.0 Hz), 65.65, 60.38 (d, *J* = 24.6 Hz), 49.81 (d, *J* = 9.1 Hz); HRMS (FAB) obsd, *m/z* 268.0669, calcd for C₁₀H₁₁FN₅OS, *m/z* 268.0668 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₁₀H₁₀FN₅OS·0.3CH₃OH: C, 44.68; H, 4.08; N, 25.29; S, 11.58. Found: C, 44.49; H, 4.03; N, 25.46; S, 11.33.

Example 42

20 (+)-9-[(1*R*,4*S*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-*D*-ribofuranosyl]-hypoxanthine (D-28, Figure 3b)

25 A mixture of compound D-23 and compound D-24 (0.323 g, 0.62 mmol) in anhydrous MeOH (20 mL) was treated with 2-mercaptoethanol (0.17 mL, 2.46 mmol) and NaOMe (0.136 g, 2.52 mmol) at 60°C for 24 hours. The resulting mixture was quenched with 0.1 mL of glacial AcOH, concentrated, and filtered through a short pad of silica gel with 4% MeOH in CH₂Cl₂. The filtrate was concentrated to dryness. The crude product was treated with 0.68 mL of 1M TBAF in THF at room temperature for 3 hours. The reaction mixture was concentrated, and purified by preparative TLC chromatography with 7% MeOH in CH₂Cl₂ to give the desired compound D-28 (0.135 g,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

0.50 mmol, 81% yield) as a white solid: mp 143~145°C (dec.); $[\alpha]_D^{27}$ 21.5° (c 0.132, 7:1, CH₂Cl₂:MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 247.5 nm (ϵ 10,200, pH 2). 248.0 nm (ϵ 10,000, pH 7), 253.5 nm (ϵ 10,700, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.51 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.28~4.23 (m, 1H), 3.88 (dd, *J* = 11.7, 4.7 Hz, 1H), 3.80 (dd, *J* = 10.5, 4.0 Hz, 1H); ¹³C NMR (MeOH-*d*₄) δ 158.85, 156.22 (d, *J* = 248.4 Hz), 150.04, 147.13, 140.66, 125.29, 111.77 (d, *J* = 17.0 Hz), 65.50, 60.51 (d, *J* = 24.8 Hz), 49.83 (d, *J* = 7.3 Hz); Anal. Calcd for C₁₀H₉FN₄O₂S0.17CH₂Cl₂: C, 43.21; H, 3.33; N, 19.82; S, 11.34. Found: C, 43.26; H, 3.61; N, 19.61; S, 11.01.

Example 43

(-)-9-[(1*S*,4*R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribofuranosyl]-hypoxanthine (L-28, Figure 4b)

A mixture of compound L-23 and compound L-24 (0.216 g, 0.41 mmol) in anhydrous MeOH (20 mL) was treated with 2-mercaptoethanol (0.12 mL, 1.65 mmol) and NaOMe (0.091 g, 1.69 mmol) at 60°C for 24 hours. The resulting mixture was quenched with 0.1 mL of glacial AcOH, concentrated, and filtered through a short pad of silica gel with 4% MeOH in CH₂Cl₂. The filtrate was concentrated to dryness. The crude product was treated with 0.84 mL of 1M TBAF in THF at room temperature for 3 hours. The reaction mixture was concentrated, and purified by preparative TLC chromatography with 7% MeOH in CH₂Cl₂ to give the desired compound L-28 (0.050 g, 0.19 mmol, 46% yield) as a white solid. mp 143~145°C (dec.); $[\alpha]_D^{23}$ -23.7° (c 0.324, 7:1, CH₂Cl₂:MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 246.5 nm (ϵ 12,000, pH 2). 248.0 nm (ϵ 10,600, pH 7), 253.5 nm (ϵ 10,900, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.51 (s, 1H), 8.07 (s, 1H), 6.90 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.26 (s, 1H), 3.88 (dd, *J* = 11.6, 4.7 Hz, 1H), 3.80 (dd, *J* = 10.7, 3.2 Hz, 1H); ¹³C NMR (MeOH-*d*₄) δ 158.86, 156.22 (d, *J* = 278.3 Hz), 150.03, 147.13, 140.65, 125.28, 111.76 (d, *J* = 17.1 Hz), 65.48, 60.51 (d, *J* = 24.5 Hz), 49.82 (d, *J* = 7.9 Hz); HRMS (FAB) obsd, *m/z* 269.0517, calcd for C₁₀H₉FN₄O₂S, *m/z* 269.0509 (M+H)⁺; Anal. Calcd for C₁₀H₉FN₄O₂S0.63MeOH: C, 44.26; H, 4.03; N, 19.42; S, 11.12. Found: C, 43.86; H, 3.65; N, 19.45; S, 11.09.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

In the same way, (+)-9-[(1*S*,4*R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-L-ribo-furanosyl]-guanosine (**L-32**, **Figure 4b**) was made using the procedure for the preparation of compound **L-28**. The compound **L-32** was obtained on 0.16-mmol scale in 61% yield: mp 210°C (dec.); $[\alpha]_D^{25}$ 75.2° (c 0.15, DMSO); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 256.0 nm (ϵ 11,100, pH 2), 255.0 nm (ϵ 12,500, pH 7), 266.0 nm (ϵ 10,700, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 7.98 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 4.22–4.14 (m, 1H), 3.84–3.74 (m, 2H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 160.12, 157.49 (d, *J* = 278.1 Hz), 157.44, 154.47, 138.61, 119.83, 114.34 (d, *J* = 17.0 Hz), 67.90, 61.00 (d, *J* = 24.5 Hz), 51.73 (d, *J* = 7.6 Hz), 44.06 (d, *J* = 9.1 Hz).

Example 44

(-)-2-amino-9-[(1*R*,4*S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**D-29**, **Figure 3b**), 6-amino-9-[(1*R*,4*S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-2-fluoropurine (**D-30**, **Figure 3b**) and 6-amino-9-[(4*S*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-1,2-didehydro-2-fluoro-4-thio-β-D-ribofuranosyl]-2-fluoropurine (**D-31**, **Figure 3b**)

Dry ammonia gas was bubbled into a stirred solution of a mixture of compounds **D-25** and **D-26** (0.430 g, 0.79 mmol) in 1,2-dimethoxyethane (25 mL) at room temperature for 5 hours. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified by preparative TLC chromatography with 20% EtOAc in hexanes to give pure compound **D-29** (0.190 g, 0.352 mmol, 45% yield) and a mixture of compound **D-30** and compound **D-31** (0.116 g, 0.22 mmol, 28% yield). For compound **D-29**: $[\alpha]_D^{24}$ -70.4° (c 0.40, CH₂Cl₂); UV(CH₂Cl₂) $\lambda_{\max}$ 303.5 nm; ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.74 (s, 1H), 7.68–7.36 (m, 10H), 6.65 (s, 1H), 5.82 (s, 1H), 5.37 (s, 1H), 4.25–4.19 (m, 1H), 3.90 (dd, *J* = 10.1, 7.0 Hz, 1H), 3.81 (dd, *J* = 9.8, 7.4 Hz, 1H), 1.07 (s, 9H); ¹³C NMR (CDCl₃) δ 159.11, 154.78 (d, *J* = 281.2 Hz), 153.48, 151.49, 139.92, 135.57, 135.48, 132.76, 132.48, 130.12, 130.09, 127.91, 127.88, 125.30, 109.95 (d, *J* = 16.5 Hz), 68.01, 58.33 (d, *J* = 24.0 Hz), 47.46 (d, *J* = 7.1 Hz), 26.76, 19.19; Anal. Calcd for C₂₆H₂₇ClFN₅OSSi·0.6CH₂Cl₂·0.5EtOAc: C, 54.08; H, 5.11; N, 11.03; S, 5.05. Found: C, 53.73; H, 4.99; N, 10.98; S, 5.12: a mixture of compounds **D-30** and **D-31**; UV(CHCl₃)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

$\lambda_{\max}$ 261.0 nm; ^1H NMR (CDCl_3) for major **D-30**: δ 7.77 (s, 1H), 7.73~7.38 (m, 10H), 6.71 (s, 1H), 6.41, 6.40 (2s, 2H), 5.82 (s, 1H), 4.27~4.19 (m, 1H), 3.93~3.82 (m, 2H), 1.08 (s, 9H); for minor **D-31**: δ 7.82 (s, 1H), 7.73~7.38 (m, 10H) 4.00~3.75 (m, 3H), 3.20 (ddd, $J = 16.5, 9.2, 3.1$ Hz, 1H), 2.99 (ddd, $J = 16.5, 4.9, 1.1$ Hz, 1H), 1.08 (s, 9H).

5

Example 45

(+)-2-amino-9-[(1*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-6-chloropurine (**L-29**, Figure 4b), 6-amino-9-[(1*S*,4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-2-fluoro-purine (**L-30**, Figure 4b) and 6-amino-9-[(4*R*)-5-*O*-(*tert*-butyldiphenylsilyl)-2,3-dideoxy-1,2-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-2-fluoropurine (**L-31**, Figure 4b)

Dry ammonia gas was bubbled into a stirred solution of a mixture of compounds **L-25** and **L-26** (0.430 g, 0.79 mmol) in 1,2-dimethoxyethane (25 mL) at room temperature for 5 hours. The solvent was removed under reduced pressure, and the residue was purified by preparative TLC chromatography with 20% EtOAc in hexanes to give pure compound **L-29** (0.190 g, 0.352 mmol, 45% yield) and a mixture of compound **L-30** and compound **L-31** (0.106 g, 0.20 mmol, 25% yield). For compound **L-29**: $[\alpha]_D^{24}$ 74.0° (c 0.236, CH_2Cl_2); UV(CH_2Cl_2) $\lambda_{\max}$ 300.0 nm; ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.74 (s, 1H), 7.70~7.37 (m, 10H), 6.65 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 5.18 (s, 2H), 4.26~4.22 (m, 1H), 3.90 (dd, $J = 10.1, 7.2$ Hz, 1H), 3.81 (dd, $J = 9.8, 7.3$ Hz, 1H), 1.07 (s, 9H); ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 159.11, 154.78 (d, $J = 281.2$ Hz), 153.48, 151.49, 139.92, 135.57, 135.48, 132.76, 132.48, 130.12, 130.09, 127.91, 127.88, 125.30, 109.95 (d, $J = 16.5$ Hz), 68.01, 58.33 (d, $J = 24.0$ Hz), 47.46 (d, $J = 7.1$ Hz), 26.76, 19.19; Anal. Calcd for $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{ClFN}_5\text{OSSi} \cdot 0.3\text{EtOAc}$: C, 57.66; H, 5.24; N, 12.36; S, 5.66. Found: C, 57.87; H, 5.35; N, 12.41; S, 5.62; a mixture of compounds **L-30** and **L-31**: UV(CHCl_3) $\lambda_{\max}$ 261.0 nm; ^1H NMR (CDCl_3) for major **L-30**: δ 7.80 (s, 1H), 7.74~7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 6.72 (s, 1H), 5.83 (s, 1H), 4.29~4.19 (m, 1H), 3.94 (dd, $J = 10.2, 6.6$ Hz, 1H), 3.87 (dd, $J = 10.1, 7.1$ Hz, 1H), 1.08 (s, 9H); for minor **L-31**: δ 7.84 (s, 1H), 7.74~7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 4.02~3.79 (m, 3H), 3.20 (ddd, $J = 16.5, 9.2, 3.1$ Hz, 1H), 3.00 (dd, $J = 16.7, 4.6$ Hz, 1H), 1.08 (s, 9H).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 46

(-)-9-[(*1R,4S*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -D-ribofuranosyl]-
guanosine (D-32, Figure 3b)

See the procedure for the preparation of compound D-28. The title compound D-32 was obtained on 0.29-mmol scale in 61% yield: mp 210°C (dec.); $[\alpha]_D^{25} -73.7^\circ$ (c 0.152, DMSO); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 254.0 nm (ϵ 11,600, pH 2), 255.0 nm (ϵ 12,400, pH 7), 265.0 nm (ϵ 12,500, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.14 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 4.27~4.23 (m, 1H), 3.86 (dd, *J* = 11.3, 4.6 Hz, 1H), 3.81 (ddd, *J* = 11.5, 4.6, 1.1 Hz, 1H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 160.12, 157.49 (d, *J* = 278.1 Hz), 157.44, 154.47, 138.61, 119.83, 114.34 (d, *J* = 17.0 Hz), 67.90, 60.99 (d, *J* = 24.5 Hz), 51.73 (d, *J* = 7.6 Hz), 44.06 (d, *J* = 9.1 Hz); Anal. Calcd for C₁₀H₁₀FN₅O₂S·0.11CHCl₃: C, 40.97; H, 3.44; N, 23.63; S, 10.82. Found: C, 41.35; H, 3.62; N, 23.32; S, 11.09.

Example 47

(-)-9-[(*1S,4R*)-2,3-dideoxy-2,3-didehydro-2-fluoro-4-thio- β -L-ribofuranosyl]-2-
fluoro-adenosine (L-33, Figure 4b)

See the general procedure of desilylation. The title compound L-33 was obtained on 0.20-mmol scale in 70% yield: mp >300°C; $[\alpha]_D^{26} -17.8^\circ$ (c 0.200, MeOH); UV(H₂O) $\lambda_{\max}$ 260.5 nm (ϵ 12,700, pH 2), 260.5 nm (ϵ 12,700, pH 7), 261.5 nm (ϵ 12,200, pH 11); ¹H NMR (MeOH-*d*₄) δ 8.44 (s, 1H), 6.77 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 4.28~4.21 (m, 1H), 3.89 (dd, *J* = 11.6, 4.7 Hz, 1H), 3.85~3.79 (m, 1H); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆) δ 160.12; Anal. Calcd for C₁₀H₉F₂N₅OS·0.24Et₂O: C, 43.44; H, 3.79; N, 23.11; S, 10.58. Found: C, 43.30; H, 3.78; N, 23.47; S, 10.28.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 48

4(S)-(Acetylthio)-5-[(*tert*-butyldiphenylsilyl)oxy]pentanoic acid methyl ester (31, Figure 5)

The title compound was prepared from L-glutamic acid according to the following literatures: Cervinka, O.; Hub, L. Asymmetric reactions. XXVII. Absolute configurations of γ -butyrolactone- γ -carboxylic acid and γ -valerolactone- γ -carboxylic acid. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **1968**, 33, 2927-2932; Hanessian, S.; Murray, P. J. Stereochemical control of nature's biosynthetic pathways: A general strategy for the synthesis of polypropionate-derived structural units from a single chiral progenitor. *Tetrahedron* **1987**, 43, 5055-5072; Secrist III, J. A.; Riggs, R. H.; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A. Synthesis and anti-HIV activity of 4'-thio-2',3'-dideoxynucleosides. *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 533-538.

The L-analogue (compound **35**) was prepared from D-glutamic acid using the same procedures as for the D-analogue (see Figure 5).

Example 49

4(S)-*tert*-Butyldiphenylsilyloxymethyl- γ -thiobutyrolactone (32, Figure 5)

A solution of compound **31** (6 g, 13.5 mmol) in toluene (100 mL) was treated with 29.4 mL of 1 M DIBAL-H in hexane at -78°C for 1 hour. The reaction was quenched with 7.2 mL of MeOH and warmed up to room temperature for 1 hour and aqueous NaHCO_3 (15 mL) and EtOAc (90 mL) were added to the mixture. The resulting mixture was filtered and the filtrate was concentrated to dryness. The crude thiolactol was treated with Ac_2O (12.75 mL) and DMSO (13.5 mL) at room temperature for 24 hours. The reaction mixture was poured to a separatory funnel containing ice-cooled water (100 mL) and extracted with ethyl ether (3 x 120 mL). The combined organic layer was washed with water (3 x 100 mL), dried over Na_2SO_4 , filtered, concentrated and purified by silica gel column chromatography with 5% Et₂O in hexanes to give the product **32** (2.69 g, 57% yield) as a yellow oil. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.68-7.65, 7.47-7.39 (2m, 10H), 3.81-3.50 (m, 3H), 2.22-2.13 (m, 2H), 2.03-1.97(m, 2H), 1.06 (s, 9H).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The L-analogue (compound **36**) was prepared from **35** using the same procedures as for the D-analogue (see **Figure 5**).

Example 50

4(S)-tert-butylidiphenylsilyloxymethyl-2-phenylselenenyl-γ-thiobutyrolactone (**33**, **Figure 5**)

To a solution of compound **32** (2.223 g, 6 mmol) in THF (30 mL) was added N-fluorodiphenylsulfonamide (NFSi, 1.893 g, 6 mmol). The solution was cooled to -78 °C, and LiHMDS (1M solution in THF, 7.2 mL, 7.2 mmol) was added dropwise over a period of 1 hour. After being stirred at -78 °C for 2 hours, the solution was allowed to warm to room temperature and stirred for 1 hour. The reaction was quenched with saturated NH₄Cl (1 mL), and the mixture was poured onto a mixture of EtOAc and saturated NaHCO₃. The organic layer was washed with saturated NaHCO₃ and brine, and dried over Na₂SO₄. After removal of the solvent, the residue was purified by flash chromatography on silica gel column eluting with 5% Et₂O in hexanes to give the product **33** (1.35 g, 58% yield) as a yellow oil. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.62-7.36 (m, 10H), 5.07 (m, 1H), 3.95-3.77 (m, 3H), 2.70-2.61 (m, 1H), 2.18-2.05 (m, 1H), 1.06 (s, 9H).

The L-analogue (compound **37**) was prepared from **36** using the same procedures as for the D-analogue (see **Figure 5**).

Example 51

(2R,4S)-(+)-4-tert-butylidiphenylsilyloxymethyl-2-fluoro-2-phenylselenenyl-γ-thiobutyrolactone (**D-7**, **Figure 5**)

To a solution of compound **33** (1.166 g, 3 mmol) in THF (15 mL), 3.6 mL of 1 M LiHMDS in THF was added slowly at -78 °C, and the reaction mixture was stirred at -78 °C for 1 hour. TMSCl (0.49 mL, 3.9 mmol) was added dropwise to the reaction mixture and the mixture was allowed to warm to room temperature. The resulting mixture was stirred at room temperature for 30 minutes and cooled to -78 °C. A solution of PhSeBr (1.07 g, 4.5 mmol) in THF (6 mL) was rapidly added and the mixture was

WO 03/000200

PCT/US02/20245

stirred at -78°C for 1 hour. The mixture was diluted with ethyl ether (120 mL), washed with water (4 x 30 mL), dried over Na_2SO_4 , filtered, concentrated and purified by silica gel column chromatography with 3% Et_2O in hexanes to give desired product **D-7** (1.16 g, 71% yield) as a pale yellow syrup. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7.68-7.35 (m, 15H), 3.96-3.89 (m, 1H), 3.87 (dd, $J = 10.2$ & 5.1 Hz, 1H), 3.80 (dd, $J = 10.1$ & 7.1 Hz, 1H), 2.49 (dd, $J = 13.4$ & 4.0 Hz, 1H), 2.22 (td, $J = 13.5$ & 10.5 Hz, 1H), 1.06 (s, 9H).

The L-analogue (compound **L-7**) was prepared from **37** using the same procedures as for the D-analogue (see **Figure 5**).

The final target compounds (**D-17~20**, **D-27~28**, **D-32~33**, and **L-17~20**, **L-27~28**, **L-32~33**) were synthesized from **D-7** and **L-7** using the same procedures as described in the previous part.

Example 52

1-O-Acetyl-2-deoxy-4-thio-3,5-di-O-p-toluoyl-D-erythro-pentofuranoside (D-I, Figure 8)

1-O-Acetyl-2-deoxy-4-thio-3,5-di-O-p-toluoyl-D-erythro-pentofuranoside (**D-I**, **Figure 8**), as well as 1-O-acetyl-2-deoxy-4-thio-3,5-di-O-p-toluoyl-L-threo-pentofuranoside (**L-III**, **Figure 13**) and thiolactol acetates **D-II**, **D-III**, **D-IV**, **L-I**, **L-II** and **L-IV** (**Figure 6** and **7**) were prepared according to following literature references: Secrist III, J. A.; Tiwari, K. N.; Riordan, J. M.; Montgomery, J. A. Synthesis and biological activity of 2'-deoxy-4'-thio pyrimidine nucleosides, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 2361-2366; Tiwari, K. N.; Montgomery, J. A.; Secrist III, J. A. The synthesis and biological activity of 1-(2-deoxy-4-thio-a-L-threo-pentofuranosyl)-thymine, *Nucleosides & Nucleotides*, **1993**, *12*(8), 841-846.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 53

1-(2-Deoxy-4-thio-3,5-di-*O*-toluoyl- β -D-*erythro*-pentofuranosyl)-5-fluorouracil (**60**, X=F, Figure 8)

5 A suspension of 5-fluorouracil (975 mg, 7.5 mmol) and ammonium sulfate (10 mg) in HMDS (40 mL) was heated at reflux under nitrogen atmosphere for 2 hours. The excess of HMDS was evaporated *in vacuo*. To the residue was added the solution of **D-I** (2.14 g, 5 mmol) in anhydrous CH₃CN (25 mL). The resulting mixture was cooled to 0 °C, and TMSOTf (1.361 g, 6 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 20 minutes, then at room temperature for 2 hours. Then the mixture was diluted with CH₂Cl₂, washed with saturated NaHCO₃, dried over Na₂SO₄, filtered and concentrated to dryness. The residue was purified by flash chromatography on silica gel eluting with CH₂Cl₂/MeOH (99:1), and recrystallized from CH₂Cl₂/hexane to give the title compound **60**, where X is fluorine (872 mg, 35%), as a solid. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.98 (d, 1H, H-6), 7.96-7.25 (m, 8H, aromatic), 6.69 (dd, 1H, H-1'), 5.76 (m, 1H, H-3'), 4.68 (m, 2H, H-5'), 4.05 (m, 1H, H-4'), 2.75, 2.41 (2m, 2H, H-2'), 2.42 (s, 6H, 2 CH₃).

15 Compounds **60**, where X is methyl, **68**, **76**, **84**, **92**, **99**, **106** and **113** (see Figures 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 and 15 respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **60**, where X is fluorine.

Example 54

20 1-[2-Deoxy-N³-(2-methoxyethoxymethyl)-4-thio-3,5-di-*O*-toluoyl- β -D-*erythro*-pentofuranosyl]-5-fluorouracil (**61**, X=F, Figure 8)

25 To a solution of **60**, where X is fluorine (748 mg, 1.5 mmol), in dry THF (8 mL) was added Et₃N (455 mg, 4.5 mmol), followed by MEMCl (280 mg, 2.25 mmol). The mixture was heated at reflux for 2 hours, and then evaporated to dryness. The residue was dissolved in CH₂Cl₂, washed with water, dried, concentrated *in vacuo*, and purified by column chromatography (hexane/EtOAc, 9:1) to give the title compound **61**, where X is fluorine (651 mg, 74%), as a solid. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.99 (d, 1H, H-6), 7.96-7.25 (m, 8H, aromatic), 6.69 (dd, 1H, H-1'), 5.76 (m, 1H, H-3'), 4.66 (m, 2H, H-5'), 4.05 (m,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

1H, H-4'), 3.82-3.51 (m, 4H, OCH₂CH₂O), 3.31 (s, 3H, OCH₃), 2.75, 2.41 (2m, 2H, H-2'), 2.42 (s, 6H, 2 CH₃).

Compounds **61**, where X is methyl, **69**, **77** and **85** (see Figures 8, 9, 10 and 11, respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **61**, where X is fluorine.

Example 55

1-[2-Deoxy-N³-(2-methoxyethoxymethyl)-4-thio-β-D-erythro-pentofuranosyl]-5-fluorouracil (**62**, X=F, Figure 8)

To a solution of **61**, where X is fluorine (587 mg, 1 mmol), in anhydrous MeOH (10 mL) at room temperature NaOMe (1 M solution in MeOH, 3 mL, 3 mmol) was added, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 1 hour. The mixture was neutralized by addition of Dowex 50W and filtered. The resin was washed with MeOH, and the combined filtrate was concentrated. The residue was purified by flash chromatography on silica gel eluting with CH₂Cl₂/MeOH (4:1) to give the title compound **62**, where X is fluorine (322 mg, 92%), as a solid. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.16 (d, 1H, H-6), 6.24 (dd, 1H, H-1'), 5.30-5.21 (m, 2H, OH-3' and OH-5'), 4.36 (m, 1H, H-3'), 3.51-3.81 (m, 6H, OCH₂CH₂O and H-5'), 3.33 (s, 3H, OCH₃), 3.31 (m, 1H, H-4'), 2.23 (m, 2H, H-2').

Compounds **62**, where X is methyl, **70**, **78**, **86**, **93** and **100** (see Figures 8, 9, 10, 11, 12 and 13 respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **62**, where X is fluorine.

Example 56

1-[2-Deoxy-N³-(2-methoxyethoxymethyl)-4-thio-5-O-trityl-β-D-erythro-pentofuranosyl]-5-fluorouracil (**63**, X=F, Figure 8)

A mixture of **62**, where X is fluorine (701 mg, 2 mmol), and triphenylmethyl chloride (669 mg, 2.4 mmol) in anhydrous pyridine (10 mL) was heated at reflux for 3

WO 03/000200

PCT/US02/20245

hours. Then the mixture was cooled to room temperature, and slowly poured into ice-water with stirring. The precipitate was filtered off, washed with water, dried under vacuum, and crystallized from acetone/hexane to give the title compound **63**, where X is fluorine (1.02 g, 86%), as a solid. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.12 (d, 1H, H-6), 7.40-7.23 (m, trityl), 6.24 (dd, 1H, H-1'), 5.25-5.21 (m, 1H, OH-3'), 4.35 (m, 1H, H-3'), 3.81-3.50 (m, 6H, OCH₂CH₂O and H-5'), 3.32 (s, 3H, OCH₃), 3.30 (m, 1H, H-4'), 2.23 (m, 2H, H-2').

Compounds **63**, where X is methyl, **71**, **79**, **87**, **94**, **101**, **108** and **115** (see Figures 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 and 15 respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **63**, where X is fluorine.

Example 57

1-[2,3-Dideoxy-3-fluoro-N³-(2-methoxyethoxymethyl)-4-thio-5-O-trityl-β-D-erythro-pentofuranosyl]-5-fluorouracil (64, X=F, Figure 8)

To a solution of **63**, where X is fluorine (889 mg, 1.5 mmol), in anhydrous CH₂Cl₂ (10 mL) at -78 °C was added (diethylamino)sulfur trifluoride (764 mg, 4.5 mmol) and the mixture was stirred at -78 °C for 1 hour under nitrogen atmosphere. KF (261 mg, 4.5 mmol) was added to the reaction mixture at -78 °C and the reaction mixture was allowed to warm to room temperature. After stirring at room temperature for 1 hour, saturated aqueous NaHCO₃ and CHCl₃ were added. The organic phase was washed with saturated NaHCO₃, dried over Na₂SO₄, and evaporated *in vacuo*. The residue was purified by flash chromatography on silica gel eluting with CH₂Cl₂/MeOH (99:1) to give the title compound **64**, where X is fluorine (776 mg, 87%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.10 (d, 1H, H-6), 7.37-7.26 (m, trityl), 6.26 (dd, 1H, H-1'), 5.34 (dd, 1H, H-3'), 3.81-3.50 (m, 6H, OCH₂CH₂O and H-5'), 3.48 (m, 1H, H-4'), 3.32 (s, 3H, OCH₃), 2.45 (m, 2H, H-2').

Compounds **64**, where X is methyl, **72**, **80** and **88** (see Figures 8, 9, 10 and 11 respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **64**, where X is fluorine.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 58

1-[5-*O*-Acetyl-2,3-dideoxy-3-fluoro-4-thio- β -D-*erythro*-pentofuranosyl]-5-fluoro-uracil (65, X=F, Figure 8)

To a solution of **64**, where X is fluorine (714 mg, 1.2 mmol), in Ac₂O (5 mL) at 0 °C was added BF₃·Et₂O (511 mg, 3.6 mmol) followed by LiBr (313 mg, 3.6 mmol). The mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 3 days and then evaporated to dryness. The residue was extracted with CHCl₃, and the extract was washed with water, dried, and evaporated in vacuo. The residue was purified by flash chromatography on silica gel eluting with hexane/EtOAc (4:1) to give the title compound **65**, where X is fluorine (242 mg, 66%), as a pale yellow solid. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.13 (d, 1H, H-6), 6.32 (dd, 1H, H-1'), 5.36 (dd, 1H, H-3'), 4.43 (m, 2H, H-5'), 3.49 (m, 1H, H-4'), 2.45 (m, 2H, H-2'), 2.06 (s, 3H, CH₃).

Compounds **65**, where X is methyl, **73**, **81** and **89** (see Figures 8, 9, 10 and 11 respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **65**, where X is fluorine.

Example 59

1-[2,3-Dideoxy-3-fluoro-4-thio- β -D-*erythro*-pentofuranosyl]-5-fluorocytosine (66, X=F, Figure 8)

To a solution of **65**, where X is fluorine (166 mg, 0.54 mmol), in anhydrous CH₃CN (10 mL) and Et₃N (0.4 mL) at 0 °C was added TIPSCl (343 mg, 1.1 mmol) and DMAP (66 mg, 0.54 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature under nitrogen atmosphere for 1 day, and then NH₄OH (28%, 5 mL) was added. After stirring at room temperature for 24 hours, the solvent was removed by evaporation, and the residue was purified by flash chromatography on silica gel eluting with CH₂Cl₂/MeOH (95:5) to give the title compound **66**, where X is fluorine (81 mg, 57%), as a pale yellow solid. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.18 (d, 1H, H-6), 7.80, 7.60 (2br, 2H, NH₂), 6.28 (d, 1H, H-1'), 5.36 (dd, 1H, H-3'), 5.19 (t, 1H, OH-5'), 3.63 (m, 1H, H-4'), 3.60-3.48 (m, 2H, H-5'), 2.40 (m, 2H, H-2').

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Compounds **66**, where X is methyl, **74**, **82**, **90**, **96**, **103**, **110** and **117** (see Figures **8**, **9**, **10**, **11**, **12**, **13**, **14** and **15** respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **66**, where X is fluorine.

Example 60

5 **1-[2,3-Dideoxy-3-fluoro-4-thio-β-D-erythro-pentofuranosyl]-5-fluorouracil (67, X=F, Figure 8)**

A solution of **65**, where X is fluorine (61 mg, 0.2 mmol), in 2 M NH₃-MeOH (6 mL) was kept in a stoppered flask at room temperature overnight. Evaporation of the solvent and column chromatography (CH₂Cl₂/MeOH, 95:5) gave the title compound **67**,
10 where X is fluorine (49 mg, 94%), as a white solid. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 11.76 (br, 1H, NH), 8.26 (d, 1H, H-6), 6.34 (d, 1H, H-1'), 5.36 (dd, 1H, H-3'), 5.17 (t, 1H, OH-5'), 3.65 (m, 1H, H-4'), 3.61-3.47 (m, 2H, H-5'), 2.42 (m, 2H, H-2').

Compounds **67**, where X is methyl, **75**, **83** and **91** (see Figures **8**, **9**, **10** and **11** respectively) were prepared utilizing similar procedure as above described for **67**, where
15 X is fluorine.

Example 61

1-[2,3-Dideoxy-3-fluoro-4-thio-β-D-threo-pentofuranosyl]-5-fluorocytosine (97, X=F, Figure 12)

A solution of **96**, where X is fluorine (101 mg, 0.2 mmol), in 80% AcOH (5 mL) was heated at 90 °C for 1 hour. Evaporation followed by co-evaporation with toluene and flash chromatography on silica gel column (CH₂Cl₂/MeOH 95:5) gave the title compound **97**, where X is fluorine (28 mg, 53%), as a white solid. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 7.85 (d, 1H, H-6), 7.82, 7.61 (2br, 2H, NH₂), 6.16 (d, 1H, H-1'), 5.35 (dd, 1H, H-3'), 5.19 (t, 1H, OH-5'), 3.64 (m, 1H, H-4'), 3.62-3.50 (m, 2H, H-5'), 2.58, 2.26 (2m, 2H, H-2').
25

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Compounds **97**, where X is methyl, **98**, **104**, **105**, **111**, **112**, **118** and **119** (see **Figures 12, 13, 14** and **15**) were prepared utilizing similar procedure as above described for **97**, where X is fluorine.

Example 62

5 1-(3-Deoxy-4-thio-β-D-threo-pentofuranosyl)-5-fluorouracil (**107**, X=F, **Figure 14**)

To a solution of **106**, where X is fluorine (664 mg, 1.5 mmol), in anhydrous CH₂Cl₂ (10 mL) at -78 °C was added slowly BBr₃ (1 M solution in CH₂Cl₂, 7.5 mL) and the reaction mixture was stirred at -78 °C under nitrogen atmosphere for 4 hours. The reaction was quenched by addition of MeOH (5 mL), and neutralized by pyridine. After
10 removal of the solvent by evaporation, the residue was purified by flash chromatography on silica gel eluting with CH₂Cl₂/MeOH (4:1) to give the title compound **107**, where X is fluorine (303 mg, 77%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 8.20 (d, 1H, H-6), 6.24 (dd, 1H, H-1'), 5.65 (br, 1H, OH-2'), 5.19 (t, 1H, OH-5'), 4.01 (m, 1H, H-2'), 3.70-3.58 (m, 2H, H-5'), 3.20 (m, 1H, H-4'), 2.23 (m, 1H, H-3'), 1.76 (m, 1H, H-3').

15 Compound **107**, where X is methyl, and **114** (see **Figures 14** and **15**) was prepared utilizing similar procedure as above described for **107**, where X is fluorine.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Elemental Analysis Data D-Enantiomers

Cmpd No	Formula	Calc for		Calc for		Calc for		Found for		Found for		Found for	
		C	H	N	S	C	H	N	S	C	H	N	S
D-3	C ₂₁ H ₃₅ FO ₅ Si	67.71	6.76	— ^a	— ^a	67.70	6.79	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a
D-4	C ₂₂ H ₂₈ FO ₅ Si(0.2C ₆ H ₁₄)	52.41	5.84	— ^a	— ^a	52.30	5.55	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a
D-5	C ₂₄ H ₄₁ FO ₄ SSi	62.31	6.75	— ^a	— ^a	62.03	6.63	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	6.98
D-6	C ₂₁ H ₂₅ FO ₅ SSi	64.01	6.48	— ^a	— ^a	64.88	6.51	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	8.15
D-6a	C ₃₁ H ₃₅ FO ₅ SSi	64.01	6.48	— ^a	— ^a	65.15	6.58	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	8.12
D-7	C ₂₇ H ₂₉ FO ₅ SSeSi	59.65	5.38	— ^a	— ^a	60.10	5.46	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	5.85
L-7	C ₂₇ H ₂₉ FO ₅ SSeSi(0.15CHCl ₃)	58.07	5.23	— ^a	— ^a	57.88	5.36	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	5.76
D-8	C ₂₉ H ₃₈ FO ₅ SSeSi	59.27	5.66	— ^a	— ^a	59.61	5.72	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a	5.57
D-9	C ₃₈ H ₃₈ FN ₃ O ₅ SSeSi	61.44	5.16	5.66	4.32	61.52	5.42	5.47	4.21	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a
D-10	C ₃₈ H ₃₇ FN ₃ O ₅ SSeSi	59.99	4.90	5.52	4.21	59.96	5.07	5.42	4.23	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a
D-11	C ₃₅ H ₃₅ FN ₃ O ₅ SSeSi(0.4H ₂ O)	58.15	5.47	4.23	4.85	58.03	5.49	4.21	4.95	— ^a	— ^a	— ^a	— ^a

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd No	Formula	Calc for			Calc for			Calc for			Found for			Found for			
		C	H	N	S	C	H	N	S	C	H	N	S	C	H	N	S
D-12	C ₃₁ H ₃₃ FN ₂ O ₃ SSi	58.20	5.20	4.38	5.01	58.17	5.35	4.32	4.93								
D-13	C ₃₂ H ₃₂ FN ₃ O ₃ SSI	65.88	5.66	7.07	5.39	66.04	5.85	6.81	5.17								
D-14	C ₃₂ H ₃₁ F ₂ N ₃ O ₃ SSI	63.66	5.18	6.96	5.31	63.71	5.32	6.76	5.27								
D-15	C ₃₂ H ₂₉ FN ₂ O ₃ SSI·0.6H ₂ O	61.54	6.00	5.50	6.30	61.31	5.87	5.34	6.11								
D-16	C ₃₂ H ₂₇ FN ₂ O ₃ SSI	62.21	5.64	5.80	6.64	62.38	5.65	5.69	6.48								
D-17	C ₃₁ H ₃₀ FN ₃ O ₃ ·0.2H ₂ O	43.79	4.25	17.02	12.99	43.87	4.31	16.92	12.86								
D-18	C ₃₀ H ₂₇ N ₃ O ₂ S	41.38	3.47	16.08	12.27	41.29	3.52	15.99	12.18								
D-19	C ₃₀ H ₃₁ FN ₂ O ₃ ·0.1Et ₂ O	47.02	4.55	10.54	12.07	47.02	4.56	10.48	11.89								
D-20	C ₃₁ H ₂₉ FN ₂ O ₃ ·0.3CH ₃ OH	44.00	4.05	11.04	12.63	44.01	3.89	11.22	12.76								
D-21	C ₃₂ H ₃₂ ClFN ₄ OSSeSi	56.34	4.73	8.21	4.70	56.69	5.12	7.95	4.51								
D-22	C ₃₂ H ₃₁ ClF ₂ N ₄ OSSeSi·0.2 C ₆ H ₁₄	55.58	4.75	7.81	4.47	55.55	4.68	7.74	4.36								
D-23	C ₃₂ H ₃₆ ClFN ₄ OSSI	59.47	4.99	10.67	6.11	59.58	5.03	10.41	6.09								

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd No	Formula	Calc for C	Calc for H	Calc for N	Calc for S	Found for C	Found for H	Found for N	Found for S
D-25	C ₂₈ H ₂₅ ClF ₂ N ₄ OSSi	57.50	4.64	10.32	5.90	57.18	4.50	10.13	5.68
D-27	C ₁₀ H ₁₀ FN ₃ OS	44.94	3.77	26.20	12.00	45.23	4.07	25.98	11.79
D-28	C ₁₀ H ₉ FN ₄ O ₂ S	44.77	3.38	20.88	11.95	44.53	3.67	21.15	11.91
D-29	C ₂₈ H ₂₇ ClFN ₃ OSSi	57.82	5.04	12.97	5.94	57.73	4.99	12.98	5.82
D-32	C ₁₀ H ₁₀ FN ₃ O ₂ S	42.40	3.56	24.72	11.32	42.27	3.74	24.56	11.09
D-33	C ₁₀ H ₉ N ₃ N ₃ OS	42.10	3.18	24.55	11.24	42.28	3.37	24.39	11.19

^a Not applicable.

Elemental Analysis Data – L-Enantiomers

Cmpd	Formula	Calc for C	Calc for H	Calc for N	Calc for S	Found for C	Found for H	Found for N	Found for S
L-3	C ₂₄ H ₂₅ FO ₃ Si	67.71	6.76	- ^a	- ^a	67.71	6.78	- ^a	- ^a

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	Formula	Calc for C	Calc for H	Calc for N	Calc for S	Found for C	Found for H	Found for N	Found for S
L-4	$C_{22}H_{24}FIO_3Si0.05C_6H_{14}$	51.63	5.58	-	-	51.84	5.53	-	-
L-5	$C_{22}H_{24}FO_3Si$	62.31	6.75	-	6.93	62.36	6.69	-	7.04
L-6	$C_{22}H_{23}FO_3Si$	64.91	6.48	-	8.25	65.15	6.58	-	8.12
L-6a	$C_{21}H_{23}FO_3Si$	64.91	6.48	-	8.25	64.94	6.42	-	8.16
L-7	$C_{22}H_{23}FO_3SSeSi0.15CHC$ I_3	58.07	5.23	-	5.70	57.88	5.36	-	5.76
L-8	$C_{22}H_{24}FO_3SSeSi$	59.27	5.66	-	5.46	59.24	5.68	-	5.42
L-9	$C_{22}H_{23}FN_3O_3SSeSi0.02Et_2$ O	61.51	5.32	5.55	4.23	61.88	5.55	5.56	4.21
L-10	$C_{22}H_{23}F_2N_3O_3SSeSi$	59.99	4.90	5.52	4.21	59.97	5.05	5.44	4.23
L-11	$C_{22}H_{23}FN_3O_3SSeSi$	58.79	5.40	4.29	4.90	58.85	5.46	4.20	4.98
L-12	$C_{21}H_{23}FN_3O_3SSeSi$	58.20	5.20	4.38	5.01	58.18	5.33	4.33	4.95
L-13	$C_{22}H_{23}FN_3O_3SSi0.1C_6H_{14}$	65.88	5.66	7.07	5.39	66.01	5.88	6.82	5.20

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	Formula	Calc for	Calc for	Calc for	Found for	Found for	Found for	Found for	Found for
		C	H	N	S	C	H	N	S
L-14	C ₃₂ H ₃₇ F ₃ N ₃ O ₃ SSi	63.66	5.18	6.96	5.31	63.69	5.30	6.78	5.26
L-15	C ₃₆ H ₄₃ FN ₃ O ₃ SSi	62.87	5.89	5.64	6.46	62.54	5.82	5.36	6.13
L-16	C ₃₂ H ₃₇ FN ₃ O ₃ SSi	62.21	5.64	5.80	6.64	62.41	5.68	5.71	6.52
L-17	C ₃₁ H ₃₆ FN ₃ O ₃ S	44.44	4.14	17.27	13.18	44.26	3.92	16.96	13.03
L-18	C ₃₁ H ₃₇ F ₂ N ₃ O ₃ S	41.38	3.47	16.08	12.27	41.45	3.60	15.95	12.14
L-19	C ₃₆ H ₄₁ FN ₃ O ₃ S0.35Et ₂ O	48.18	5.14	9.86	11.28	48.49	4.88	10.07	11.59
L-20	C ₃₁ H ₃₇ FN ₃ O ₃ S	44.26	3.71	11.47	13.13	44.22	3.81	11.15	12.84
L-21	C ₃₄ H ₃₆ ClFN ₃ OSSeSi	56.34	4.73	8.21	4.70	56.00	4.81	8.04	4.73
L-22	C ₃₃ H ₃₅ ClFN ₃ OSSeSi	54.89	4.46	8.00	4.58	54.81	4.64	7.81	4.63
L-23	C ₃₀ H ₃₆ ClFN ₃ OSSi	59.47	4.99	10.67	6.11	59.56	5.30	10.33	5.93
L-25	C ₃₆ H ₄₃ ClFN ₃ OSSi	57.50	4.64	10.32	5.90	57.42	5.02	9.93	5.65
L-29	C ₃₉ H ₄₇ ClFN ₃ OSSi0.3EtO Ac	57.66	5.24	12.36	5.66	57.87	5.35	12.41	5.62

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	Formula	Calc for C	Calc for H	Calc for N	Calc for S	Found for C	Found for H	Found for N	Found for S
L-27	C ₁₀ H ₁₆ FN ₃ OS	44.94	3.77	26.20	12.00	44.83	3.88	25.83	11.85
L-28	C ₁₄ H ₁₈ FN ₄ O ₂ S	44.77	3.38	20.88	11.95	44.86	3.65	20.75	11.89
L-32	C ₁₀ H ₁₆ FN ₃ O ₂ SO ₂ ·2H ₂ O	41.87	3.65	24.41	11.18	42.17	3.35	24.37	11.16
L-33	C ₁₀ H ₁₆ FN ₃ OS	42.10	3.18	24.55	11.24	41.99	3.16	24.36	11.28

* Not Applicable

¹ H NMR Data* ¹ H ₂ O, 40°C				
Cpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'
D-9	6.91 (d, J = 15.6 Hz)	2.62-2.47 (m)	3.68-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)
				8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.69-7.27 (m, 19H), 1.02 (s, 9H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
D-10	6.73 (d, $J = 16.3$ Hz)	2.63-2.46 (m)	3.67-3.58 (m)	3.92-3.76 (m)	12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.87 (dd, $J = 5.9, 1.7$ Hz, 1H), 7.72-7.28 (m, 18H), 1.07 (s, 9H)
D-11	6.63 (d, $J = 14.7$ Hz)	2.55-2.41 (m)	3.62-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)	9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 7.68-7.30 (m, 15H), 5.56 (dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, 1H), 1.03 (s, 9H)
D-12	6.72 (d, $J = 18.1$ Hz)	2.62-2.44 (m)	3.67-3.57 (m)	3.87-3.73 (m)	9.13 (br s, 1H), 7.74-7.25 (m, 16H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H)
D-13	7.03 (s)	5.82 (s)	4.23-4.15 (m)	3.83 (dd, $J = 10.4, 6.1$ Hz) 3.78 (dd, $J = 10.4, 6.3$ Hz)	8.95 (br s, 1H), 7.91 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.69-7.38 (m, 15H), 1.10 (s, 9H)
D-14	6.95 (s)	5.80 (s)	4.23-4.15 (m)	3.84 (dd, $J = 10.5, 6.2$ Hz) 3.79 (dd, $J = 10.2, 6.6$ Hz)	12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.72-7.38 (m, 14H), 1.10 (s, 9H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
D-15	6.93 (s)	5.75 (s)	4.22-4.1 4 (m)	3.85 (dd, J = 10.6, 5.9 Hz) 3.81 (dd, J = 10.5, 5.6 Hz)	9.34 (br s, 1H), 7.70-7.35 (m, 11H), 5.44 (dd, J = 8.1, 1.2 Hz, 1H), 1.09 (s, 9H)
D-16	6.96 (s)	5.81 (s)	4.22-4.1 3 (m)	3.85 (dd, J = 10.5, 6.5 Hz) 3.77 (dd, J = 10.2, 7.0 Hz)	9.45 (br s, 1H), 7.72-7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H), 1.74 (s, 3H), 1.08 (s, 9H)
D-17	6.93 (s)	5.89-5.85 (m)	4.17-4.12 (m)	3.78 (dd, J = 11.7, 4.6 Hz) 3.69 (ddd, J = 11.6, 4.3, 1.2 Hz)	8.05 (dd, J = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 5.97 (d, J = 7.5 Hz, 1H)
D-18	6.92 (s)	5.84 (s)	4.17 (s)	3.84 (dd, J = 11.8, 3.7 Hz) 3.68 (br d, J = 10.6 Hz)	8.39 (d, J = 6.6 Hz, 1H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
D-19	6.87 (s)	5.89 (s)	4.19-4.13 (m)	3.80 (dd, $J = 11.7, 4.5$ Hz)	8.11 (dd, $J = 8.1, 0.8$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)
D-20	6.87 (t, $J = 1.0$ Hz)	5.86 (s)	4.17 (s)	3.71 (ddd, $J = 11.7, 4.1, 1.4$ Hz)	3.71 (ddd, $J = 11.7, 4.1, 1.4$ Hz)
D-21	6.63 (d, $J = 14.7$ Hz)	2.75-2.63 (m)	3.80-3.73 (m)	3.84 (dd, $J = 11.9, 4.0$ Hz)	8.03 (s, 1H), 1.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H)
D-22	6.45 (d, $J = 14.0$ Hz)	2.60 (dd, $J = 14.8, 7.9$ Hz)	3.80-3.73 (m)	3.96 (t, $J = 8.2$ Hz)	8.69 (s, 1H), 8.31 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.70-7.13 (m, 15H), 1.05 (s, 9H)
				3.97 (dd, $J = 9.7, 7.3$ Hz)	8.27 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 7.70-7.14 (m, 15H), 1.06 (s, 9H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
D-23	6.87 (s)	5.87 (s)	4.33-4.2 5 (m)	3.96 (dd, $J = 10.2, 6.8$ Hz) 3.86 (t, $J = 8.8$ Hz)	8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.69-7.35 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
D-24	--	3.25 (ddd, $J = 16.6, 9.2, 3.1$ Hz) 3.03 (dd, $J = 16.6, 5.2$ Hz)	4.05-3.78 (m, 3H)	3.94 (dd, $J = 10.2, 6.0$ Hz) 3.87-3.83 (m)	8.82 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.69-7.35 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
D-25	6.68 (s)	5.86 (s)	4.32-4.2 3 (m)	3.94 (dd, $J = 10.2, 6.0$ Hz) 3.87-3.83 (m)	8.08 (s, 1H), 7.69-7.36 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
D-26	--	3.24 (ddd, $J = 16.3, 9.3, 3.1$ Hz) 3.01 (ddd, $J = 16.8, 5.1, 0.6$ Hz)	4.04-3.80 (m, 3H)	3.94 (dd, $J = 10.2, 6.0$ Hz) 3.87-3.83 (m)	8.12 (s, 1H), 7.75-7.31 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
D-27	6.88 (s)	5.93 (s)	4.31-4.2 4 (m)	3.90 (dd, $J = 11.6, 4.4$ Hz) 3.81 (ddd, $J = 11.5, 4.1, 1.2$ Hz) 3.88 (dd, $J = 11.7, 4.7$ Hz) 3.80 (dd, $J = 10.5, 4.0$ Hz)	8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H)
D-28	6.90 (s)	5.93 (s)	4.28-4.2 3 (m)	3.90 (dd, $J = 10.1, 7.0$ Hz) 4.25-4.1 9 (m)	7.74 (s, 1H), 7.68-7.36 (m, 10H), 5.37 (s, 1H), 1.07 (s, 9H)
D-29	6.65 (s)	5.82 (s)	4.27-4.1 9 (m)	3.93-3.82 (m)	7.77 (s, 1H), 7.73-7.58 (m, 10H), 6.40 (br s, 2H), 1.08 (s, 9H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
				3.8.6 (dd, J = 11.3, 4.6 Hz)	
D-32	6.73 (s)	5.93 (s)	4.27-4.2		
			3 (m)		8.14 (s, 1H)
				3.81 (ddd, J = 11.5, 4.6, 1.1 Hz)	
D-33	6.77 (s)	5.92 (s)		3.89 (dd, J = 11.7, 4.9 Hz)	
			4.27-4.22 (m)		8.44 (s, 1H)
				3.82 (ddd, J = 12.0, 4.6, 1.2 Hz)	

^a CD₃OD; ppm; s, singlet; d, doublet; dd, double doublet; t, triplet; br s, broad singlet; m, multiplet; td, triple doublet; ddd, double double doublet.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Table 1. ¹H NMR Data L-Enantiomers

Cmpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
L-9 ^a	6.91 (d, J = 15.6 Hz)	2.62-2.47 (m)	3.68-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)	8.82 (br s, 1H), 8.12 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 7.3 Hz, 2H), 7.69-7.27 (m, 19H), 1.02 (s, 9H)
L-10 ^a	6.73 (d, J = 16.3 Hz)	2.63-2.46 (m)	3.67-3.58 (m)	3.92-3.76 (m)	12.70 (br s, 1H), 8.33 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.87 (dd, J = 5.9, 1.7 Hz, 1H), 7.72-7.28 (m, 18H), 1.07 (s, 9H)
L-11 ^a	6.72 (d, J = 18.1 Hz)	2.62-2.44 (m)	3.67-3.57 (m)	3.87-3.73 (m)	9.13 (br s, 1H), 7.74-7.25 (m, 16H), 1.83 (s, 3H), 1.07 (s, 9H)
L-12 ^a	6.63 (d, J = 14.7 Hz)	2.55-2.41 (m)	3.62-3.58 (m)	3.87-3.72 (m)	9.26 (br s, 1H), 7.72 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 7.68-7.30 (m, 15H), 5.56 (dd, J = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 1.03 (s, 9H)
L-13 ^a	7.03 (s)	5.82 (s)	4.23-4.15 (m)	3.83 (dd, J = 10.4, 6.1 Hz) 3.78 (dd, J = 10.4, 6.3 Hz)	8.95 (br s, 1H), 7.91 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.69-7.38 (m, 15H), 1.10 (s, 9H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
L-14'	6.95 (s)	5.80 (s)		3.84 (dd, $J = 10.5, 6.2$ Hz)	12.80 (br s, 1H), 8.30 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 7.72-7.38 (m, 14H),
			4.23-4.1		
			5 (m)	3.79 (dd, $J = 10.2, 6.6$ Hz)	1.10 (s, 9H)
L-15'	6.96 (s)	5.81 (s)		3.85 (dd, $J = 10.5, 6.5$ Hz)	9.45 (br s, 1H), 7.72-7.35 (m, 10H), 7.02 (s, 1H),
			4.22-4.1		1.74 (s, 3H),
			3 (m)	3.77 (dd, $J = 10.2, 7.0$ Hz)	1.08 (s, 9H)
L-16'	6.93 (s)	5.75 (s)		3.85 (dd, $J = 10.6, 5.9$ Hz)	9.34 (br s, 1H), 7.70-7.35 (m, 11H), 5.44 (dd, $J =$
			4.22-4.1		8.1, 1.2 Hz, 1H),
			4 (m)	3.81 (dd, $J = 10.5, 5.6$ Hz)	1.09 (s, 9H)
L-17'	6.93 (s)	5.89-5.85 (m)		3.78 (dd, $J = 11.7, 4.6$ Hz)	8.05 (dd, $J = 7.5, 1.0$ Hz, 1H), 5.97 (d, $J = 7.5$ Hz,
			4.17-4.12 (m)	3.69 (ddd, $J = 11.6, 4.3, 1.2$ Hz)	1H)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
L-18*	6.92 (s)	5.84 (s)	4.17 (s)	3.84 (dd, $J = 11.8, 3.7$ Hz)	
				3.68 (br d, $J = 10.6$ Hz)	8.39 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H)
				3.84 (dd, $J = 11.9, 4.0$ Hz)	
L-19*	6.87 (s)	5.86 (s)	4.17 (s)	3.77 (ddd, $J = 11.9, 3.7, 1.7$ Hz)	8.03 (s, 1H), 1.88 (d, $J = 1.2$ Hz, 3H)
				3.80 (dd, $J = 11.7, 4.5$ Hz)	
				4.19-4.13 (m)	8.11 (dd, $J = 8.1, 0.8$ Hz, 1H), 5.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)
L-20*	6.87 (s)	5.89 (s)		3.71 (ddd, $J = 11.7, 4.1, 1.4$ Hz)	
				3.88 (ps t, $J = 8.5$ Hz)	8.60 (s, 1H), 8.23 (d, $J = 1.7$ Hz, 1H), 7.63-7.01 (m, 15H),
				3.72-3.62 (m)	0.96 (s, 9H)
L-21*	6.55 (d, $J = 14.7$ Hz)	2.67-2.46 (m)			

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
L-22 ^a	6.37 (d, J = 13.9 Hz)	2.68-2.57 (m)	3.72-3.6 4 (m)	3.89 (dd, J = 9.7, 6.9 Hz)	8.20 (s, 1H), 7.62-7.06 (m, 15H), 0.98 (s, 9H)
		2.52 (td, J = 7.7 Hz)		3.80 (td, J = 7.8, 1.3 Hz)	
				3.96 (dd, J = 10.2, 6.8 Hz)	
L-23 ^a	6.87 (s)	5.87 (s)	4.33-4.2 4 (m)	8.69 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.67 (t, J = 14.4 Hz, 4H), 7.50-7.36 (m, 6H), 1.08 (s, 9H)	
				3.86 (dd, J = 10.0, 7.5 Hz)	
L-24 ^a	na ^a	3.25 (ddd, J = 16.8, 9.3, 3.3 Hz, 1H), 3.03 (ddd, J = 16.6, 5.7, 1.2 Hz, 1H)	4.03-3.8 3 (m, 3H)	8.81 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.70-7.35 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)	
L-25 ^a	6.68 (s)	5.79 (s)	4.25-4.1 8 (m)	3.86 (td, J = 10.2, 6.5 Hz)	8.01 (s, 1H), 7.63-7.28 (m, 10H), 1.01 (s, 9H)
				3.82-3.77 (m)	

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
L-26'	nd	3.24 (ddd, $J = 16.3$,	4.04-3.8 0 (m, 3H)		8.12 (s, 1H), 7.75-7.31 (m, 10H), 1.08 (s, 9H)
		9.3, 3.1 Hz, 1H),			
		3.01 (ddd, $J = 16.8$,			
		5.1, 0.6 Hz, 1H)			
L-27'	6.89 (s)	5.93 (s)	4.28 (s)	3.90 (dd, $J = 11.5$, 4.2 Hz)	8.52 (s, 1H), 8.20 (s, 1H)
				3.81 (dd, $J = 11.4$, 3.2 Hz)	
				3.88 (dd, $J = 11.6$, 4.7 Hz)	
				3.80 (dd, $J = 10.7$, 3.2 Hz)	
L-28'	6.90 (s)	5.93 (s)	4.26 (s)	3.90 (dd, $J = 10.1$, 7.2 Hz)	7.74 (s, 1H), 7.70-7.37 (m, 10H), 5.18 (s, 2H), 1.07 (s, 9H)
				4.26-4.2 2 (m)	
				3.81 (dd, $J = 9.8$, 7.3 Hz)	
L-29'	6.65 (s)	5.83 (s)			

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Cmpd	H-1'	H-3'	H-4'	H-5'	Other protons
L-30 ^a	6.72 (s)	5.83 (s)	4.29-4.1 9 (m)	3.94 (dd, J = 10.2, 6.6 Hz) 3.87 (dd, J = 10.1, 7.1 Hz)	7.80 (s, 1H), 7.74-7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 1.08 (s, 9H)
L-31 ^a	na ^c	3.20 (dddd, J = 16.5, 9.2, 3.1 Hz, 1H), 3.00 (dd, J = 16.7, 4.6 Hz, 1H)	4.02-3.7 9 (m, 3H)		7.84 (s, 1H), 7.74-7.31 (m, 10H), 6.95 (br s, 2H), 1.08 (s, 9H)
L-32 ^a	6.61 (s)	5.83 (s)	4.22-4.14 (m)	3.84-3.74 (m)	7.98 (s, 1H)
L-33 ^a	6.77 (s)	5.92 (s)	4.28-4.21 (m)	3.89 (dd, J = 11.6, 4.7 Hz) 3.85-3.79 (m)	8.44 (s, 1H)

^aCDCl₃, ^bCD₃OD, ^cna: Not Applicable

WO 03/000200

PCT/US02/20245

VII. Biological Activity

Quantitative real-time PCR ("Q-RT-PCR") allows evaluation of candidate antiviral compounds and simultaneously scores the effect on host nucleic acids levels. These assays included (i) a HIV-1 genotype B viral load assay, (ii) a HBV viral load assay, (iii) a BVDV viral load assay, (iv) a human β -actin gene assay, (v) a mitochondrial COXII gene assay, and (vi) a rRNA gene assay.

The antiviral efficacy and cytotoxicity of β -D- and β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thiocytidine (**D-17** and **L-17**, respectively), β -D- and β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thio-5-fluorocytidine (**D-18** and **L-18**, respectively), β -D- and β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-cytidine (**10** and **23**, respectively) and β -D- and β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-5-fluoro cytidine (**10-F** and **23-F**, respectively) were evaluated. As control compounds, AZT (3'-azido-3'-deoxythymidine), 3TC [(-)- β -2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine], D-ddC (β -D-2',3'-dideoxycytidine), ribavirin (1- β -D-ribofuranosyl-1H-1,2,4-triazole-3-carboxamide), (+)-BCH-189 [(+)- β -2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine], FIAU (1-(2-deoxy-2-fluoro-1- β -D-arabinofuranosyl)-5-iodocytosine), D4T (β -D-2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine), ACV [9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine] and D-D4FC (β -D-2',3'-didehydro-2'3'-dideoxy-5-fluorocytidine) were also evaluated.

All compounds were tested (i) against wild type (xxBRU) and 3TC-resistant (184V) HIV-1; (ii) for their ability to inhibit HBV production in the inducible HepAD38 cell line; and (iii) for their ability to inhibit BVDV production in acutely infected MDBK cells. Three quantitative PCR assays (Q-PCR) were designed (Taqman 7700 chemistry, PE BioSystems), for the HIV-1 genotype B, for HBV essentially as described (24), and for bovine viral diarrhea virus (BVDV). The latter virus is often used as surrogate model for the hepatitis C virus (HCV)(16, 21). Quantitative amplification assays (TaqMan RT-PCR) were designed for all viral (HBV, HIV, BVDV) and host targets (β -actin gene, mitochondrial COXII gene, rRNA gene) allowing precise quantification of cellular and viral DNA and/or RNA levels.

The design of viral load assays, especially for HIV-1, is generally complicated by the extremely variable nature of the viral genome (25, 30, 31). The primers and probes

WO 03/000200

PCT/US02/20245

were designed based on regions that exhibited a limited amount of variability, showed excellent linearity over 6-log range and covered the genetic variability of viral strains routinely used in antiviral research laboratories. The broader applicability of the current selection of primers and probe for diagnostic purposes on clinical samples from different geographical origin will involve investigating specificity, sensitivity, reproducibility, optimization of the linear range for different genotypes/clades, and standardization with other commercially available tests, essentially as described for other applications (2, 13).

Several compounds demonstrated potent antiviral activity against the wild-type HIV-1 strain (range EC₉₀ values 0.16 to 5.16 μM), but a marked increase in EC₉₀ was noted for these compounds when tested against the 3TC-resistant HIV-1 (range EC₉₀ values 53 to >100 μM). The β-L-enantiomers of both classes of compounds were more potent than the corresponding β-D-enantiomers. One compound inhibited HBV production in AD38 cells (EC₉₀ = 1.0 μM). The compounds were essentially not cytotoxic (IC₅₀ > 87 μM) in human PBM cells and HepG2 cells. No effect on mitochondrial DNA levels was observed after a 7-day incubation with 10 μM of the nucleoside analogs. These studies demonstrate that modification of the sugar ring of cytosine nucleoside analogs with the 4'-thio instead of an oxygen results in compounds with potent inhibition of wild-type virus, but with reduced potency against 3TC-resistant virus.

Example 63

Toxicity assays.

HepG2 and human PBM cells (5 x 10⁴ per well) were seeded in 96-well plates in the presence of increasing concentrations of the test compound and incubated in a 37°C, 5% CO₂ incubator. After a three day-incubation for HepG2, or 5 days for human PBM cells, cell viability and mitochondrial activity were measured in a colorimetric assay using the MTS- or MTT dye method (Promega, Madison, WI). Eight compounds were tested in routine MTT or MTS toxicity assays and had IC₅₀ values higher than 87 μM in the cells evaluated (HepG2 and human PBM cells) (Table 1).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

TABLE 1. Cytotoxicity of test compounds.

	Cytotoxicity ^a	
	PBM	HepG2
	IC ₅₀	IC ₅₀
10	>100	>100
10-F	>100	>100
23	87	>100
23-F	>100	>100
D-17	>100	>100
D-18	>100	>100
L-17	>100	>100
L-18	>100	>100
AZT	>100	>100
3TC	>100	>100
D-D4FC	80	>100
Ribavirin	>100	90

^a values in μM **Example 64*****HIV-1 cell culture***

- 5 Human PBM cells (1 x 10⁶ cells/T25 flask) were PHA stimulated for 2 or 3 days, and infected with either a wild type (LAI and xxBRU) or a 3TC-resistant (xxBRU 184V) HIV-1 strain at 100 TCID₅₀, as previously described (27). The culture was kept for 5 days in presence of test compounds at serial 1-log dilutions. Subsequently, human PBM cells were removed from the culture supernatant by centrifugation (10 minutes, 400 x g, 4°C). This clarified supernatant was tested either in the RT-assay, or in the Q-RT-PCR assay.
- 10

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Example 65***HIV-1 RT-assay***

Virus particles present in a 1 mL aliquot of culture supernatant were concentrated by high-speed centrifugation (2 hours, 20,000 x g, 4°C). The supernatant was then removed and the virus pellet was dispensed into a 100 µL virus solubilization buffer (VSB: 0.5% Triton X-100; 0.8 M NaCl, 0.5 mM phenylmethylsulfonyl, 20% glycerol, 50 mM Tris.HCl pH 7.8). A 10 µL aliquot of RT-VSB was mixed with 75 µL RT cocktail (60 mM Tris.HCl pH 7.8, 12 mM MgCl₂, 6 mM DTT, 6 µg/mL poly (rA)_n-oligo (dT)₁₀₋₁₂, 1.2 mM dATP, and 80 µCi/mL 3H-TTP) and incubated for 2 hours at 37°C. Subsequently 100 µL of 10% TCA was added, and the total amount of incorporated 3H-TTP was determined.

Example 66***HIV-1 Q-RT-PCR assay in human PBM cells***

Viral RNA present in the culture supernatant was prepared using commercially available columns (QIAamp Viral RNA mini Kit, Qiagen, Valencia, CA). Viral RNA was detected in real-time by monitoring increases in fluorescence signal that resulted from degradation of a quenched fluorescent probe molecule following the hybridization of the probe to the amplified viral DNA (TaqMan 7700 chemistry, Applied Biosystems, Foster City, CA). The TaqMan probe and primers were designed using the Primer Express software (Applied Biosystems); they cover highly conserved sequences complementary to an 81 base pair long fragment from the HIV-1 RT gene between codon 230 and 257 of the group M HIV-1 genome;

probe 5'-6FAM-TTCTGGCAGCACTATAGGCTGTACTGTCCATT-TAMRA-3';

sense primer: 5'-TGGGTTATGAACTCCATCCTGAT-3'; and

antisense primer 5'-TGTCATTGACAGTCCAGCGTCT-3'.

A total of 5 µL RNA was RT-amplified using reagents and conditions as described by the manufacturer (Applied Biosystems). The standard curve ranged from 1.41 x 10² copies/mL to over 1.41 x 10⁸ copies/mL. Copy numbers were calibrated

WO 03/000200

PCT/US02/20245

using the Roche Amplicor HIV-1 Monitor test™ (Roche Diagnostics, Branchburg, NJ) on a 1-log dilution series of a clinical HIV-1 genotype B isolate (attenuated in vitro to obtain a high viral load). The 10⁻⁶ diluted sample became positive at threshold cycle (Ct = PCR cycle threshold where a sample becomes detectable) = 35.52, which corresponded to 1,410 copies/mL in the Roche monitor HIV-1 version II assay. When validated over a dynamic range of 3 logs of virus, there was excellent correlation ($r^2 \sim 1$) between the two methodologies. The Q-RT-PCR had a lower limit of detection of 141 copies/mL (Ct = 38.85) and was linear over 6-logs of virus dilution. Therefore, the currently designed primer and probe set allowed reliable quantification of both clinical samples and HIV-1 in vitro preparations.

The antiviral compounds were compared to AZT, 3TC, and D-D4FC against three HIV-1 strains (LAI, xxBRU, and a 3TC resistant xxBRU-184V) in a 5-day assay using PHA-stimulated human PBM cells. HIV-1 present in culture supernatant fluids was quantified by two different methodologies: i) the Q-RT-PCR with read-out in log copies/mL; and ii) the endogenous viral RT assay on cell supernatant with read-out in log counts per minute/mL (CPM/mL). Upon addition of antiviral compounds to the culture media, a dose-related decrease in virus production was observed. Some representative examples of these results are shown in Figure 16. Although the two methodologies measured different parameters (viral RNA versus active RT enzyme), results were not markedly different from each other. The HIV-1 Q-RT-PCR results were compared with a previously established cell-based antiviral drug evaluation assay (endogenous HIV-1 RT polymerization activity in cell supernatant)(27).

A summary of the data, expressed as effective concentration to reduce the viral RNA, or the RT activity, by 90% (EC₉₀) for the three HIV-1 viral strains is given in Table 2.

TABLE 2. Anti-HIV-1 activity of nucleosides in acutely infected human PBM cells.

	RT-Assay ^a				Q-RT-PCR HIV-1 assay ^a			
	LAI	xxBRU	184V	FI ^b	LAI	xxBRU	184V	FI ^b
	EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀		EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀	
10	25.3	35.5	572	16.1	50.6	35.4	>100	nr ^c
10-F	34.5	37.5	494	13.2	36.3	34.8	>100	nr ^c

WO 03/000200

PCT/US02/20245

	RT-Assay ^a				Q-RT-PCR HIV-1 assay ^a			
	LAI	xxBRU	184V	FI ^b	LAI	xxBRU	184V	FI ^b
	EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀		EC ₉₀	EC ₉₀	EC ₉₀	
23	0.67	0.14	82.0	586	0.92	0.60	68.4	115
23-F	0.12	0.14	67.0	479	0.09	0.16	53.0	333
D-17	11.9	5.0	125	25.0	24.6	5.2	65.8	12.8
D-18	>100	119	>100	nr ^c	>100	73.9	>100	nr ^c
L-17	3.3	1.4	1,569	1,121	4.1	2.1	>100	>50
L-18	2.6	1.1	>100	>100	4.3	0.94	>100	>100
AZT	0.02	0.01	0.002	0.29	0.03	0.01	0.01	1.00
3TC	0.13	0.08	535	6,688	0.37	0.06	>100	>1,562
D-D4FC	0.18	0.08	0.15	1.9	0.38	0.22	0.21	0.97

^a values in μ M^b FI is the fold increase (EC₉₀ HIV-1_{184V} / EC₉₀ HIV-1_{xxBRU})^c nr = not relevant**Example 67****5 HBV Q-RT-PCR assay in AD38 cells**

The HepAD38 cell line replicates HBV under conditions that can be regulated with tetracycline (12, 15). In the presence of this drug, the cell supernatant is virtually free of viral DNA, but upon the removal of tetracycline from the culture medium, these cells secrete virus-like particle into the supernatant (12). HepAD38 cells were seeded at 5 x 10⁴ cells/well in a 96-well plate in seeding medium (DMEM/F12 + 10% FBS, 50 μ g/mL penicillin, 50 μ g/mL streptomycin, 100 μ g/mL kanamycin, 400 μ g/mL G418, and 0.3 μ g/mL tetracycline) and incubated for 2 days at 37°C in a 5% CO₂ humid atmosphere. The seeding media was removed, and cells were washed 3 times with PBS. Cells were then incubated with 200 μ L assay medium (DMEM/F12 + 10% FBS + P/S/K) containing either no compound, test compound, or control drugs at 10 μ M. After a 5-day incubation, the cell supernatant was collected and stored at -70°C until HBV DNA was quantified. HBV DNA was extracted from supernatant using QiaAmp DNA blood Mini

WO 03/000200

PCT/US02/20245

kit (Qiagen) and nucleic acids eluted in 200 μ L. Viral DNA was detected in Q-PCR. The TaqMan probe and primers were designed using the Primer Express software (Applied Biosystems) and cover highly conserved sequences complementary to the DNA sequences present in HBsAg (24). A total of 5 μ L DNA was amplified using reagents and conditions as described by the manufacturer (Applied Biosystems). The standard curve showed a dynamic range of at least 6 logs, and ranged from 2×10^2 copies/mL to over 2×10^8 copies/mL (not shown).

The time course of viral induction of HBV in HepAD38 cells was investigated (Figure 17). Following a 2-day HBV suppression (using tetracycline containing medium), and a 5-day incubation of these cells with or without 3TC at 10 μ M, the following observations were made: (i) immediately after seeding, viral DNA was detected in cell supernatant, but the quantity did not change over the three sampling points (day 0, day 1 and day 2 in seeding media). This indicates the presence of HBV DNA sequences in the supernatant representing material from cell debris, (ii) tetracycline completely shut down HBV DNA expression; (iii) 5 days post induction, there is an increase of approximately 2.5 logs of HBV DNA in the cell supernatant; and (iv) 10 μ M 3TC prevented the release of viral DNA in the supernatant by almost 1.5 log.

EC_{90} values for the 8 candidate compounds against HBV were determined in AD38 cells. As expected, 3TC showed a potent inhibition ($EC_{90} = 2.9 \mu$ M), while compound **23** had comparable activity ($EC_{90} = 1.0 \mu$ M). All other compounds were considered inactive (Table 3) since the EC_{90} was $> 100 \mu$ M.

Many studies on the anti-HBV activity of test compounds have employed the HepG2.2.15 cell system using a quantitative HBV Southern blot technology (1, 14). When the HepG2.2.15 system was employed using the Q-PCR technology, it was found that there was a very narrow dynamic range with a maximal reduction of 0.6 logs for 10 μ M 3TC. Therefore, the AD38 system (12, 15) was evaluated in a Q-PCR technology (Figure 17) and a dynamic range of virus production of approximately 2.5 logs of HBV DNA in the cell supernatant was observed. In addition, 5 days of exposure to 10 μ M 3TC reduced the release of viral DNA in the supernatant by almost 1.5 log. Compared to HepG2.2.15 technology, the Q-PCR approach in AD38 cells gave a broader dynamic range, shorter incubation time, and no radioactive detection was required. The 8 candidate compounds and 3TC were tested in AD38 cells, and as expected, 3TC showed

WO 03/000200

PCT/US02/0245

a potent reduction in the amount of HBV DNA in cell supernatant ($EC_{90} = 3 \mu M$). The only test compound that was able to reduce HBV DNA in the cell supernatant was compound **23** ($EC_{90} = 1 \mu M$). However, this compound was found 586-fold less potent against a 3TC-resistant HIV-1 (**Table 2**), and hence, it is anticipated that compound **23** will be less potent against 3TC-resistant HBV as well. Since it is an L-nucleoside (29), these data indicate that the β -L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-3'-fluoro sugar configuration has similar activity and resistance profile as compounds with the β -L-2',3'-dideoxy-3'-thia configuration. Interestingly, the addition of a fluorine atom at the 5 position of cytidine (compound **23-F**) resulted in an almost inactive compound for HBV ($EC_{90} = 68 \mu M$), while the analog with the β -L-2',3'-dideoxy-3'-thia configuration [(*-*)-FTC, emtricitabine] showed a potent inhibition of HBV with an EC_{50} value of $0.24 \mu M$ (22).

Example 68

BVDV Q-RT-PCR assay in MDBK cells

Madin-Darby Bovine Kidney (MDBK) cells were maintained in DMEM/F12 supplemented with 10% heat-inactivated horse serum at $37^{\circ}C$ in a humidified, 5% CO_2 atmosphere. Cells were seeded in 96-well plates at 5×10^3 cells/well and incubated for 1 hour. BVDV (strain NADL) was used to infect the cells in monolayer at MOI 0.02. After 45 minutes of infection, the viral inoculum was removed and the cells were washed twice. Media or media containing test compound was added to these cells, followed by 24 hour incubation. Cell supernatant fluids were collected, clarified by centrifugation (2 minutes, 3,000 g, room temperature) and viral RNA was prepared (QIAamp Viral RNA mini Kit, Qiagen). Viral RNA was detected in real-time RT-PCR. Primers and probe were designed for the BVDV NS5B region using the Primer Express software (Applied Biosystems);

probe: 5'-6FAM-AAATCCTCCTAACAAGCGGTTCCAGG-TAMRA-3';

sense primer: 5'-AGCCTTCAGTTTCTTGCTGATGT-3'; and

antisense primer: 5'-TGTTGCGAAAGGACCAACAG-3'.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

A standard curve with a linear range of at least 6-log was obtained (data not shown). Ribavirin (Schering-Plough, Raritan, NJ) was used as positive control in these experiments. Ribavirin showed potent inhibition ($EC_{90} = 5 \mu M$), but none of the test compounds prevented release of virus from the infected cells ($EC_{90} > 200 \mu M$, **Table 3**).

5 **TABLE 3.** Cytotoxicity and anti-HBV and anti-BVDV activities of test compounds.

	Cytotoxicity ^a		HBV assay ^a	BVDV assay ^a
	PBM	HepG2	Q-PCR	Q-PCR
	IC ₅₀	IC ₅₀	EC ₉₀	EC ₉₀
10	>100	>100	100	>200
10-F	>100	>100	>100	>200
23	87	>100	1.0	>200
23-F	>100	>100	68	>200
D-17	>100	>100	>100	>200
D-18	>100	>100	>100	>200
L-17	>100	>100	>100	>200
L-18	>100	>100	>100	>200
AZT	>100	>100	ND ^b	>200
3TC	>100	>100	3.0	>200
D-D4FC	80	>100	ND ^b	>200
Ribavirin	>100	90	>100	5.0

^a values in μM

^b ND = not determined

Example 69

Q-RT-PCR assay for mitochondrial DNA and rRNA gene

10 The Q-RT-PCR technology was also used to evaluate potential mitochondrial γ -DNA polymerase inhibition by the compounds of the present invention in relevant human cells. Nucleoside analogs useful in the treatment of viral or proliferative disorders can exhibit toxicity in patients resembling inherited mitochondrial diseases (i.e. hepatic steatosis, lactic acidosis, myopathy, nephrotoxicity, peripheral neuropathy,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

multiple symmetric lipomatosis, and pancreatitis) (3, 18). Since active nucleoside compounds in the triphosphate form lack a 3'-OH, thereby stopping virus replication by chain termination, there is a concern that these nucleoside analogues are also substrates for the human DNA polymerase γ , resulting in inhibition of mitochondrial DNA replication and subsequently toxic side effects (11, 19). In an attempt to provide direct quantifiable data on mitochondrial DNA levels intracellularly, a Q-PCR technology was designed and relative quantification of COXII DNA levels were calculated using the comparative Ct method. D-ddC and (+)-BCH-189 served as controls and were confirmed to reduce mitochondrial COXII DNA levels (7). Also, in agreement with previous observations, no changes in normalized mitochondrial DNA levels were observed after FIAU and D4T treatment (6, 8, 23). None of the test compounds showed any significant reduction in the COXII DNA levels. However, the Q-PCR technology described herein does not predict potential incorporation of the inhibitor into mitochondrial DNA, as well as other mitochondrial aberrations such as mitochondrial morphology changes (loss of cristae), lactic acid production, and lipid droplet formation.

Low passage number HepG2 cells, obtained from American Tissue Culture Collection (ATCC, Manassas, VA) were seeded at 5,000 cells/well in collagen-coated 96-well plates. Test compounds were added to the media to obtain a final concentration of 10 μ M. On culture day 7, cellular nucleic acids were prepared by using commercially available columns (RNeasy 96 kit, Qiagen). These kits co-purify RNA and DNA, and hence total nucleic acids were eluted from columns in 140 μ L water. The mitochondrial cytochrome C oxidase subunit II (COXII) gene and the β -actin or rRNA gene were amplified from 5 μ L with a multiplex Q-PCR protocol using the suitable primers and probes for both target and reference (designed using the Primer Express software, Applied Biosystems);

for COXII:

sense primer 5'-TGCCCGCCATCATCCTA-3';

probe 5'-TET-TCCTCATCGCCCTCCCATCCC-TAMRA-3'; and

antisense probe 5'-CGTCTGTTATGTAAAGGATGCGT-3';

for exon 3 of β -actin (GenBank E01094):

WO 03/000200

PCT/US02/20245

sense primer 5'-GCGCGGCTACAGCTTCA-3';

probe 5'-6FAM-CACCACGGCCGAGCGGGA-TAMRA-3'; and

antisense probe 5'-TCTCCTTAATGTCACGCACGAT-3'.

- 5 The rRNA gene primers and probes were purchased from Applied Biosystems. Standard curves using 1-log diluted total HepG2 DNA were linear over more than 5 logs. In addition, efficiencies of target (COXII DNA) and reference (β -actin DNA or rRNA) amplification were approximately equal, because the slope of the Δ Ct line (Ct β -actin minus Ct mitochondrial) was less than 0.1 (not shown). Since equal amplification efficiencies were obtained for both genes, the comparative cycle threshold (Ct) method
- 10 was used to investigate potential inhibition of the mitochondrial DNA polymerase γ . The comparative Ct method uses arithmetic formulas in which the amount of target (COXII gene) is normalized to an endogenous reference (β -actin gene or rRNA gene) and is relative to a calibrator (no drug control at day 7). The arithmetic formula for this approach is given by $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (User bulletin # 2, Applied Biosystems).
- 15 In order to study the consequences of possible inhibitory effects of these compounds on host DNA polymerases, nuclear and mitochondrial DNA levels were quantified and compared to no-treatment controls. Cells were incubated for 7 days with 10 μ M of each compound, followed by total nucleic acid extractions and multiplex Q-PCR of the rRNA gene and the mitochondrial COXII gene. Nucleic acids from cells
- 20 exposed to the control compounds were also amplified in multiplex for mitDNA and the β -actin gene. The results are presented in **Table 4** using the comparative Ct method.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

TABLE 4. Relative quantitation of gene products using the comparative Ct method in HepG2 cells treated with various antiviral agents.

Compd.	Average $\Delta C_t \pm SD^a$			Average $\Delta\Delta C_t \pm SD^b$			COXII _h rDNA (range) relative to control ^c		COXII _h β -actin DNA (range) relative to control ^c	
	COXII DNA	rDNA	β -actin DNA	COXII - rDNA	COXII - β -actin	rDNA - β -actin				
Control	0 $\pm$ 0.42	0 $\pm$ 0.98	0 $\pm$ 0.65	0 $\pm$ 0.87	0 $\pm$ 0.57	0 $\pm$ 0.87				
D-ddC	2.27 $\pm$ 0.26^d	0.18 $\pm$ 0.53	-0.62 $\pm$ 0.21^d	2.09 $\pm$ 0.65^d	2.9 $\pm$ 0.23^d	0.81 $\pm$ 0.59				
AZT	0.25 $\pm$ 0.13	0.86 $\pm$ 0.55	0.10 $\pm$ 0.38	-0.61 $\pm$ 0.56	0.16 $\pm$ 0.44	0.76 $\pm$ 0.87				
3TC	0.08 $\pm$ 0.33	0.47 $\pm$ 0.51	0.11 $\pm$ 0.23	-0.39 $\pm$ 0.50	-0.02 $\pm$ 0.43	0.36 $\pm$ 0.66				
(+)-BCH-189	2.16 $\pm$ 0.32^d	-0.14 $\pm$ 0.61	-0.36 $\pm$ 0.31	2.3 $\pm$ 0.66^d	2.53 $\pm$ 0.36^d	0.23 $\pm$ 0.39				
D-FLAU	0.09 $\pm$ 0.17	ND ^e	0.23 $\pm$ 0.01	ND ^e	-0.14 $\pm$ 0.12	ND ^e				
D-D4T	0.29 $\pm$ 0.01	ND ^e	0.05 $\pm$ 0.06	ND ^e	0.23 $\pm$ 0.04	ND ^e				
ACV	-0.37 $\pm$ 0.08	ND ^e	0.17 $\pm$ 0.01	ND ^e	-0.54 $\pm$ 0.06	ND ^e				
10	-0.29 $\pm$ 0.19	-0.08 $\pm$ 0.50	ND ^e	-0.21 $\pm$ 0.51	ND ^e	ND ^e				
10-F	-0.49 $\pm$ 0.31	-0.44 $\pm$ 0.31	ND ^e	-0.05 $\pm$ 0.37	ND ^e	ND ^e				
23	-0.16 $\pm$ 0.17	-0.51 $\pm$ 0.35	ND ^e	0.36 $\pm$ 0.41	ND ^e	ND ^e				
23-F	-0.3 $\pm$ 0.46	0.19 $\pm$ 0.56	ND ^e	-0.49 $\pm$ 0.60	ND ^e	ND ^e				
D-17	-0.14 $\pm$ 0.10	0.81 $\pm$ 0.60	ND ^e	-0.96 $\pm$ 0.56	ND ^e	ND ^e				
D-18	-0.39 $\pm$ 0.43	-0.45 $\pm$ 0.60	ND ^e	0.06 $\pm$ 0.29	ND ^e	ND ^e				
L-17	-0.05 $\pm$ 0.16	0.49 $\pm$ 0.77	ND ^e	-0.55 $\pm$ 0.75	ND ^e	ND ^e				
L-18	-0.06 $\pm$ 0.24	0.10 $\pm$ 0.44	ND ^e	-0.16 $\pm$ 0.56	ND ^e	ND ^e				

^a value obtained by subtracting average Ct value (n = 6 datapoints) from the average control Ct value (n = 18 datapoints)^b value obtained by subtraction of average ΔC_t s from indicated parameters^c normalized COXII DNA levels relative to control as given by the expression $2^{-\Delta\Delta C_t}$, range is between $\Delta\Delta C_t$ -SD and $\Delta\Delta C_t$ +SD^d significantly different from control; p-values from a two-tailed distribution two-sample unequal variance T-test; significance at 0.005.^e ND = not determined

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The values given are averages of 3 different cell populations, amplified in duplicate. Standard deviations (SD) of duplicate samples were tight (range 0.01 to 0.3 Δ Ct values, not shown), but after combining the results of different cell populations, the SD increased (range 0.10 to 0.98 Δ Ct values).

5 A significant reduction in COXII DNA was observed for D-ddC and (+)-BCH-189 (2.27 and 2.16 Δ Ct, respectively), while no significant decrease in COXII DNA was observed for any of the test compounds. In the rRNA testing, there were no significant differences observed in Δ Ct values of test compounds compared to controls. In the β -actin testing, a minor but significant increase (-0.62 Δ Ct) in the D-ddC treated cultures
10 was noted, but this increase is most likely attributed to a PCR-primer effect.

After normalization and relative to the no-treatment control, D-ddC and (+)-BCH-189 significantly reduced the total amount of COXII DNA by more than 2 Δ Δ Ct, while none of the 8 new test compounds showed any significant COXII DNA reduction.

15 The following general conclusions on this series of nucleoside analogues can be made: (i) the β -L-enantiomers are more potent than the corresponding β -D-enantiomers; (ii) compounds are less potent against 3TC-resistant HIV-1, indicating cross-resistance with 3TC-selected 184V viral strains; (iii) the antiviral activity of D-D4FC is strongly reduced by introducing a fluorne moiety at the 3' position; (iv) the 5-fluorocytosine
20 modification did not improve the activity, and did not change the toxicity pattern significantly ($IC_{50} > 87 \mu$ M for all compounds); and (v) the one-step Q-RT-PCR assay gave results comparable to the endogenous RT assay, eliminating the need for radioactive experiment. This study also indicates that modifications in the sugar ring of cytosine nucleoside analogs with a 4'-thio instead of an oxygen (especially compounds
25 L-17 and L-18) results in compounds with reduced potency against 3TC-resistant virus.

Example 70

Adenosine deaminase (ADA) kinetics study

In an attempt to understand metabolic stability of the adenosine analogue **D-27**, adenosine deaminase (ADA) binding efficiencies and deamination kinetics studies were performed (Marquez, V. E.; Tseng, C. K. -H.; Mitsuya, H.; Aoki, S.; Kelley, J. A.; Ford, H. Jr.; Roth, J. S.; Broder, S.; Johns, D. G.; Driscoll, J. S. Acid-stable 2'-fluoro purine dideoxynucleosides as active agents against HIV. *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 978-985). Assays were performed at 25°C in phosphate buffer solution (pH 7.4) with substrate concentrations in the range of 15-100 μM and with 0.15 unit of adenosine deaminase (EC.3.5.4.4. from calf intestinal mucosa). The assays were monitored with a UV spectrometer at 265 nm. Initially, the qualitative assays were performed with D- β -2'-F-4'-S-d4A **24** (200 μM) in the presence of 0.24 unit of adenosine deaminase for 120 minutes to determine whether it is a substrate of this enzyme. The concentration (c_t) of each substrate at a certain time (t) was calculated from the absorbance (A_t) at that time (t), where it was assumed that the total change of absorbance ($A_0 - A_{\infty}$) was directly related to the disappearance of the substrate.³⁵ Initial hydrolysis rates for each substrate concentration were measured manually through graphical curve fitting of the concentration versus time data for reaction of each substrate. From Lineweaver-Burke plot of these initial rates, V_{max} (maximum velocity) and K_M (Michaelis constant) were obtained for each substrate and k_{cat} was also calculated with 0.15 unit of the enzyme (M.W. 33,000) in 2 mL of buffer solution. The $t_{1/2}$ of D- β -2'-F-4'-S-d4A **24** and adenosine were also measured at 20 μM with 0.15 unit of the enzyme.

As shown in **Table 5**, the adenine derivative **D-27** was found to be tightly bound ($K_M = 18.3 \mu\text{M}$) to the mammalian adenosine deaminase (from calf intestinal mucosa, EC.3.5.4.4), but the turnover number ($k_{\text{cat}} = 0.94 \text{ s}^{-1}$) was very low, which indicates that even though the adenine derivative **D-27** can strongly bind to ADA, it can barely be catalyzed by ADA to the corresponding inosine derivative. Compared with other substrates of ADA, β -D-2'-F-4'-Sd4A **D-27** has very low K_M and k_{cat} values, and the catalytic efficiency (k_{cat}/K_M) is as low as that of β -FddA (Ford, H. Jr.; Dai, F.; Mu, L.; Siddiqui, M. A.; Nicklaus, M. C.; Anderson, L.; Marquez, V. E.; Barchi, J. J. Jr. Adenosine deaminase prefers a distinct sugar ring conformation for binding and

WO 03/000200

PCT/US02/0245

catalysis: Kinetic and structural studies. *Biochemistry*, **2000**, 39, 2581-2592). From a therapeutic point of view, this metabolic stability of adenosine analogue **D-27** has important implications because adenosine deaminase is one of the major deactivating enzymes of the purine catabolism pathway (Kredich, N. M.; Hershsfeld, M. S. In *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*; Scriver, C. R.; Beaudet, A. L.; Sly, W. S.; Valle, D., Eds.; McGraw-Hill: New York, 1989; pp 1045-1075).

TABLE 5. Kinetic Constants for Adenosine Analogues as Substrates of ADA.^a

Compound	K_M (μM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_M ($\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	$t_{1/2}$ (min)
D-2'-F-4'-Sd4A (D-27)	18.3	0.94	0.05	33
D-2'-F-d4A ²⁸	23.0	NA ^b	NA ^b	42
Adenosine	24.5	76.4	3.1	0.5

^a Kinetic data were obtained spectrophotometrically at 25°C by following the decrease in absorbance at 265 nm.

^b Not Available.

Example 71

Cytotoxicity assays

The cytotoxicity of the synthesized nucleosides, cytidine (**D-17**), 5-fluorocytidine (**D-18**), adenosine (**D-27**) and 2-fluoroadenosine (**D-33**) were assessed in human PBM, CEM and Vero cells. The 2-fluoroadenosine analogue (**D-33**) showed antiviral potency as well as high cytotoxicity (IC_{50} 1.5, 1.1 and 7.6 μM for PBM, CEM and Vero, respectively) whereas no other compound showed cytotoxicity up to 100 μM .

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The compounds were evaluated for their potential toxic effects on uninfected PHA-stimulated human PBM cells, in CEM (T-lymphoblastoid cell line obtained from American Type Culture Collection, Rockville, MD.) and Vero (African green monkey kidney) cells. PBM cells were obtained from whole blood of healthy seronegative donors (HIV-1 and hepatitis B virus) by single-step Ficoll-Hypaque discontinuous gradient centrifugation. Log phase Vero, CEM and PHA-stimulated human PBM cells were seeded at a density of 5×10^3 , 2.5×10^5 and 5×10^4 cells/well respectively. All of the cells were plated in 96-well cell culture plates containing ten-fold serial dilutions of the test drug. The cultures were incubated for 3, 4 and 5 days for Vero, CEM, and PBM cells, respectively in a humidified 5% CO₂-air at 37°C. At the end of incubation, MTT tetrazolium dye solution (Cell titer 96®, Promega, Madison, WI) was added to each well and incubated overnight. The reaction was stopped with stop solubilization solution (Promega, Madison, WI). The plates were incubated for 5 hours to ensure that the formazan crystals were dissolved. The plates were read at a wavelength of 570nm using an ELISA plate reader (Bio-tek instruments, Inc., Winooski, VT, Model # EL 312e). The 50% inhibition concentration (IC₅₀) was determined from the concentration-response curve using the median effect method.

Example 72

HIV Assay in PBM Cells

The antiviral activity of the synthesized compounds were evaluated against HIV-1 in human peripheral blood mononuclear (PBM) cells, among which cytidine (**D-17**), 5-fluorocytidine (**D-18**), adenosine (**D-27**) and 2-fluoroadenosine (**D-33**) showed moderate to potent anti-HIV activities (EC₅₀ 1.3, 11.6, 8.1 and 1.2 μM, respectively). Similarly, the synthesized pyrimidine (**L-17** to **L-20**) and purine (**L-27**, **L-28**, **L-32** and **L-33**) nucleosides were evaluated.

Human peripheral blood mononuclear (PBM) cells (obtained from Atlanta Red Cross) were isolated by Ficoll-Hypaque discontinuous gradient centrifugation from healthy seronegative donors. Cells were stimulated with phytohemagglutinin A (Difco, Sparks, MD) for 2-3 days prior to use. HIV-1_{LAI} obtained from the Centers for Disease Control and Prevention (Atlanta, GA) was used as the standard reference virus for the

WO 03/000200

PCT/US02/0245

antiviral assays. The molecular infectious clones HIV-1_{XBm} and HIV-1_{M184V_{plu}} were obtained from Dr. John Mellors (University of Pittsburgh). Infections were done in bulk for one hour, either with 100 TCID₅₀ / 1 x 10⁷ cells for a flask (T25) assay or with 200 TCID₅₀ / 6 x 10⁵ cells/well for a 24 well plate assay. Cells were added to a plate or flask containing a ten-fold serial dilution of the test compound. Assay medium was RPMI-1640 supplemented with heat inactivated 16% fetal bovine serum, 1.6 mM L-glutamine, 80 IU/ml penicillin, 80 µg/ml streptomycin, 0.0008% DEAE-Dextran, 0.045% sodium bicarbonate, and 26 IU/ml recombinant interleukin-2 (Chiron Corp, Emeryville, CA). AZT was used as a positive control for the assay. Untreated and uninfected PBM cells were grown in parallel at equivalent cell concentrations as controls. The cell cultures were maintained in a humidified 5% CO₂-air at 37°C for 5 days and supernatants were collected for reverse transcriptase (RT) activity.

Supernatants were centrifuged at 12,000 rpm for 2 hours to pellet the virus. The pellet was solubilized with vortexing in 100 µl virus solubilization buffer (VSB) containing 0.5% Triton X-100, 0.8 M NaCl, 0.5 mM phenylmethylsulfonyl fluoride, 20% glycerol, and 0.05 M Tris, pH 7.8. Ten µL of each sample were added to 75 µL RT reaction mixture (0.06 M Tris, pH 7.8, 0.012 M MgCl₂, 0.006 M dithiothreitol, 0.006 mg/ml poly (rA)_n, oligo (dT)₁₂₋₁₈, 96 µg/ml dATP, and 1 µM of 0.08 mCi/ml ³H-thymidine triphosphate (Moravsek Biochemicals, Brea, CA) and incubated at 37°C for 2 hours. The reaction was stopped by the addition of 100 µL 10% trichloroacetic acid containing 0.05% sodium pyrophosphate. The acid insoluble product was harvested onto filter paper using a Packard Harvester (Meriden, CT), and the RT activity was read on a Packard Direct Beta Counter (Meriden, CT). The RT results were expressed in counts per minute (CPM) per milliliter. The antiviral 50% effective concentration (EC₅₀) and 90% effective concentration (EC₉₀) were determined from the concentration-response curve using the median effect method (Belen'kii, S. M.; Schinazi, R. S. Multiple drug effect analysis with confidence interval. *Antiviral. Res.* **1994**, 25, 1-11).

The synthesized pyrimidine (D-17 to D-20) and purine (D-27, D-28, D-32 and D-33) nucleosides were evaluated against HIV-1 in human PBM cells *in vitro*, and AZT was included as a positive control. Among the tested nucleosides, two pyrimidine nucleosides, cytidine D-17 (EC₅₀ 1.3 µM) and 5-fluorocytidine D-18 (EC₅₀ 11.6 µM),

WO 03/000200

PCT/US02/0245

and all purine nucleosides synthesized, adenosine **D-27** (EC_{50} 8.1 μ M), inosine **D-28** (EC_{50} 43.6 μ M), guanosine **D-32** (EC_{50} 80.5 μ M) and 2-fluoroadenosine **D-33** (EC_{50} 1.2 μ M), showed moderate to potent antiviral activities. The 2-fluoroadenosine analogue **D-33** showed antiviral potency as well as high cytotoxicity (IC_{50} 1.5, 1.1 and 7.6 μ M for PBM, CEM and Vero, respectively) whereas no other compound showed cytotoxicity up to 100 μ M. Compared with the β -D-2'-Fd4N nucleosides,^{11(b)} there was a general trend of antiviral activities throughout the series, where cytidine, 5-fluorocytidine and adenosine analogues were most potent and almost all purine nucleosides showed moderate to potent activities. However, the β -D-2'-Fd4N nucleosides^{11(b)} were consistently more potent than their 4'-thio congeners, which suggests that the two types of nucleosides may have similar structural features and may be recognized in the same fashion at the kinase level, but the way they interact with the viral polymerase (HIV-1 reverse transcriptase) must be somewhat different (*vide infra* for molecular modeling studies). The results are summarized in **Table 6**.

TABLE 6. Anti-HIV activity and cytotoxicity of D-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides

Compound	Activity (EC_{50} , μ M)	Cytotoxicity (IC_{50} , μ M)			
	HIV-1	PBM	CEM	Vero	
D-17	1.3	>100	>100	>100	
D-18	11.6	>100	>100	>100	
D-19	92.3	>100	>100	53.0	
D-20	>100	>100	>100	>100	
D-27	8.1	>100	>100	>100	
D-28	43.6	>100	>100	>100	
D-32	80.5	>100	>100	>100	

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Compound	Activity (EC ₅₀ , μM)	Cytotoxicity (IC ₅₀ , μM)		
	HIV-1	PBM	CEM	Vero
D-33	1.2	1.5	1.1	7.6
AZT	0.004	>100	14.3	28.0

Similarly, the synthesized pyrimidine (**L-17** to **L-20**) and purine (**L-27**, **L-28**, **L-32** and **L-33**) nucleosides were evaluated for their anti-HIV activity and cytotoxicity in vitro, and results are summarized in **Table 7**. Among these nucleosides, two pyrimidine nucleosides, cytidine **L-17** (EC₅₀ 0.12 μM) and 5-fluorocytidine **L-18** (EC₅₀ 0.15 μM) showed the most potent anti-HIV-1 activity, and the purine nucleosides, adenosine **L-27** (EC₅₀ 1.7 μM), inosine **L-28** (EC₅₀ 15.5 μM), guanosine **L-32** (EC₅₀ 43.5 μM) and 2-fluoroadenosine **L-33** (EC₅₀ 11.5 μM), also showed moderate antiviral activity whereas significant cytotoxicity was observed in 2-fluoroadenosine **L-33** (IC₅₀ 13.0, 10.4 and 66.1 μM for PBM, CEM and Vero cells, respectively). However, all other synthesized nucleosides showed no significant cytotoxicity. Despite the replacement of an oxygen atom (β-L-2'-F-d4N) by a sulfur atom (β-L-2'-F-4'S-d4N), the anti-HIV activity was generally maintained.

TABLE 7. Activity of L-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides

Compound	Anti-HIV-1 Activity (EC ₅₀ , μM)	Cytotoxicity (IC ₅₀ , μM)		
	PBM	PBM	CEM	Vero
L-17	0.12	>100	>100	>100
L-18	0.15	>100	>100	>100

WO 03/000200

PCT/US02/02445

L-19	>100	>100	>100	>100
L-20	>100	>100	>100	>100
L-27	1.7	>100	>100	>100
L-28	15.5	>100	>100	>100
L-32	11.5	13.0	10.4	66.1
L-33	43.5	>100	41.5	66.4
AZT	0.004	>100	29.0	14.3

Example 73**Antiviral activity against lamivudine-resistant (HIV-1_{M184V}) mutant strain**

5 Lamivudine (3TC, (-)- β -2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine) is an important
 component of the highly active antiretroviral therapy (HAART), and is the most
 commonly used nucleoside in combination therapy for HIV-1 infection (Carpenter, C. C.
 J.; Fischl, M. A.; Hammer, S. M.; Hirsch, M. S.; Jacobsen, D. M.; Katzenstein, D. A.;
 Montaner, J. S. G.; Richman, D. D.; Saag, M. S.; Schooley, R. T.; Thompson, M. A.;
 Vella, S.; Yeni, P. G.; Volberding, P. A. Antiretroviral therapy for HIV infection in
 10 1998: updated recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA*,
1998, 280, 78-86). 3TC monotherapy results in the selection of 3TC-resistant viral
 variant, resulting in prompt rebound in plasma viral load (Kavlick, M. F.; Shirasaka, T.;
 Kojima, E.; Pluda, J. M.; Hiu, F.; Yarchoan, R.; Mitsuya, H. Genotypic and phenotypic
 characterization of HIV-1 isolated from patients receiving (-)-2',3'-dideoxy-3'-
 15 thiacytidine. *Antivir. Res.* **1995**, 28, 133-146). A single mutation at residue 184
 (M184V) in the catalytic domain of HIV-1 RT bring about a high-level of resistance to
 3TC, causing the 50% inhibitory concentration of 3TC to be increased at least 1,000-fold
 (Schinazi, R. F.; Lloyd, Jr. R. M.; Nguyen, M. -H.; Cannon, D. L.; McMillan, A.; Ilksoy,
 N.; Chu, C. K.; Liotta, D. C.; Bazmi, H. Z.; Mellors, J. W. Characterization of human

WO 03/000200

PCT/US02/20245

immunodeficiency viruses resistant to oxthiolane-cytosine nucleosides. *Antimicrob Agents Chemother.* **1993**, 37, 875-881; Tisdale, M.; Kemp, S. D.; Parry, N. R.; Larder, B. A. Rapid in vitro selection of human immunodeficiency virus type 1 resistant to 3'-thiacytidine inhibitors due to a mutation in the YMDD region of reverse transcriptase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 5653-5656), contributing to the failure of anti-AIDS combination therapy. Therefore, there is an urgent need to discover new drug candidates active against the M184V mutant HIV-1 RT. The cytosine (**D-17**) and 5-fluorocytosine analogues (**D-18**), along with two positive controls, AZT and 3TC, were evaluated against the lamivudine-resistant mutant strain (HIV-1_{M184V}) in human PBM cells *in vitro* (**Table 8**). The antiviral activity of an L-enantiomer, namely the cytosine analogue (**L-17**), was also evaluated, along with other 2',3'-unsaturated nucleosides such as β -D-2'-F-d4FC (Lee, K.; Choi, Y.; Gumina, G.; Zhou, W.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. Structure-activity relationships of 2'-fluoro-2',3'-unsaturated D-nucleosides as anti-HIV-1 agents. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1313-1320), β -D-2'-F-4'-S-d4C (Chong, Y.; Choo, H.; Choi, Y.; Schinazi, R. F.; Chu, C. K. Stereoselective synthesis and antiviral activities of D-2',3'-didehydro-2',3'-dideoxy-2'-fluoro-4'-thionucleosides. *J. Med. Chem. Submitted for publication*) and β -L-2'-F-d4C (Lee, K.; Choi, Y.; Gullen, E.; Schlueter-Wirtz, S.; Schinazi, R. F.; Cheng, Y. -C.; Chu, C. K. Synthesis and anti-HIV and anti-HBV activities of 2'-fluoro-2',3'-unsaturated L-nucleosides. *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1320-1328) (**Table 8**).

TABLE 8. Activity of selected nucleosides against lamivudine-resistant virus (HIV-1_{M184V}) in human PBM cells.

Compound	xxBRU	M184V	FI ^a
	(EC ₉₀ , μ M)	(EC ₉₀ , μ M)	
D-17	5.0	$\approx$ 125	25
L-17	1.4	>100	>100
β -D-2'-F-d4FC ^b	9.9	34.7	3.5
AZT	0.01	0.003	0.3

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Compound	xxBRU (EC ₉₀ , μ M)	M184V (EC ₉₀ , μ M)	FI ^a
3TC	0.08	535	6,688

^a FI is the fold increase (EC₉₀ HIV-1_{M184V}/ EC₉₀ HIV-1_{xxBRU})

^b Ref. 11(b): Lee et al. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 1313~1320

Example 74

5 Molecular modeling

Conformational analysis: The initial conformations of D- β -2'-F-d4C and D- β -2'-F-4'-S-d4C (**D-17**) were constructed by builder module in Spartan 5.1.1 (Wavefunctions, Inc. Irvine, CA), and all calculations were performed on a Silicon Graphics O2 workstation. The initial conformations were cleaned up and geometry-optimized through
10 quantum mechanical *ab initio* calculations using RHF/3-21G* basis in Spartan 5.1.1.

Binding affinity study to HIV-1 reverse transcriptase: All molecular modeling of the enzyme-substrate complexes was carried out using Sybyl 6.7 (Tripos Associates, St. Louis, MO) on a Silicon Graphics Octane2 workstation. The enzyme site of the enzyme-ligand complex was constructed based on the X-ray structure of the covalently trapped
15 catalytic complex of HIV-1 RT with TTP and primer-template duplex (PDB entry 1rtd).²⁹ A model of the NRTI binding site was constructed which consisted of residues between Lys1 and Pro243 in the p66 subunit, and a 7:4 (template-primer) duplex. The geometry-optimized structures of each inhibitor, obtained from the geometry optimization study, were used as the initial Cartesian coordinates. The heterocyclic
20 moiety of n+1th nucleotide in template overhang was modified to the base complementary to the incoming NRTIs. Thus, the adenine moiety which was in the original X-ray structure (1rtd)²⁹ was modified to guanine. The inhibitor triphosphates were manually docked to the active site of the enzyme by adjusting the torsional angles to those found in the X-ray structure.²⁹ Gasteiger-Hückel charge was given to the

WO 03/000200

PCT/US02/20245

enzyme-ligand complex with formal charges (+2) to two Mg atoms in the active site. Then, Kollman-All-Atom charges were loaded to enzyme site from the biopolymer module in Sybyl. Fluorine parameters were obtained from the literature (See the website: <http://www.amber.uscf.edu/amber/Questions/fluorine.html>; Cornell, W. D.; Cieplak, P.; Bayly, C. I.; Gould, I. R.; Merz, K. M.; Ferguson, D. M.; Spellmeyer, D. C.; Fox, T.; Caldwell, J. W.; Kollman, P. A. A 2nd generation force-field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic-molecules. *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 5179-5197; Dunitz, J. D.; Taylor, R. Organic fluorine hardly ever accepts hydrogen bonds. *Chem. Eur. J.* 1997, 3, 89-98) and MM2 parameters and put to the parameter files. In order to eliminate local strains resulting from merging inhibitors and/or point mutations, residues inside 6 Å from the merged inhibitors and mutated residues were annealed until energy change from one iteration to the next was less than 0.05 kcal/mol. The annealed enzyme-inhibitor complexes were minimized by using Kollman-All-Atom Force Field until iteration number reached 5,000.

Since there is no crystal structure available for kinases, molecular modeling studies were based on the polymerase level. The molecular modeling studies of the triphosphates of several nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) was done according to the crystal structure of HIV-1 RT, complexed with thymidine triphosphate and DNA duplex based on Huang et al. (Structure of a covalently trapped catalytic complex of HIV-1 reverse transcriptase: Implications for drug resistance. *Science*, 1998, 282, 1669-1675). The conformations of β -D-2'-Fd4N and the corresponding 4'-thio congeners were compared. A quantum mechanical calculation (RHF/3-21G*) was performed on cytidine analogues (β -D-2'-Fd4C¹¹⁽⁰⁾) and β -D-2'-F-4'-Sd4C (**D-17**), and the geometry-optimized structures were compared (**Figure 18-a**). The two structures were superimposable except for the 4'-positions; the strain inside the 4'-thio sugar ring caused by the longer C-S bond length resulted in moving the 4'-sulfur atom by 0.5 Å down to the plane formed by C1', C2', C3' and C4'. Another reason for this out-of-plane moving the 4'-sulfur atom is that, unlike 4'-oxygen, the 4'-sulfur atom cannot form a hydrogen bond with 5'-OH due to the lack of the gauche effect. However, the critically important configurations of the N1 and C5' atoms of a nucleoside are in good accordance, which may imply the similar tolerance to the two types of nucleosides by the kinases. On the other hand, when the triphosphates of β -D-2'-Fd4C¹¹⁽⁰⁾ and β -D-2'-F-4'-

WO 03/000200

PCT/US02/20245

Sd4C (**D-17**) bind to the active site of HIV-1 reverse transcriptase, the isosteric replacement of 4'-oxygen with 4'-sulfur atom exerts effects on the interaction between the nucleoside triphosphates and the active site residues, particularly Tyr115 and Met184 (**Figure 18-b** and **18-c**). The energy-minimized structures of β -D-2'-F-d4C and β -D-2'-F-4'-Sd4C (**D-17**) bound to HIV-1 RT shows that nucleoside inhibitors are located in a well-defined binding pocket formed by Arg72, Met184 and 3'-OH pocket residues (Asp113, Tyr115, Phe116 and Gln151) (**Figure 18-b**) (Lee, K.; Chu, C. K. Molecular modeling approach to understanding the mode of action of L-nucleosides as antiviral agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 138-144). The role of Arg72 is notable because, as it moves into the binding pocket, it stabilizes the bound nucleotide through hydrogen bonding with the triphosphate moiety as well as nonspecific hydrophobic interaction with the heterocyclic moiety of the nucleoside triphosphate (**Figure 18-b**). An additional characteristic binding mode of these d4-nucleotides is the possible π - π interaction between C2'-C3' fluorovinyl moiety of the nucleotide and the aromatic ring of nearby Tyr115, which could be one reason for the high antiviral activity of 2',3'-unsaturated nucleosides (**Figure 18-b**) (Takagi, R.; Nakamura, M.; Hashizume, M.; Kojima, S.; Ohkata, K. Stereoselective cyclopropanation of 3-aryl-2-phosphonoacrylates induced by the (-)-8-phenylmenthyl group as a chiral auxiliary. *Tetrahedron lett.* **2001**, *42*, 5891-5895). Fluorine substitution at C2' position would make the C2'-C3' double bond electron poor and, thus, increase the π - π interaction with the electron-rich aromatic ring of Tyr115. In spite of almost the same binding mode of β -D-2'-F-d4C and β -D-2'-F-4'-Sd4C (**D-17**), the decreased antiviral activity of β -D-2'-F-4'-Sd4C can be explained by the decrease in π - π interaction. The replacement of electronegative oxygen by sulfur depolarizes charges inside the sugar ring in β -D-2'-F-4'-Sd4C (**D-17**), which may result in reduced π - π interaction between the fluorovinyl moiety and aromatic ring of Tyr115. Because of its out-of-plane location and large van der Waals radius, the 4'-sulfur atom in the β -D-2'-F-4'-Sd4N sugar moiety is in close contact to Met184 (**Figure 18-c**). As a result, the mutation of Met184 to Val184, which has a bulky side chain, results in a significant steric hindrance between the 4'-sulfur atom in the β -D-2'-F-4'-Sd4N sugar moiety and the side chain of Val184, which might be one of the reasons for the high cross-resistance of HIV-1_{M184V} to β -D-2'-F-4'-Sd4C (**D-17**) and β -D-2'-F-4'-Sd4FC (**D-18**) (**Table 9**, **Figure 18-c**).

WO 03/000200

PCT/US02/20245

The isosteric replacement of 4'-oxygen in β -D-2'-Fd4 nucleosides with 4'-sulfur caused substantial changes in the binding mode of β -D-2'-F-4'-Sd4 to the active site of HIV-1 RT, resulting in reduced *in vitro* anti-HIV-1 activity. The lamivudine-resistant mutant strain (HIV-1_{M184V}) showed significant cross-resistance to the β -D-2'-F-4'-Sd4 nucleosides, which could be explained by the larger van der Waals radius as well as the close proximity to Met184 of the 4'-sulfur atom.

Similarly, molecular modeling studies were conducted on the representative L-cytidine analogs (β -L-2'-F-d4C and β -L-2'-F-4'-S-d4C **L-17**). Again, the two geometry-optimized structures were nicely superimposed each other except positions of the 4'-oxygen and 4'-sulfur. Because the sulfur atom has a longer van der Waals radius than the oxygen atom, the 4'-sulfur was positioned slightly outside of the 4'-oxygen when two cytidine analogs were superimposed. However, the distance between the heterocyclic base and 5'-hydroxy group, which has been considered as the key factor to bind to nucleoside kinases, is similar in the two classes as shown in **Figure 19-a** (Wang, P.; Hong, J. H.; Cooperwood, J. S.; Chu, C. K. Recent advances in L-nucleosides: chemistry and biology. *Antiviral Res.* **1998**, *40*, 19-44; Herdewijn, P. Structural requirements for antiviral activity in nucleosides. *Drug Discov. Today*, **1997**, *2*, 235-242). Both β -L-2'-F-4'-S-d4C **L-17** and β -L-2'-F-d4C may be potentially the substrates of nucleoside kinases, such as deoxycytidine kinase. After the initial phosphorylation of the synthesized nucleosides, their triphosphates could be readily synthesized by nucleotide kinases as the first phosphorylation step is considered as the rate-limiting step (Gaubert, G.; Gosselin, G.; Boudou, V.; Imbach, J. -L.; Eriksson, S.; Maury, G. Low enantioselectivities of human deoxycytidine kinase and human deoxyguanosine kinase with respect to 2'-deoxyadenosine, 2'-deoxyguanosine and their analogs. *Biochimie*, **1999**, *81*, 1041-1047). The triphosphates of geometry-optimized β -L-2'-F-4'-S-d4C **L-17** and β -L-2'-F-d4C, β -L-2'-F-4'-S-d4CTP and β -L-2'-F-d4CTP were manually docked into the truncated catalytic site of HIV-1 RT (Lys1-Pro243 in p66 subunit), and the complexes were energy-minimized using Kollman-All-Atom force field (Weiner, S. J.; Kollman, P. A.; Nguyen, D. T.; Case, D. A. An all atom force field for simulations for proteins and nucleic acids. *J. Comput. Chem.* **1986**, *7*, 230-252). Both minimized structures showed that the triphosphates of β -L-2'-F-4'-S-d4C **L-17** and β -L-2'-F-d4C bound tightly to the active site of HIV-1 RT (**Figure 19-c and 19-d**). In addition to the

WO 03/000200

PCT/US02/20245

structural similarity, which was shown in **Figure 19-a**, their binding modes to the HIV-1 RT were also similar in several aspects. Arg72 at the active site of HIV-1 RT plays a key role in binding the triphosphates of β -L-2'F-4'S-d4C **L-17** and β -L-2'F-d4C. The guanidinium moiety of Arg72 approaches the active site in order to establish multiple hydrogen bonds with the triphosphates of β -L-2'F-4'S-d4CTP and β -L-2'F-d4CTP, resulting in stabilization of the nucleoside triphosphates. The backbone amides, which are part of 3'-OH pocket residues (Asp113 and Ala114), also stabilize the triphosphates through the hydrogen bonding interaction. Even though the 4'-sulfur atom in β -L-2'F-4'S-d4C **L-17** is closer to Arg72 compared to the 4'-oxygen in β -L-2'F-d4C, there was no destabilizing steric hindrance between the 4'-sulfur atom and the guanidinium moiety of Arg72, which allowed stable orientation of β -L-2'F-4'S-d4C **L-17** at the active site (**Figure 19-b**). The conformational analysis and binding affinity from the modeling studies indicate that β -L-2'F-4'S-d4C **L-17** and β -L-2'F-d4C have similar structures, and the substitution of a sulfur atom is well tolerated at the polymerase level, which could explain their similar antiviral potency in the wild-type viral RT. However, the M184V mutation in HIV-1 RT causes a serious problem in positioning the L-configured nucleoside triphosphates at the active site, because the branched methyl groups of Val184 tend to occupy the space where the sugar moiety of L-2'F-2',3'-unsaturated nucleosides projected. The resulting steric hindrance destabilized the L-2'F-2',3'-unsaturated nucleoside triphosphate/RT complex (**Figure 19-e**), which can be confirmed by the highly decreased relative binding energies for L-nucleosides (**Table 9**). On the other hand, the structure of β -D-2'F-d4CTP/RT complex does not show any significant steric crash between Val184 and the sugar moiety of nucleoside triphosphate because the natural D-configured sugar moiety was located at the opposite side (**Figure 19-f**). Therefore, the antiviral data of β -D-2'F-d4C against the 3TC-resistant mutant is predicted to maintain the antiviral activity against the 3TC-resistant strain. The potent anti-HIV-1_{M184V} activity of its 5-fluoro analogue, β -D-2'F-d4FC, supports this idea. In this context, it is interesting that M184V RT is cross-resistant to the natural D-configured β -D-2'F-4'S-d4C.²⁴ The molecular modeling study showed that the longer van der Waals radius of 4'-sulfur and the longer C-S bond length place the 4'-sulfur atom close enough to Val184, which resulted in steric hindrance, and thereby reduced relative binding affinity and antiviral potency.

WO 03/000200

PCT/US02/0245

The pyrimidine analogs, β -L-2'-F-4'S-d4C **L-17** and β -L-2'-F-4'S-d4-5FC **L-18** showed potent antiviral activity against HIV-1. The cytidine analogue, β -L-2'-F-4'S-d4C **L-17**, however, did not show any significant antiviral activity against the 3TC-resistant mutant RT. Based on the molecular modeling studies, the similar pattern of anti-HIV-1 activity of β -L-2'-F-4'S-d4N and β -L-2'-F-d4N can be explained by their conformational and structural similarities. The unnatural L-configuration of sugar moiety was found to provide steric hindrance with the side chain of Val184 in 3TC-resistant RT, which destabilized the RT-nucleoside analog complex.

Table 9. Correlation of relative binding energy difference (ΔE_{rel}) with fold increase (FI)

Compound	WT (xxBRU)		M184V		FI ^b	ΔE_{rel} ^c (kcal/mol)
	Activity	E_{rel} ^a	Activity	E_{rel} ^a		
	(EC ₅₀ , μ M)	(kcal/mol)	(EC ₅₀ , μ M)	(kcal/mol)		
β -L-2'-F-4'S-d4C (L-17)	1.4	86.0	>100	-21.5	>100	107.5
β -L-2'-F-d4C	2.1	36.8	>100	-70.0	>100	106.8
β -D-2'-F-4'S-d4C ^d (D-17)	5.0	82.6	125	-14.8	25	97.4
β -D-2'-F-d4C	— ^e	44.3	— ^e	-6.5	— ^e	50.8
β -D-2'-F-d4FC ^f	3.1 ^g	— ^h	9.6 ^g	— ^h	3 ^g	— ^h

^a relative binding energy (E_{rel}) = binding energy of nucleoside triphosphate – binding energy of dCTP, ^b EC₅₀ HIV-1_{M184V}/EC₅₀ HIV-1_{xxBRU}, ^c relative binding energy difference (ΔE_{rel}) = $E_{rel}(WT) - E_{rel}(M184V)$, ^d Ref. 24, ^e not available, ^f Ref. 23, ^g anti-HIV activity or fold increase in EC₅₀ (μ M), ^h not determined

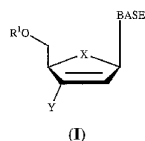
This invention has been described with reference to its preferred embodiments. Variations and modifications of the invention, will be obvious to those skilled in the art from the foregoing detailed description of the invention. It is intended that all of these variations and modifications be included within the scope of this invention.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

WE CLAIM:

1. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

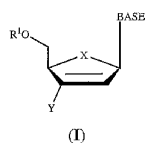
R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

2. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl,

WO 03/000200

PCT/US02/0245

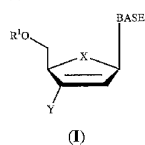
aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

3. A method for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

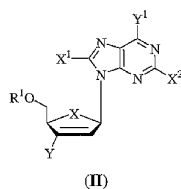
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

4. The method of any one of claims 1-3, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (II):



WO 03/000200

PCT/US02/20245

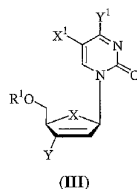
or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene), CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

5. The method of any one of claims 1-3, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (III):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

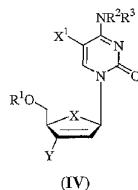
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

6. The method of any one of claims 1-3, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (IV):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

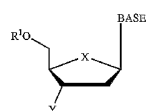
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene), CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

7. The method of any one of claims 1-6, wherein X is O.
8. The method of any one of claims 1-6, wherein X is S.
9. The method of any one of claims 1-6, wherein Y is F.
10. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):

WO 03/000200

PCT/US02/0245



(V)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

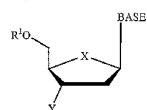
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

11. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β-D or β-L-3'-halonucleoside of the formula (V):



(V)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

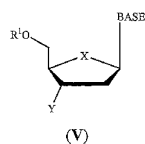
Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

WO 03/000200

PCT/US02/0245

12. A method for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

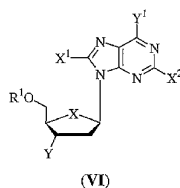
R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

13. The method of any one of claims 10-12, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VI):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

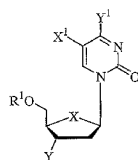
X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

WO 03/000200

PCT/US02/20245

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

14. The method of any one of claims 10-12, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VII):



(VII)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

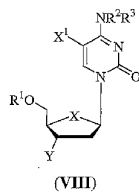
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^5 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

15. The method of any one of claims 10-12, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VIII):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR⁴R⁵, SH or SR⁴; and

R², R³, R⁴ and R⁵ are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

16. The method of any one of claims 10-15, wherein X is O.

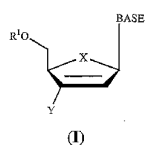
17. The method of any one of claims 10-15, wherein X is S.

18. The method of any one of claims 10-15, wherein Y is F.

19. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):

WO 03/000200

PCT/US02/0245



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HIV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

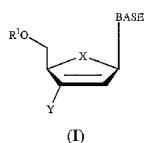
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

20. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β-D or β-L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HBV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

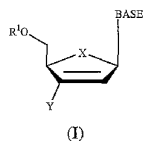
Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

WO 03/000200

PCT/US02/0245

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

21. A method for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-proliferative agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

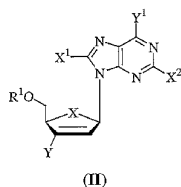
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

22. The method of any one of claims 19-21, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (II):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

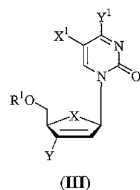
Y¹ is OH, OR², NH₂, NHR², NR²R³, SH, SR² or halogen (F, Cl, Br or I);

WO 03/000200

PCT/US02/20245

X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR⁴R⁵, SH or SR⁴; and
 R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

23. The method of any one of claims 19-21, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (III):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR², NH₂, NHR², NR²R³, SH, SR² or halogen (F, Cl, Br or I);

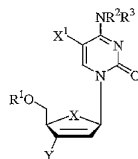
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR⁴R⁵, SH or SR⁴; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

WO 03/000200

PCT/US02/0245

24. The method of any one of claims 19-21, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (IV):



(IV)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

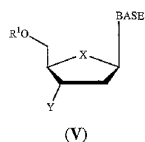
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

25. The method of any one of claims 19-24, wherein X is O.
26. The method of any one of claims 19-24, wherein X is S.
27. The method of any one of claims 19-24, wherein Y is F.
28. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):

WO 03/000200

PCT/US02/20245



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HIV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

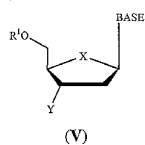
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

29. A method for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β-D or β-L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HBV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

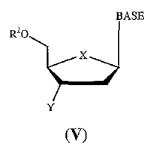
Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

WO 03/000200

PCT/US02/0245

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

30. A method for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising administering an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-proliferative agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

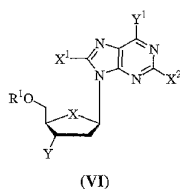
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

31. The method of any one of claims 28-30, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VI):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y¹ is OH, OR², NH₂, NHR², NR²R³, SH, SR² or halogen (F, Cl, Br or I);

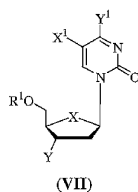
WO 03/000200

PCT/US02/20245

X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR²R³, SH or SR⁴; and

R², R³, R⁴ and R⁵ are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

32. The method of any one of claims 28-30, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VII):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR², NH₂, NHR², NR²R³, SH, SR² or halogen (F, Cl, Br or I);

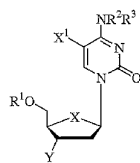
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR²R³, SH or SR⁴; and

R², R³, R⁴ and R⁵ are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

WO 03/000200

PCT/US02/0245

33. The method of any one of claims 28-30, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VIII):



(VIII)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

34. The method of any one of claims 28-33, wherein X is O.

35. The method of any one of claims 28-33, wherein X is S.

36. The method of any one of claims 28-33, wherein Y is F.

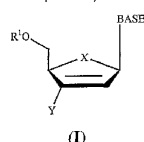
WO 03/000200

PCT/US02/20245

37. The method of 28, wherein one or more of the other effective anti-HIV agent is selected from the group consisting of 2-hydroxymethyl-5-(5-fluorocytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (FTC); carbovir, acyclovir, interferon, famciclovir, penciclovir, AZT, DDI, DDC, D4T, abacavir, L-(-)-FMAU, L-DDA phosphate prodrugs, and β -D-dioxolanyl-guanine (DXG), β -D-dioxolanyl-2,6-diaminopurine (DAPD), and β -D-dioxolanyl-6-chloropurine (ACP), nevirapine, MKC-442, DMP-266 (sustiva), indinavir, saquinavir, and DMP-450.

38. The method of 29, wherein one or more of the other effective anti-HBV agent is selected from the group consisting of 2-hydroxymethyl-5-(5-fluorocytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (FTC); carbovir, acyclovir, interferon, famciclovir, penciclovir, AZT, DDI, DDC, D4T, abacavir, L-(-)-FMAU, L-DDA phosphate prodrugs, and β -D-dioxolanyl-guanine (DXG), β -D-dioxolanyl-2,6-diaminopurine (DAPD), and β -D-dioxolanyl-6-chloropurine (ACP), nevirapine, MKC-442, DMP-266 (sustiva), indinavir, saquinavir, and DMP-450.

39. A process for the preparation of the β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



wherein

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, or SO₂;

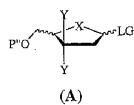
Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted; comprising:

WO 03/000200

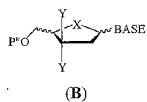
PCT/US02/20245

- (a) obtaining an optionally protected compound of the formula (A):



wherein P' is independently hydrogen or a suitable oxygen protecting group (alkyl, acyl or silyl); and LG is a suitable leaving group;

- (b) coupling the compound of formula (A) with a purine or pyrimidine base to obtain the compound of formula (B):

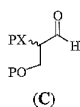


- (c) eliminating and deprotecting, if necessary, the compound of formula (B) to obtain the compound of formula (I).

40. The process of claim 39, wherein the LG is OAc.

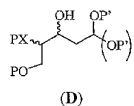
41. The process of claim 39, further comprising the process for the preparation of the compound of formula (A), comprising

- (a) obtaining an optionally protected of the formula (C):



wherein each P is independently H or a suitable protecting group (alkyl, acyl or silyl);

- (b) coupling the compound of formula (C) with an optionally protected acetaldehyde to obtain a compound of formula (D):

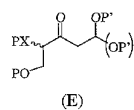


WO 03/000200

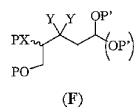
PCT/US02/20245

wherein each P' is independently a suitable oxygen protecting group (alkyl, acyl or silyl);

- (c) oxidizing the compound of formula (D) to obtain a compound of formula (E):



- (d) halogenating the compound of formula (E) to obtain a compound of formula (F):

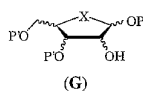


wherein each Y is independently fluoro, chloro, bromo or iodo;

- (e) selectively deprotecting, if necessary; cyclizing; and activating, if necessary, the compound of formula (F) to obtain a compound of formula (A).

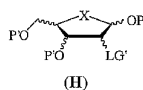
42. The process of claim 39, further comprising the process for the preparation of the compound of formula (A), comprising

- (a) obtaining an optionally protected of the formula (G):



wherein each P and P' is independently a suitable oxygen protecting group (alkyl, acyl or silyl);

- (b) activating the compound of formula (G) to obtain a compound of formula (H):

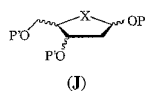


wherein LG' is a suitable leaving group;

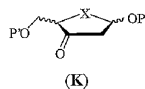
WO 03/000200

PCT/US02/20245

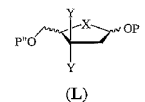
- (c) reducing the compound of formula (H) to obtain a compound of formula (J):



- (d) selectively deprotecting, if necessary, and oxidizing the compound of formula (J) to obtain a compound of formula (K):



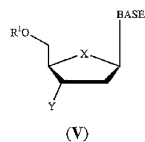
- (f) halogenating the compound of formula (K) to obtain a compound of formula (L):



- (g) selectively deprotecting, if necessary, and activating the compound of formula (L) to obtain a compound of formula (A).

43. The process of claim 39, further comprising the reduction of the compound of formula (I) to obtain a compound of formula (V).

44. A process for the preparation of a β -D or β -L 3'-halonucleoside of the formula (V):



wherein

R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, or SO_2 ;

WO 03/000200

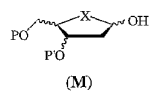
PCT/US02/20245

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted;

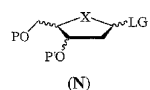
comprising:

- (a) obtaining an optionally protected of the formula (M):



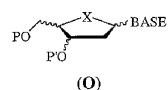
wherein each P and P' is independently a suitable oxygen protecting group (alkyl, acyl or silyl);

- (b) activating the compound of formula (M) to obtain a compound of formula (N):



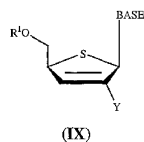
wherein LG is a suitable leaving group;

- (c) coupling the compound of formula (N) with a purine or pyrimidine base to obtain the compound of formula (O):



- (d) selectively deprotecting, if necessary, and substituting with a halogen group to obtain the compound of formula (V).

45. A process for the preparation of a β -D or β -L-2'-halo-4'-thionucleoside of the formula (IX):



wherein

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

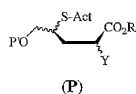
aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted;

comprising:

- (a) obtaining an optionally protected compound of the formula (P):

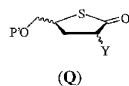


wherein P' is a suitable oxygen protecting group (alkyl, acyl or silyl);

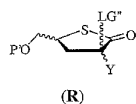
S-Act is an activated sulfur moiety; and

OR is a suitable oxygen leaving group;

- (b) cyclizing the compound of formula (P) to obtain a compound of formula (Q):

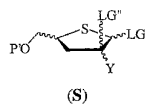


- (c) reacting the compound of formula (Q) with an electrophile to obtain a compound of formula (R):



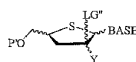
wherein LG'' is a suitable leaving group (phenyl selenium or phenylsulfide);

- (d) activating the compound of formula (R) to obtain a compound of formula (S):



wherein LG is a suitable leaving group;

- (e) coupling the compound of formula (S) with a purine or pyrimidine base to obtain a compound of formula (T):



WO 03/000200

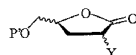
PCT/US02/20245

(T)

- (f) eliminating and optionally deprotecting, if necessary the compound of formula (T) to obtain the compound of formula (IX).

46. The process of claim 45, further comprising the process for the preparation of the compound of formula (P), comprising

- (a) obtaining an optionally protected of the formula (U):



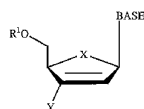
(U)

wherein each P' is independently H or a suitable protecting group (alkyl, acyl or silyl);

- (b) reacting the compound of formula (U) with an activated sulfur to obtain the compound of formula (P).

47. The process of claim 45, further comprising the process for the preparation of the compound of formula (P) from D- or L-glutamic acid.

48. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



(I)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

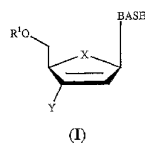
WO 03/000200

PCT/US02/20245

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

49. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

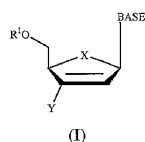
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

50. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl,

WO 03/000200

PCT/US02/20245

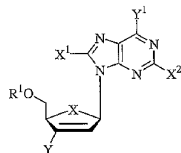
aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

51. The pharmaceutical composition of any one of claims 48-50, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (II):



(II)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y¹ is OH, OR², NH₂, NHR², NR²R³, SH, SR² or halogen (F, Cl, Br or I);

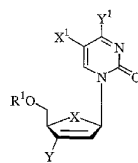
X¹ and X² are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR⁴R⁵, SH or SR⁴; and

R², R³, R⁴ and R⁵ are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene), CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

52. The pharmaceutical composition of any one of claims 48-50, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (III):



(III)

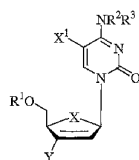
or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

53. The pharmaceutical composition of any one of claims 48-50, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (IV):



(IV)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

WO 03/000200

PCT/US02/20245

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR⁴R⁵, SH or SR⁴; and

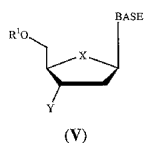
R², R³, R⁴ and R⁵ are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene), CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

54. The pharmaceutical composition of any one of claims 48-54, wherein X is O.

55. The pharmaceutical composition of any one of claims 48-54, wherein X is S.

56. The pharmaceutical composition of any one of claims 48-54, wherein Y is F.

57. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

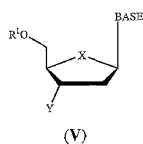
Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

WO 03/000200

PCT/US02/02445

58. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

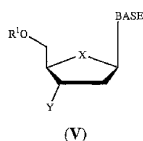
R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

59. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

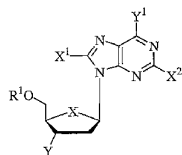
WO 03/000200

PCT/US02/20245

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

60. The pharmaceutical composition of any one of claims 57-59, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VI):



(VI)

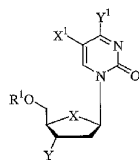
or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^4 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

61. The pharmaceutical composition of any one of claims 57-59, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VII):



(VII)

WO 03/000200

PCT/US02/20245

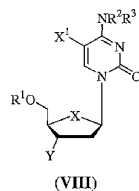
or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR², NH₂, NHR², NR²R³, SH, SR² or halogen (F, Cl, Br or I);

X¹ is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR⁴R⁵, SH or SR⁴; and

R², R³, R⁴ and R⁵ are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

62. The pharmaceutical composition of any one of claims 57-59, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VIII):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

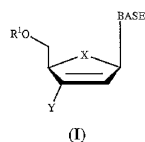
X¹ is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR⁴, NH₂, NHR², NR⁴R⁵, SH or SR⁴; and

R², R³, R⁴ and R⁵ are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

63. The pharmaceutical composition of any one of claims 57-62, wherein X is O.
64. The pharmaceutical composition of any one of claims 57-62, wherein X is S.
65. The pharmaceutical composition of any one of claims 57-62, wherein Y is F.
66. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HIV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

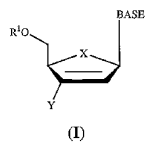
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

67. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



WO 03/000200

PCT/US02/20245

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HBV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

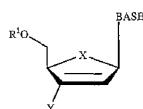
R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

68. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (I):



(I)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-proliferative agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R^1 is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO_2 or CH_2 ;

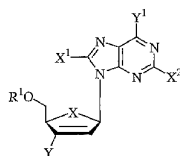
Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

69. The pharmaceutical composition of any one of claims 66-68, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (II):



(II)

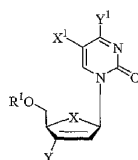
or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

70. The pharmaceutical composition of any one of claims 66-68, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (III):



(III)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

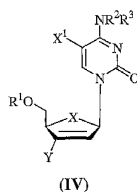
WO 03/000200

PCT/US02/0245

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

71. The pharmaceutical composition of any one of claims 66-68, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (IV):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

72. The method of any one of claims 66-71, wherein X is O.

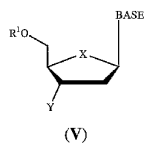
73. The method of any one of claims 66-71, wherein X is S.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

74. The method of any one of claims 66-71, wherein Y is F.

75. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HIV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

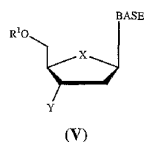
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

76. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-HBV agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

WO 03/000200

PCT/US02/20245

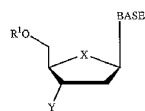
R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

77. A pharmaceutical composition for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host, comprising an effective treatment amount of a β -D or β -L-3'-halonucleoside of the formula (V):



(V)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, in combination and/or alternation with one or more other effective anti-proliferative agent, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein:

R¹ is hydrogen, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

X is O, S, SO₂ or CH₂;

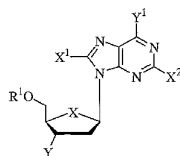
Y is fluoro, chloro, bromo or iodo; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

78. The pharmaceutical composition of any one of claims 75-77, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VI):



(VI)

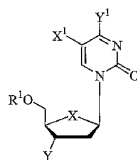
or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

X^1 and X^2 are independently selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

79. The pharmaceutical composition of any one of claims 75-77, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VII):



(VII)

or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

Y^1 is OH, OR^2 , NH_2 , NHR^2 , NR^2R^3 , SH, SR^2 or halogen (F, Cl, Br or I);

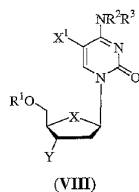
WO 03/000200

PCT/US02/20245

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

80. The pharmaceutical composition of any one of claims 75-77, wherein the β -D or β -L-3'-halonucleoside is of the formula (VIII):



or its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable carrier, wherein

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen (F, Cl, Br or I), OH, OR^4 , NH_2 , NHR^2 , NR^4R^5 , SH or SR^4 ; and

R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl (especially cyclopropyl), dialkylaminoalkylene, dimethylaminomethylene, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

81. The pharmaceutical composition of any one of claims 75-80, wherein X is O.

82. The pharmaceutical composition of any one of claims 75-80, wherein X is S.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

83. The pharmaceutical composition of any one of claims 75-80, wherein Y is F.
84. The pharmaceutical composition of 75, wherein one or more of the other effective anti-HIV agent is selected from the group consisting of 2-hydroxymethyl-5-(5-fluorocytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (FTC); carbovir, acyclovir, interferon, famciclovir, penciclovir, AZT, DDI, DDC, D4T, abacavir, L-(-)-FMAU, L-DDA phosphate prodrugs, and β -D-dioxolanyl-guanine (DXG), β -D-dioxolanyl-2,6-diaminopurine (DAPD), and β -D-dioxolanyl-6-chloropurine (ACP), nevirapine, MKC-442, DMP-266 (sustiva), indinavir, saquinavir, and DMP-450.
85. The pharmaceutical composition of 76, wherein one or more of the other effective anti-HBV agent is selected from the group consisting of 2-hydroxymethyl-5-(5-fluorocytosin-1-yl)-1,3-oxathiolane (FTC); carbovir, acyclovir, interferon, famciclovir, penciclovir, AZT, DDI, DDC, D4T, abacavir, L-(-)-FMAU, L-DDA phosphate prodrugs, and β -D-dioxolanyl-guanine (DXG), β -D-dioxolanyl-2,6-diaminopurine (DAPD), and β -D-dioxolanyl-6-chloropurine (ACP), nevirapine, MKC-442, DMP-266 (sustiva), indinavir, saquinavir, and DMP-450.
86. Use of the any one of the pharmaceutical compositions in claims 48-85 in medical therapy.
87. Use of the any one of the pharmaceutical compositions in claims 48-85 for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host.
88. Use of the any one of the pharmaceutical compositions in claims 48-85 for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host.
89. Use of the any one of the pharmaceutical compositions in claims 48-85 for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host.
90. Use of the any one of the pharmaceutical compositions in claims 48-85 in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of an HIV infection in a host.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

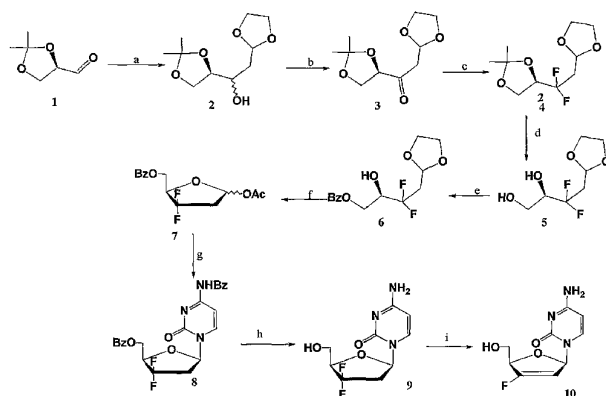
91. Use of the any one of the pharmaceutical compositions in claims 48-85 in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of an HBV infection in a host.

92. Use of the any one of the pharmaceutical compositions in claims 48-85 in the manufacture of a medicament for the treatment and/or prophylaxis of an abnormal cellular proliferation in a host.

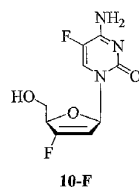
WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 1



Reagents: (a) (1,3-dioxolan-2-ylmethyl)-magnesium bromide, THF, reflux; (b) DMSO, $(\text{ClCO})_2$, TEA, CH_2Cl_2 ; (c) DAST, CH_2Cl_2 , room temperature; (d) 5% HCl/dioxane 1:1, room temperature, overnight; (e) BzCl , Pyridine; (f) (1) 1.0M HCl/ether, MeOH, (2) conc. H_2SO_4 , AcOH, Ac_2O , 15 minutes, room temperature; (g) silylated base, TMSOTf , CH_3CN , 50°C , 3 h; (h) NH_3/MeOH ; (i) NaOMe/DMF



WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 2A

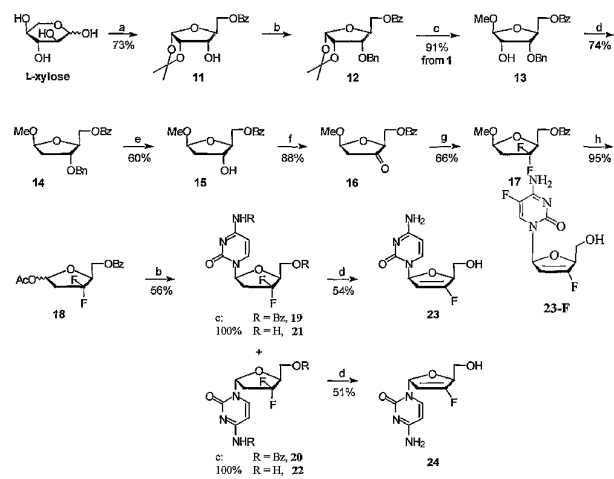
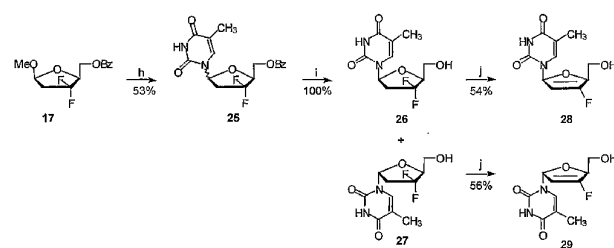


FIGURE 2B



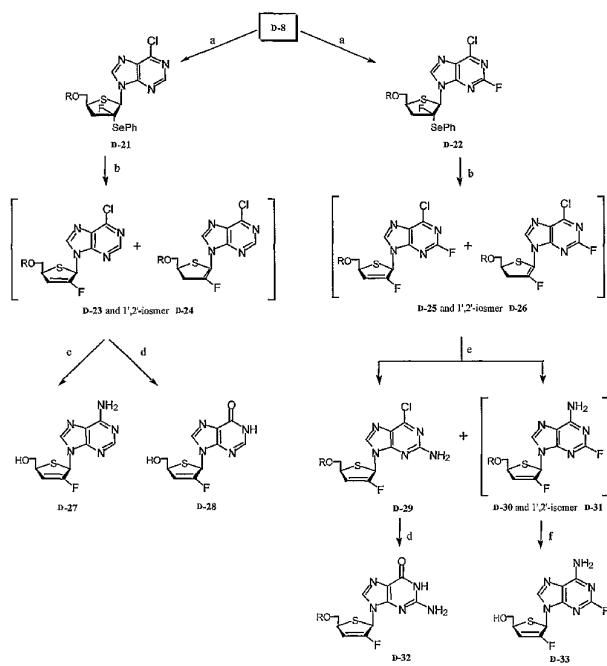
[illegible]

*Keys: (a) H_2 , Pd(O)/C, EtOAc, (b) i) NaOH, EtOH, ii) dimethyl sulfate, DMSO, iii) Ph_3P , imidazole, toluene, (c) KSAc, DMF, (d) i) DIBAL-H, toluene, -78°C, ii) DMSO, Ag_2O , (e) LiHMDS, TMSCl, PhSeBr, -78°C, (f) i) DIBAL-H, toluene, -78°C, ii) Ag_2O , TEA, CH_2Cl_2 .

WO 03/000200

PCT/US02/20245

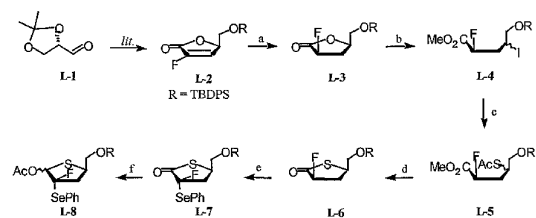
FIGURE 3B



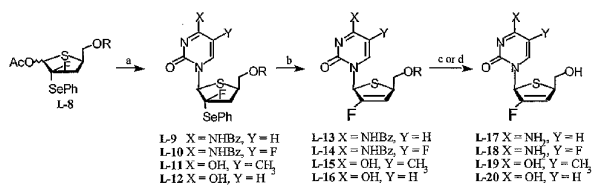
WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 4A

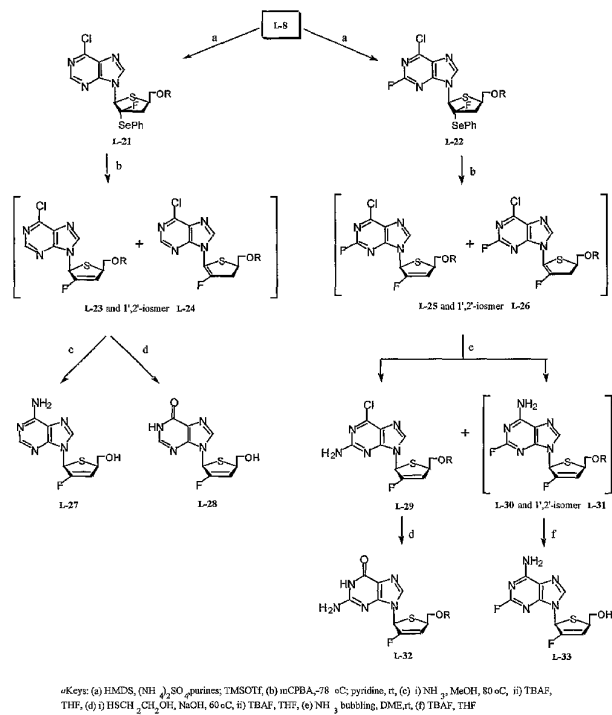


^aKeys: (a) H₂, Pd(0)/C, EtOAc, (b) i) NaOH, EtOH, ii) dimethyl sulfate, DMSO, iii) Ph₃P, imidazole, toluene, (c) KSAc, DMF, (d) i) DIBAL-H, toluene, -78°C, ii) DMSO, Ac₂O, (e) LHMDS, TMSCl, PhSeBr, -78°C, (f) i) DIBAL-H, toluene, -78°C, ii) Ac₂O, TEA, CH₂Cl₂



^aKeys: (a) HMDS, CH₃CN, pyrimidines; TMSOTf, (b) mCPBA, -oC; pyridine, rt, (c) i) TBAF, THF, ii) NH₂ MeOH, rt, (d) TBAF, THF

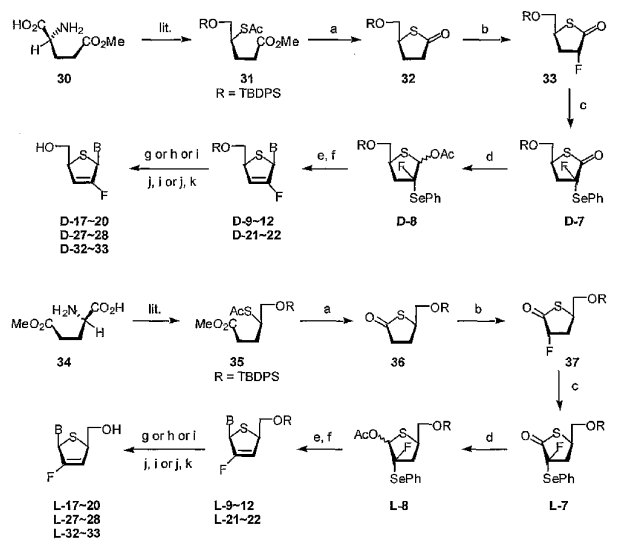
FIGURE 4B



WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 5

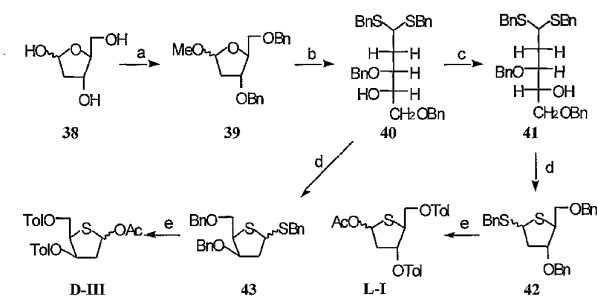


Keys: (a) i) DIBAL-H, toluene, -78 °C; ii) DMSO, Ac₂O; (b) NFSI, LiHMDS, THF; (c) LiHMDS, TMSCl, PhSeBr, -78 °C; (d) i) DIBAL-H, toluene, -78 °C; ii) Ac₂O, TEA, CH₂Cl₂; (e) HMDS, pyrimidines or purines, TMSOTf; (f) mCPBA, -78 °C; pyr, rt; (g) i) TBAF, THF; ii) NH₃, MeOH, rt; (h) i) NH₃, MeOH, 80 °C; ii) TBAF, THF; (i) i) HSCH₂CH₂OH, NaOH, 60 °C; ii) TBAF, THF; (j) NH₃, DME; (k) TBAF, THF.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 6

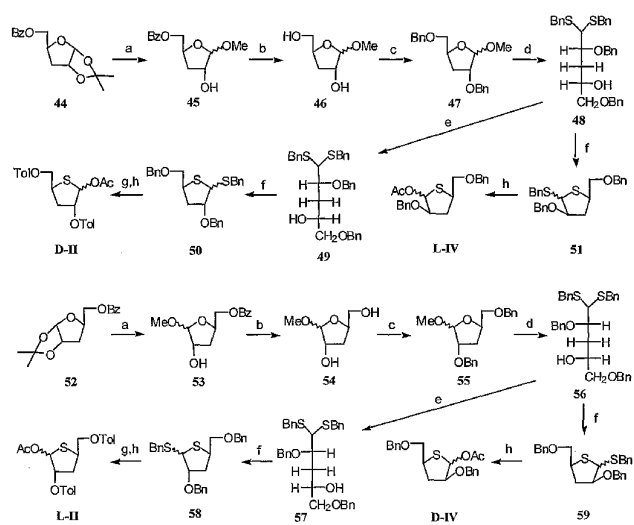


Keys: (a) i) HCl, MeOH; ii) BnBr, THF, NaH; (b) BnSH, HCl; (c) i) Ph₃P, PhCOOH, DEAD, THF; ii) NaOMe, MeOH; (d) Ph₃P, I₂, imidazole, THF; (e) i) BBr₃, CH₂Cl₂; ii) TolCl, Pyr.; iii) Hg(OAc)₂, HOAc.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 7

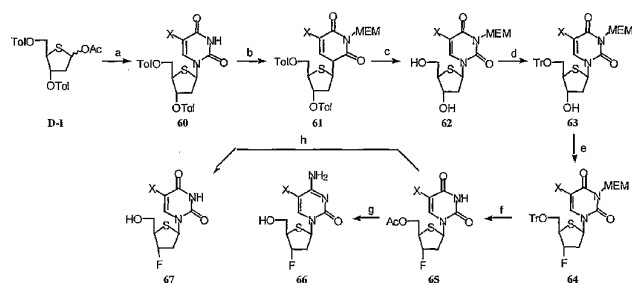


Keys: (a) HCl, MeOH; (b) NaOMe, MeOH; (c) BnBr, THF, NaH; (d) BnSH, HCl; (e) i) Ph_3P , PhCOOH , DEAD, THF; ii) NaOMe, MeOH; (f) Ph_3P , I_2 , imidazole, THF; (g) i) BBr_3 , CH_2Cl_2 ; ii) TolCl, Pyr.; (h) $\text{Hg}(\text{OAc})_2$, HOAc.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 8



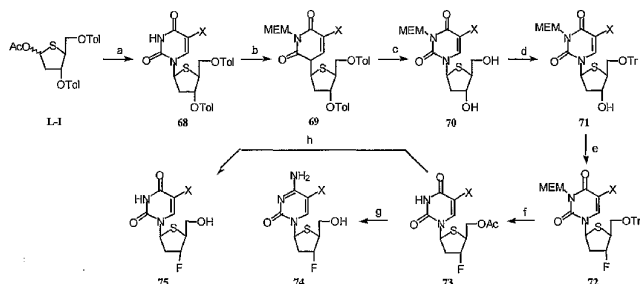
Keys: X = F, Me or H;

(a) HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pyrimidines, CH_3CN , TMSOTf; (b) MEMCl, THF, Et_3N ; (c) NaOMe, MeOH; (d) TrCl , Pyr.; (e) DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g) i) TIPSCl, DMAP, Et_3N ; ii) NH_4OH ; (h) NH_3/MeOH .

WO 03/000200

PCT/US02/20245

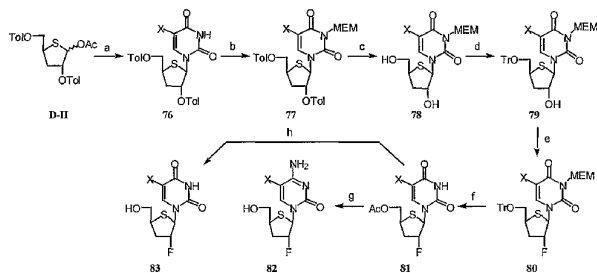
FIGURE 9



Keys: X = F, Me or H;

(a) HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pyrimidines, CH_3CN , TMSOTf; (b) MEMCl, THF, Et_3N ; (c) NaOMe, MeOH; (d) TlCl, Pyr.; (e) DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g) i) TIPSCl, DMAP, Et_3N ; ii) NH_4OH ; (h) NH_3/MeOH .

FIGURE 10



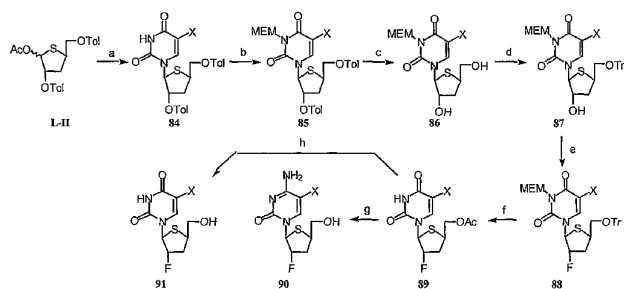
Keys: X = F, Me or H;

(a) HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pyrimidines, CH_3CN , TMSOTf; (b) MEMCl, THF, Et_3N ; (c) NaOMe, MeOH; (d) TlCl, Pyr.; (e) DAST, KF, CH_2Cl_2 ; (f) $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, LiBr, Ac_2O ; (g) i) TIPSCl, DMAP, Et_3N ; ii) NH_4OH ; (h) NH_3/MeOH .

WO 03/000200

PCT/US02/20245

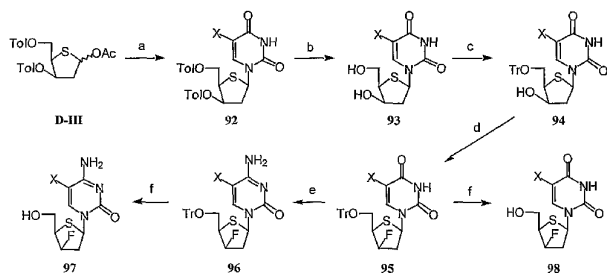
FIGURE 11



Keys: X = F, Me or H;

(a) HMDS, (NH₄)SO₄, pyrimidines, CH₃CN, TMSOTf; (b) MEMCl, THF, Et₃N; (c) NaOMe, MeOH; (d) TrCl, Pyr.; (e) DAST, KF, CH₂Cl₂; (f) BF₃·Et₂O, LiBr, Ac₂O; (g) i) TIPSCl, DMAP, Et₃N; ii) NH₄OH; (h) NH₃/MeOH.

FIGURE 12



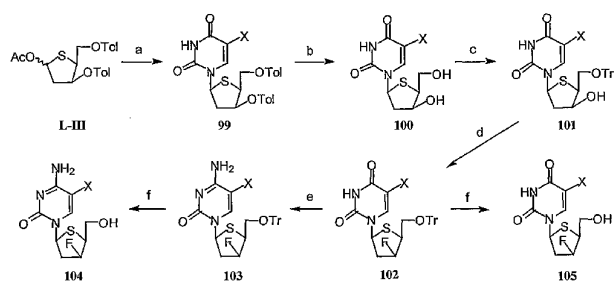
Keys: X = F, Me or H;

(a) HMDS, (NH₄)SO₄, pyrimidines, CH₃CN, TMSOTf; (b) NaOMe, MeOH; (c) TrCl, Pyr.; (d) DAST, CH₂Cl₂; (e) i) TIPSCl, DMAP, Et₃N; ii) NH₄OH; (f) 80% HOAc.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

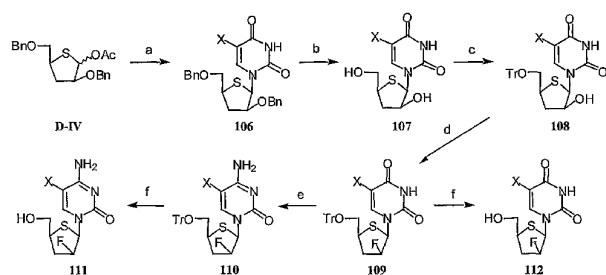
FIGURE 13



Keys: X = F, Me or H;

(a) HMDS, (NH₄)SO₄, pyrimidines, CH₃CN, TMSOTf; (b) NaOMe, MeOH; (c) TrCl, Pyr.; (d) DAST, CH₂Cl₂; (e) i) TIPSCl, DMAP, Et₃N; ii) NH₄OH; (f) 80% HOAc.

FIGURE 14



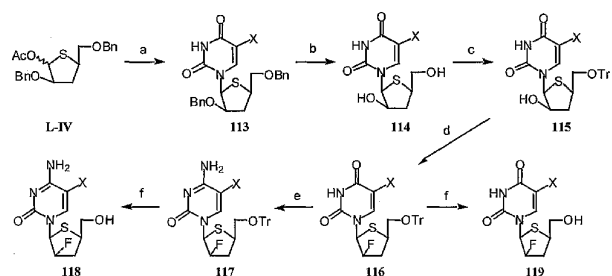
Keys: X = F, Me or H;

(a) HMDS, (NH₄)SO₄, pyrimidines, CH₃CN, TMSOTf; (b) BBr₃, CH₂Cl₂; (c) TrCl, Pyr.; (d) DAST, CH₂Cl₂; (e) i) TIPSCl, DMAP, Et₃N, CH₃CN; ii) NH₄OH; (f) 80% HOAc.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 15

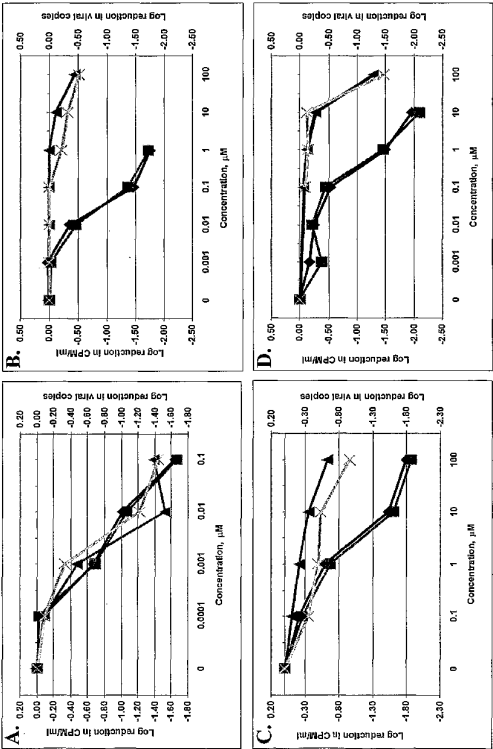


Keys: X = F, Me or H;
 (a) HMDS, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pyrimidines, CH_3CN , TMSOTf; (b) BBr_3 , CH_2Cl_2 ; (c) TrCl , Pyr.; (d) DAST, CH_2Cl_2 ; (e) i) TIPSCl, DMAP, Et_3N , CH_3CN ; ii) NH_4OH ; (f) 80% HOAc.

WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 16



WO 03/000200

PCT/US02/20245

FIGURE 17

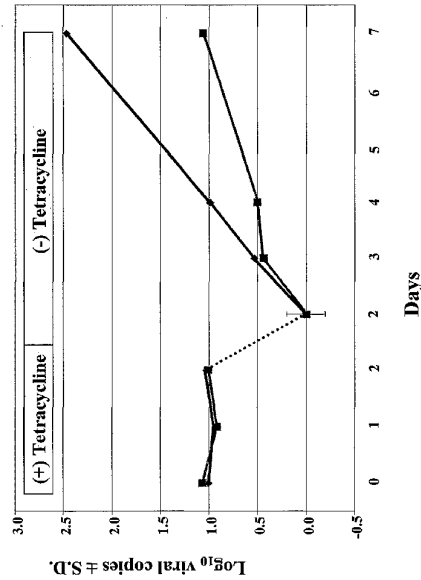
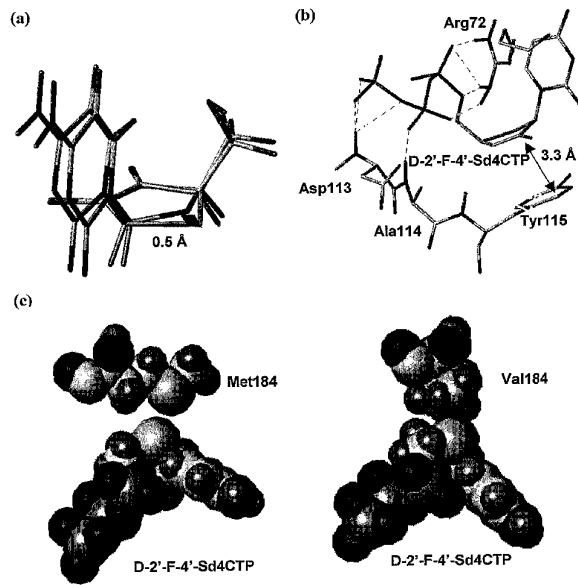


FIGURE 18



- (a) Superimposed, geometry-optimized structures of D-2'-F-4'-Sd4C (D-17) and D-2'-Fd4C.
 (b) Binding mode of D-2'-F-4'-Sd4C (D-17) to the active site of HIV-1 RT.
 (c) Energy minimized structure of D-2'-F-4'-Sd4C (D-17), complexed with the wild-type HIV-1 RT (left) and M184V mutant RT (right).

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
3 January 2003 (03.01.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2003/000200 A3

(51) International Patent Classification: **C07H 19/06**,
A61K 31/70

Youhoon [KR/US], 101 Davis St. B8, Athens, GA 30606
(US). STUYVER, Lieven, J. [BE/US], 3330 Forrest Bend
Lane, Snellville, GA 30039 (US).

(21) International Application Number: PCT/US2002/020245

(74) Agents: KNOWLES, Sherry, M. et al.; King & Spalding,
191 Peachtree St., Atlanta, GA 30303-1763 (US).

(22) International Filing Date: 24 June 2002 (24.06.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/300,356 22 June 2001 (22.06.2001) US
60/305,386 13 July 2001 (13.07.2001) US

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,
SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) Applicants (for all designated States except US): PHAR-
MASSET LTD. [BB/BB], c/o Corporate Services Lim-
ited, The Financial Services Center, Bishop's Ct. Hill, P.O.
Box 111, St Michael (BB). UNIVERSITY OF GEOR-
GIA RESEARCH FOUNDATION, INC. [US/US], Boyd
Graduate Research Foundation, Inc., Athens, GA 30602-
7411 (US). EMORY UNIVERSITY [US/US], 1380 S.
Oxford Road, Atlanta, GA 30322 (US).

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR,
GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CHU, Chung, K.
[US/US], 115 Cedar Springs Place, Athens, GA 30605
(US). OTTO, Michael, J. [US/US], 1194 Staples Drive,
Lilburn, GA 30047 (US). SHI, Junxing [CN/US], 3345
McClure Woods Drive, Duluth, GA 30096 (US). SCHI-
NAZI, Raymond, F. [US/US], 1524 Regency Walk Drive,
Decatur, GA 30033 (US). CHOI, Yongseok [KR/US], 825
Quince Orchard Blvd., Apt. 11, Gaithersburg, MD 20878
(US). GUMINA, Giuseppe [IT/US], 333 Robert C. Wilson
Pharmacy Building, Athens, GA 30306 (US). CHONG,

(88) Date of publication of the international search report:
2 September 2004

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 2003/000200 A3

(54) Title: β -2'-OR 3'-HALONUCLEOSIDES

(57) Abstract: The present invention includes compounds and compositions of β -halonucleosides, as well as methods to treat HIV, HBV or abnormal cellular proliferation comprising administering said compounds or compositions.

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/20245										
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : C07H 19/06; A61K 31/70 US CL : 536/23,24,26,27,29; 514/49 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC												
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 536/23,24,26,27,29; 514/49 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Merck Manual Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet												
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT												
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.										
X	US 4,963,662 A (MATTHES et al) 16 October 1990 (16.10.1990), columns 1-8.	10,13-15,28-33,44,57-62,75,77-80,84-85,89-92										
X --- Y	US 5,215,970 A (DATEMA et al) 01 June 1993 (01.06.1993) columns 4-22.	10-12,14-15,28-30,32-33,57-59,61,62,75-77,79,80 ----- 44,84,85										
X	US 4,681,933 A (CHU et al) 21 July 1987 (21.07.1987) columns 3-13.	10,12,15,19,28,,30,32-33,44,57,59,61,62,75,77,79,80										
X	US 5,663,154 A (BURNS et al) 02 September 1997 (02.09.1997) columns 1-46.	10-13, 28-31, 44,57-60,75-78,83										
X	US 5,446,029 A (ERIKSSON et al) 29 August 1995 (29.08.1995) columns 2-6.	10-15,28-33,57-62,75-80,84,85										
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.												
* Special categories of cited documents: <table border="0"> <tr> <td>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td> <td>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td> </tr> <tr> <td>"B" earlier application or patent published on or after the international filing date</td> <td>"Y" document of particular relevance; the claimed invention enters into consideration to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td> </tr> <tr> <td>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td> <td>"&" document member of the same patent family</td> </tr> <tr> <td>"O" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td> <td></td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention enters into consideration to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family	"O" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone											
"B" earlier application or patent published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention enters into consideration to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art											
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family											
"O" documents referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means												
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed												
Date of the actual completion of the international search 17 March 2003 (17.03.2003)		Date of mailing of the international search report 09 JUL 2004										
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer Howard V Owens Telephone No. 703-308-1235										

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		PCT/US02/20245
C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	US 5,637,574 A (BURNS et al) 10 June 1997 (10.06.1997) columns 1-20.	11,29,31,58,59,76,78, --- 84,85
X --- Y	US 5,703,056 A (SCHINAZI et al) 30 December 1997 (30.12.1997) columns 3-22.	1-3, 5-9, 19-24, 48- 50, 52-53, 66-68, 71 --- 39-44
X	US 5,574,149 A (VAN TUTTLE et al) 12 November 1996 (12.11.1996) columns 1-16.	10, 12-15, 28, 30- 33, 57, 59-62, 75, 77-80 --- 37, 38, 84, 85

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/20245

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
Medline
HCAPLUS

INTERNATIONAL SEARCH REPORT	
	International application No. PCT/US02/20245
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)	
This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:	
1.	☐ Claim Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.	☐ Claim Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.	☒ Claim Nos.: 16-18,25-27, 34-36,54-56,63-65,72-74,81-83 and 85-92. because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
1.	☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.	☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.	☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark on Protest	
	☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
	☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 H 19/06	C 0 7 H 19/06	
C 0 7 H 19/16	C 0 7 H 19/16	
- (81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW
- (71)出願人 501178433
エモリー・ユニバーシティ
アメリカ合衆国、ジョージア・30322、アトランタ、サウス・オックスフォード・ロード・1
380
- (74)代理人 100062007
弁理士 川口 義雄
- (74)代理人 100113332
弁理士 一入 章夫
- (74)代理人 100114188
弁理士 小野 誠
- (74)代理人 100103920
弁理士 大崎 勝真
- (74)代理人 100124855
弁理士 坪倉 道明
- (72)発明者 チュー, チュン・ケイ
アメリカ合衆国、ジョージア・30605、アセンズ、シダー・スプリングス・プレイス・115
- (72)発明者 オットー, マイケル・ジェイ
アメリカ合衆国、ジョージア・30047、リルバーン、ステイブルズ・ドライブ・1194
- (72)発明者 シー, ジュンシン
アメリカ合衆国、ジョージア・30096、ドウルース、マツクルー・ウツズ・ドライブ・334
5
- (72)発明者 シナジ, レイモンド・エフ
アメリカ合衆国、ジョージア・30033、デイケーター、リージェンシー・ウオーク・ドライブ
・1524
- (72)発明者 チョイ, ヨンソク
アメリカ合衆国、メリーランド・20878、ゲイタースバーグ、クインス・オーチャード・ブー
ルバード・825、アパートメント・11
- (72)発明者 グミナ, ジュゼツペ
アメリカ合衆国、ジョージア・30306、アセンズ、ロバート・シー・ウイルソン・ファーマシ
ー・ビルディング・333
- (72)発明者 チョン, ヨフーン
アメリカ合衆国、ジョージア・30606、アセンズ、デビス・ストリート・101、ビー・8
- (72)発明者 スタイバー, リーベン・ジェイ
アメリカ合衆国、ジョージア・30039、スネルビル、フオレスト・ベンド・レイン・3330
- Fターム(参考) 4C057 AA17 BB02 BB07 CC02 CC05 CC06 DD01 LL12 LL14 LL17
LL28 LL32 LL40

4C084 AA19 ZA751 ZB331 ZB332 ZC551 ZC552

4C086 AA01 AA02 AA04 EA16 ZA75 ZB33 ZC55