

(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2004-513070

(P2004-513070A)

(43) 公表日 平成16年4月30日(2004.4.30)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/7068	A 6 1 K 31/7068	4 C 0 5 7
A 6 1 K 31/7076	A 6 1 K 31/7076	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/708	A 6 1 K 31/708	4 C 0 8 6
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 P 31/20	A 6 1 P 31/20	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 148 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2001-587753 (P2001-587753)	(71) 出願人	502423808 イデニクス (ケイマン) リミテッド
(86) (22) 出願日	平成13年5月29日 (2001. 5. 29)		イギリス領ケイマン諸島、グランド・ケイマン、ウオーカー・ハウス、ウオーカー・セクレタリーズ
(85) 翻訳文提出日	平成14年11月25日 (2002. 11. 25)	(74) 代理人	100062007 弁理士 川口 義雄
(86) 国際出願番号	PCT/US2001/017301	(74) 代理人	100105131 弁理士 井上 満
(87) 国際公開番号	W02001/091737	(74) 代理人	100113332 弁理士 一入 章夫
(87) 国際公開日	平成13年12月6日 (2001. 12. 6)	(74) 代理人	100114188 弁理士 小野 誠
(31) 優先権主張番号	60/207, 538	(74) 代理人	100103920 弁理士 大崎 勝真
(32) 優先日	平成12年5月26日 (2000. 5. 26)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 β -L-2'-デオキシヌクレオシドを用いたデルタ型肝炎ウイルス感染の処置方法

(57) 【要約】

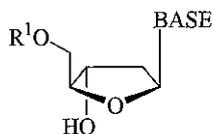
記載される 2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグの有効な D 型肝炎処置量を投与することを含む D 型肝炎感染宿主の処置を行うための方法および組成物。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記式：

【化 1】



10

(式中、

R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；かつ

BASE は、場合によって置換され得るプリン塩基またはピリミジン塩基である。))

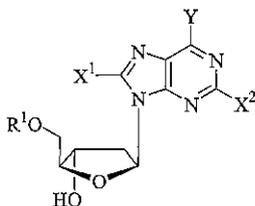
の 2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドまたはその医薬として許容される塩の処置有効量を投与することを含むD型肝炎ウイルスに感染した宿主を処置するための方法。

20

【請求項 2】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 2】



(式中、

R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

Y は OR^3 、 NR^3R^4 または SR^3 であり；かつ

X^1 および X^2 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、ハロゲン、 OR^5 、 NR^5NR^6 または SR^5 からなる群から独立して選択され；そして

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。))

30

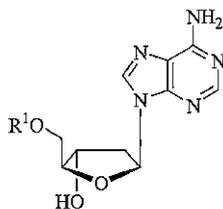
40

の L-2'-デオキシプリンまたはその医薬として許容される塩である請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 3】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシアデノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 に記載の方法。

10

【請求項 4】

R^1 が水素である請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

R^1 がアシルである請求項 3 に記載の方法。

【請求項 6】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

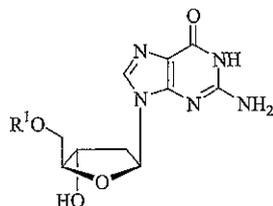
アミノ酸がバリンである請求項 6 に記載の方法。

20

【請求項 8】

2'-デオキシ - -L- エリスロ - ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 4】



30

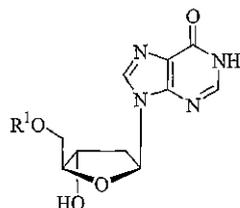
(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシグアノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 に記載の方法。

【請求項 9】

2'-デオキシ - -L- エリスロ - ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 5】



40

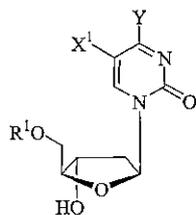
(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシイノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 に記載の方法。

【請求項 10】

2'-デオキシ - -L- エリスロ - ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 6】



(式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

Y は OR³、NR³R⁴ または SR³ であり；かつ

X¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、ハロゲン、OR⁵、NR⁵NR⁶ または SR⁵ からなる群から選択され；そして

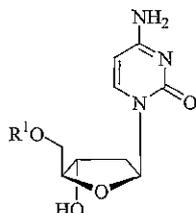
R³、R⁴、R⁵ および R⁶ は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、CO-アリールオキシアリール、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。) 20

の -L-2'-デオキシピリミジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 1】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 7】



30

(式中、R¹ は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシシチジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 1 0 に記載の方法。

【請求項 1 2】

R¹ が水素である請求項 1 1 に記載の方法。

40

【請求項 1 3】

R¹ がアシルである請求項 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 4】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 1 3 に記載の方法。

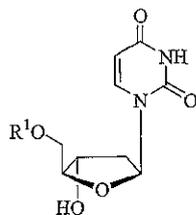
【請求項 1 5】

アミノ酸がバリンである請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 8】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

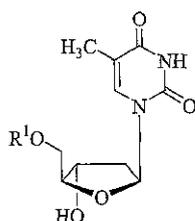
10

の - L - 2' - デオキシウリジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 10 に記載の方法。

【請求項 17】

2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 9】



20

(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である)

の - L - チミジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 10 に記載の方法。

【請求項 18】

R^1 が水素である請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

R^1 がアシルである請求項 17 に記載の方法。

【請求項 20】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 19 に記載の方法。

30

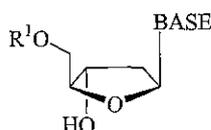
【請求項 21】

アミノ酸がバリンである請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

D 型肝炎処置有効量の少なくとも 2 つの 2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラヌクレオシドを組み合わせるまたは交互に投与することを含み、それぞれの 2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラヌクレオシドが独立して、下記の式：

【化 10】



40

(式中、

R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；かつ

B A S E は、場合によって置換され得るプリン塩基またはピリミジン塩基である。)

50

またはその医薬として許容される塩である D 型肝炎ウイルスに感染した宿主を処置するための方法。

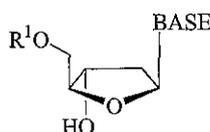
【請求項 23】

D 型肝炎処置有効量の生物学的に活性な 2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドまたはその医薬として許容される塩を抗 B 型肝炎剤と組み合わせてまたは抗 B 型肝炎剤と交互に投与することを含み、さらなる抗 B 型肝炎剤が、FTC、L-FMAU、DAPD、ファムシクロビル、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、ガンシクロビルまたはリバビリンからなる群から選択される D 型肝炎ウイルスに感染した宿主を処置するための方法。

【請求項 24】

下記式の 2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド：

【化 11】



10

(式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、CO-アリアルオキシアリル、CO-置換アリアル、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；かつ

20

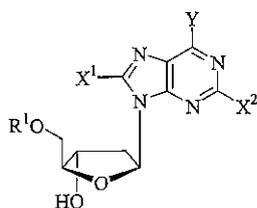
BASE は、必要によっては置換され得るプリン塩基またはピリミジン塩基である。)

またはその医薬として許容される塩の、D 型肝炎ウイルスに感染した宿主を処置または予防するための使用。

【請求項 25】

2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 12】



30

(式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、CO-アリアルオキシアリル、CO-置換アリアル、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

40

Y は OR³、NR³R⁴ または SR³ であり；かつ

X¹ および X² は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、ハロゲン、OR⁵、NR⁵NR⁶ または SR⁵ からなる群から独立して選択され；そして

R³、R⁴、R⁵ および R⁶ は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、CO-アリアルオキシアリル、CO-置換アリアル、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリ

50

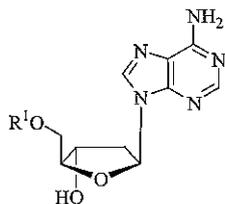
ン酸誘導体である。)

の - L - 2' - デオキシプリンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 4 に記載の使用。

【請求項 2 6】

2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 1 3】



10

(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の - L - 2' - デオキシアデノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 5 に記載の使用。

【請求項 2 7】

R^1 が水素である請求項 2 6 に記載の使用。

【請求項 2 8】

20

R^1 がアシルである請求項 2 6 に記載の使用。

【請求項 2 9】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 2 8 に記載の使用。

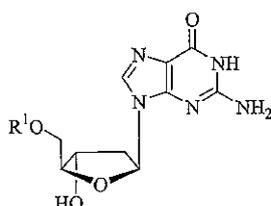
【請求項 3 0】

アミノ酸がバリンである請求項 2 9 に記載の使用。

【請求項 3 1】

2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 1 4】



30

(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

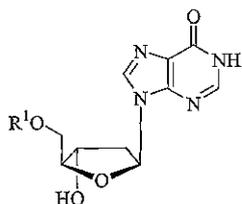
の - L - 2' - デオキシグアノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 5 に記載の使用。

【請求項 3 2】

40

2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 1 5】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

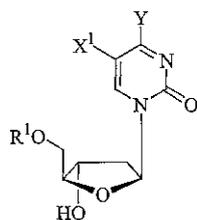
50

の - L - 2' - デオキシイノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 5 に記載の使用。

【請求項 3 3】

2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 1 6】



10

(式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

Y は OR³、NR³R⁴ または SR³ であり、かつ

X¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO - アルキル、CO - アリール、CO - アルコキシアリール、ハロゲン、OR⁵、NR⁵NR⁶ または SR⁵ からなる群から選択され；そして

20

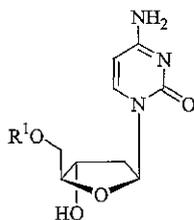
R³、R⁴、R⁵ および R⁶ は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO - アルキル、CO - アリール、CO - アルコキシアリール、CO - アリールオキシアリール、CO - 置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。)

の - L - 2' - デオキシピリミジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 2 4 に記載の使用。

【請求項 3 4】

2' - デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 1 7】



30

(式中、R¹ は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

40

の - L - 2' - デオキシシチジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 3 3 に記載の使用。

【請求項 3 5】

R¹ が水素である請求項 3 4 に記載の使用。

【請求項 3 6】

R¹ がアシルである請求項 3 4 に記載の使用。

【請求項 3 7】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 3 6 に記載の使用。

【請求項 3 8】

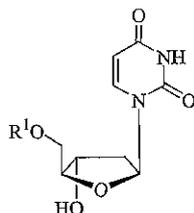
50

アミノ酸がバリンである請求項 37 に記載の使用。

【請求項 39】

2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 18】



10

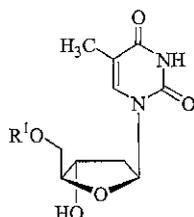
(式中、R¹ は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

のβ-L-2'-デオキシウリジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 33 に記載の使用。

【請求項 40】

2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 19】



20

(式中、R¹ は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

のβ-L-チミジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 33 に記載の使用。

【請求項 41】

R¹ が水素である請求項 40 に記載の使用。

【請求項 42】

R¹ がアシルである請求項 40 に記載の使用。

30

【請求項 43】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 42 に記載の使用。

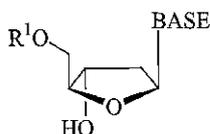
【請求項 44】

アミノ酸がバリンである請求項 43 に記載の使用。

【請求項 45】

下記式：

【化 20】



40

(式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコシアルキル、CO-アリアルオシアルキル、CO-置換アリアル、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、アラルキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；かつ

BASE は、必要によっては置換され得るプリン塩基またはピリミジン塩基である。)

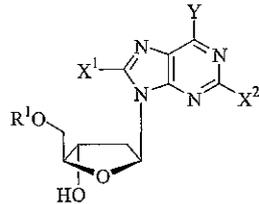
50

の 2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドまたはその医薬として許容される塩の、D型肝炎ウイルスに感染した宿主を処置または予防するための医薬品を製造することにおける使用。

【請求項 46】

2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 21】



10

(式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、CO-アリアルオキシアリル、CO-置換アリアル、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

Y は OR³、NR³R⁴ または SR³ であり；かつ

X¹ および X² は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、ハロゲン、OR⁵、NR⁵NR⁶ または SR⁵ からなる群から独立して選択され；そして

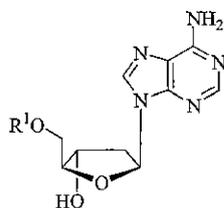
R³、R⁴、R⁵ および R⁶ は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、CO-アリアルオキシアリル、CO-置換アリアル、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。)

の β-L-2'-デオキシプリンまたはその医薬として許容される塩である請求項 45 に記載の使用。

【請求項 47】

2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 22】



30

(式中、R¹ は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である)

の β-L-2'-デオキシアデノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 46 に記載の使用。

【請求項 48】

R¹ が水素である請求項 47 に記載の使用。

【請求項 49】

R¹ がアシルである請求項 47 に記載の使用。

【請求項 50】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 49 に記載の使用。

【請求項 51】

40

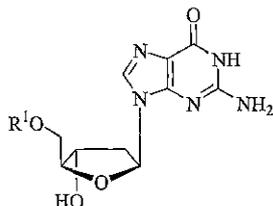
50

アミノ酸がバリンである請求項 50 に記載の使用。

【請求項 52】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 23】



10

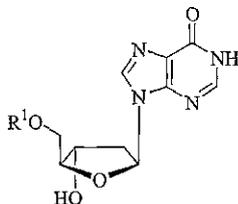
(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の-L-2'-デオキシグアノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 46 に記載の使用。

【請求項 53】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 24】



20

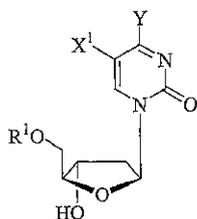
(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の-L-2'-デオキシイノシンまたはその医薬として許容される塩である請求項 46 に記載の使用。

【請求項 54】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドが、下記式：

【化 25】



30

(式中、

R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

40

Y は OR^3 、 NR^3R^4 または SR^3 であり；かつ

X^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、ハロゲン、 OR^5 、 NR^5NR^6 または SR^5 からなる群から選択され；そして

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアル

50

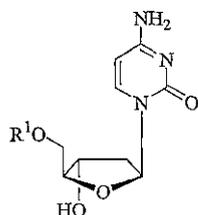
キル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコシアルキル、CO-アリールオキシアルキル、CO-置換アリール、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。))

の -L-2'-デオキシピリミジンまたはその医薬として許容される塩である請求項45に記載の使用。

【請求項55】

2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化26】



10

(式中、R¹は、H、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシシチジンまたはその医薬として許容される塩である請求項54に記載の使用。

20

【請求項56】

R¹が水素である請求項55に記載の使用。

【請求項57】

R¹がアシルである請求項55に記載の使用。

【請求項58】

アシルがアミノ酸に由来する請求項57に記載の使用。

【請求項59】

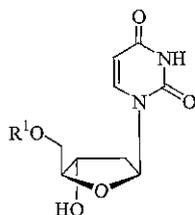
アミノ酸がバリンである請求項58に記載の使用。

【請求項60】

2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

30

【化27】



(式中、R¹は、H、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシウリジンまたはその医薬として許容される塩である請求項54

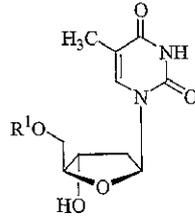
40

に記載の使用。

【請求項61】

2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラヌクレオシドが、下記式：

【化 2 8】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または安定化リン酸誘導体である)

の - L - チミジンまたはその医薬として許容される塩である請求項 5 4 に記載の使用。

【請求項 6 2】

R^1 が水素である請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 6 3】

R^1 がアシルである請求項 6 1 に記載の使用。

【請求項 6 4】

アシルがアミノ酸に由来する請求項 6 3 に記載の使用。

【請求項 6 5】

アミノ酸がバリンである請求項 6 4 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本出願は、米国仮特許第 60 / 207 , 538 号 (2000 年 5 月 26 日出願) の優先権を主張する。

【0002】

発明の分野

本発明は、効果的な量の規定された - L - 2' - デオキシヌクレオシドまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグを投与することを含む、デルタ型肝炎ウイルス (これはまた「HDV」と呼ばれる) に感染した宿主の処置を行うための方法および組成物の領域である。

【0003】

発明の背景

D 型肝炎は、ウイルス性肝炎の最も重篤な形態であり、B 型肝炎ウイルス (HBV) のサブウイルスサテライトである D (デルタ) 型肝炎ウイルス (HDV) による感染によって引き起こされる (Smedile, A. 他、Prog Liver Dis、1994、12、157~75)。ウイルス性肝炎の他の病原体と比較して、急性 HDV 感染は、劇症肝炎、急速な進行、多くの場合には肝臓の大部分が破壊される致死的な疾患形態を伴うことが非常に多い。慢性型の D 型肝炎は、慢性的な HBV 感染と類似した壊死性炎症病巣を典型的には特徴としているが、それよりも重症であり、肝硬変および肝不全に急速に進行することが多く、慢性 HDV 感染が末期肝疾患を不相応に伴う原因となっている (Smedile, A. 他、Prog Liver Dis、1994、12、157~75; Rizzetto, M. 他、Ann Intern Med、1983、98、437~41)。HDV 感染には、HBV 単独よりも少ない人が罹患しているが、生じる急性肝不全または慢性肝不全は、欧州ならびに北アメリカにおける肝臓移植に対する一般的な症例である (Smedile, A. および Rizzetto, M.、Int J Clin Lab Res、1992、22、211~215; Wright, T. L. および Pereira, B.、Liver Transplant Surgery、1995、1、30~42)。慢性的な疾患には世界中で 1500 万人が罹患し、そのうち約 70,000 人が合衆国に存在する。疾病対策センターは、合衆国では年間 1,000 人が HDV 感染により死亡していると推定している (Alter, M. J. および Hadler, S. C.、Prog Clin Biol Res、1993、382、243~50; A

10

20

30

40

50

lter, M. J. および Mast, E. E., *Gastroenterol Clin North Am*, 1994, 23, 437~55)。

【0004】

現在、D型肝炎に対して一般的に受け入れられている効果的な治療法はなく、肝臓移植が、付随した終末期の肝疾患に対する唯一の選択肢である。インターフェロンが、一部のD型肝炎患者の処置においてほどよく成功しているが、より良好な処置選択肢の必要性が、非常に大きい用量を必要とすること、応答が一定していないこと、処置を中断した後の再発が多いこと、そして薬物投与の困難さによって示されている(Thomas, H. C. 他、*Prog Clin Biol Res*, 1987, 234, 277~90; Hoofnagle, J. 他、*Prog Clin Biol Res*, 1987, 234, 291~8; Rosina, F. 他、*Prog Clin Biol Res*, 1987, 234, 299~303; Rosina, F. 他、*Hepatology*, 1991, 13, 1052~6; Farci, P. 他、*N Engl J Med*, 1994, 330, 88~94; Hadziyannis, S. J., *J Hepatol*, 1991, 13 (増刊1), S21~6; Di Marco, V. 他、*J Viral Hepat*, 1996, 3, 123~8; Porres, J. C. 他、*J Hepatol*, 1989, 9, 338~44)。

10

【0005】

HDVビリオンはリボヌクレオタンパク質コアおよびエンベロープからなる。コアは、HDV-RNAと、このウイルスによってコードされる唯一のタンパク質であるデルタ型肝炎抗原(HDAg)とを含む(Wang, K. S. 他、*Nature*, 1986, 323, 508~14)。エンベロープは、ヘルパーウイルスであるB型肝炎の表面抗原タンパク質(B型肝炎表面抗原またはHBsAg)により形成される(Bonino, F., *Infect Immun*, 1984, 43, 1000~5; Bonino, F. 他、*Hepatology*, 1981, 1, 127~31; Bonino, F. 他、*J Virol*, 1986, 58, 945~50)。エンベロープは、HBVによってもたらされる唯一のヘルパー機能である。HDVは、HBVが存在しない細胞内でそのRNAを複製することができる(Kuo, M. Y. 他、*J Virol*, 1989, 63, 1945~50)が、HBsAgを、HDVビリオンのパッケージングおよび放出のために要求し(Wu, J. C. 他、*J Virol*, 1991, 65, 1099~104; Ryu, W. S. 他、*J Virol*, 1992, 66, 2310~2315)、そしてまた感染性のために要求する(Sureau, C. 他、*J Virol*, 1992, 66, 1241~5)。HDVがHBVに依存している結果、HDVは、HBVを伴う場合にのみ個体に感染する。

20

30

【0006】

ラミブジン(2',3'-ジデオキシ-3'-チアシチジン, 3TC)は、HIV感染およびHBV感染を処置することにおいて有効であることが示されている合成ヌクレオシドである。米国特許第5,539,116号(Liotta他)を参照のこと。ラミブジンは、処置期間中のHBVの複製を持続的に抑制することが知られている(Nevens, F. 他、*Gastroenterology*, 1997, 113, 1258~1263)。しかしながら、ラミブジンは、慢性的なデルタ型肝炎患者において、疾患活動の改善をもたらさず、またはHDV-RNAのレベルを低下させない(Lau, D. T. 他、*Hepatology*, 1999, 30, 546~9)。ラミブジンは、最近、慢性HBV感染の処置に対して合衆国および他の国々で承認された。慢性HBV保有者のラミブジンによる長期間の処置で、血清中のHBVレベルが低下し、肝臓組織が改善される(Lai, C. L. 他、*N Engl J Med*, 1998, 339, 61~8; Tyrell, D. 他、*Hepatology*, 1993, 18, 112A; Nevens, F. 他、*Gastroenterology*, 1997, 113, 1258~63; Diemstag, J. L. 他、*N Engl J Med*, 1995, 333, 1657~61)。HBVに対する劇的な効果にもかかわらず、HBVおよびHDVの両方に慢性的

40

50

に感染している患者のラミブジン処置は、HDVの循環レベルに対する効果をほとんど有していない。より重要なことは、HBVレベルが抑制されたとしても、疾患活動の改善が全く見られない(Honkoop, P. 他、Hepatology、1997、24(増刊)、1219(要約); Lau, D. T. 他、Hepatology、1999、30、546~9)。

【0007】

さらに様々な処置形態が試みられている。例えば、スラミンは、肝細胞へのピリオンの進入をインビトロで阻止するが、毒性が大きいため、ヒトにおける長期の使用には許容され得ない(Smedile, A. 他、Prog Liver Dis、1994、12、157~75)。アシクロビルはHDVの複製をインビトロで高める(Smedile, A. 他、Prog Liver Dis、1994、12、157~75)。リバビリンは、ウイルス学的または生化学的なパラメーターを有意に変化させず、重篤な副作用を有していた(Smedile, A. 他、Prog Liver Dis、1994、12、157~75)。チモシンの合成アナログもまたHDV感染の処置において有効ではなかった(Smedile, A. 他、Prog Liver Dis、1994、12、157~75)。

【0008】

HDV感染に対する記載された処置はどれも、有効であると一般には受け入れられていない。

【0009】

ウッドチャック肝炎ウイルス(WHV)は、HBVに対して近縁(約85%の核酸相同性)であるので、その自然界の宿主であるイースタンウッドチャック(M. monax)におけるHBV感染および疾患に対するモデルとして広く使用されている(Gerin, J. L.、Gastroenterol Jpn、1990、25増刊、38~42; Tennant, B. C. 他、Viral Hepatitis and Liver Disease、1988、462~464)。実験的に感染させたウッドチャックもまた、抗HBV治療薬の分析および開発のために広範囲に使用されている(Zahm, F. E. 他、Ital J Gastroenterol Hepatol、1998、30、510~6; Tennant, B. C. 他、Hepatology、1998、28、179~91; Mason, W. S. 他、Virology、1998、245、18~32; Korba, B. E. 他、Hepatology、1996、23、958~63; Hurwitz, S. 他、Antimicrob Agents Chemother、1998、42、2804~2809; Block, T. M. 他、Nat Med、1998、4、610~4; Cullen, J. M. 他、Antimicrob Agents Chemother、1997、41、2076~82; Fourel, G. 他、Nature、1990、347、294~8; Gangemi, J. 他、Antivir Therap、1997、1、64~70; Genovesi, E. V. 他、Antimicrob Agents Chemother、1998、42、3209~17; Korba, B. E. 他、Antiviral Res、2000、45、19~32; Cote, P. J. 他、Hepatology、2000、31、190~200; Korba, B. E. 他、Antiviral Therapy、2000、5(2)、95~104; Korba, B. E. 他、Antimicrobial Agents and Chemotherapy、2000、44(6)、1757~60; Korba, B. E. 他、Antimicrobial Agents and Chemotherapy、2000、44(7)、1964~1969)。ウッドチャックにおける慢性WHV感染を実験的に処置するために使用されたいくつかの抗HBV剤(arabAMP、リバビリン、AZT、ACV、3TC、ファミシクロビル、FTC)の効力は、臨床試験途中で処置されているHBV患者に投与されたこれらの薬剤の効力と正確に一致していた。抗HBV剤で処置されたWHV感染ウッドチャックおよびHBV感染者において認められるこの類似した効力は、ウッドチャック動物モデルがヒトにおける抗HBV治療法の予測の

10

20

30

40

50

ために使用できることを明らかにしている (Zahm, F. E. 他、*Ital J Gastroenterol Hepatol*, 1998, 30, 510~6; Tennant, B. C. 他、*Hepatology*, 1998, 28, 179~91; Mason, W. S. 他、*Virology*, 1998, 245, 18~32; Hurwitz, S. J. 他、*Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42 (11), 2804~2809; Fouriel, G. 他、*Nature*, 1990, 347, 294~8; Gangemi, J. 他、*Antivir Therap*, 1997, 1, 64~70; Genovesi, E. V. 他、*Antimicrob Agents Chemother*, 1998, 42, 3209~17; Korba, B. E. 他、*Antiviral Res*, 2000, 45 (1), 19~32; Korba, B. E. 他、*Hepatology*, 2000, 32 (4 Pt 1), 807~817; Korba, B. E. 他、*Hepatology*, 2000, 31 (5), 1165~1175; Korba, B. E. 他、*Antiviral Therapy*, 2000, 5 (2), 95~104)。WHVは、HDVの粒子形成および感染をHBVと同様に支えることができ、したがってイースタンウッドチャックは、HDV感染に対する有用なモデルである (Negro, F. 他、*J Virol*, 1989, 63, 1612~8; Parana, R., Gerard, F., Lesbordes, J. L., Pichoud, C., Vitvitski, L., Lyra, L. G. & Treppe, C., *J Hepatol*, 1995, 22, 468~73; Ciccaglione, A. R. 他、*Arch Virol*, 1993, 増刊8, 15~21; Bergmann, K. F. 他、*J Immunol*, 1989, 143, 3714~21; Ponzetto, A. 他、*Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81, 2208~12; Ponzetto, A. 他、*Prog Clin Biol Res*, 1987, 234, 37~46)。

【0010】

HDVがそのヘルパーウイルスのHBVに依存していることにより、HDV感染の好成績な処置は、支援するHBV感染の好成績な処置から生じることが示唆され得るが、薬物のラミブジン (Glaxo-Wellcome, Inc.) を用いて得られた最近の結果によって例示されるように、このことは当てはまらないようである (Honkoop, P. 他、*Hepatology*, 1997, 24 (増刊), 1219 (要約); Lau, D. T. 他、*Hepatology*, 1999, 30, 546~9)。HBV-HDV感染患者における疾患に対するラミブジンの効果がないことにより、そのような患者の疾患重篤度におけるHDVの直接的な役割が強調される。ラミブジンはHBVおよびWHVの複製を阻害するが、ウイルス表面抗原の産生には影響を及ぼさない (Lau, D. T. 他、*Hepatology*, 1999, 30, 546~9; Doong, S. L. 他、*Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88, 8495~9; Korba, B. E. 他、*Hepatology*, 2000, 32 (4 Pt 1), 807~817; Korba, B. E. 他、*Hepatology*, 31 (5), 1165~1175)。HBVおよびこのウイルスファミリーの他の代表物 (例えば、WHV) の生活環は、ウイルスのゲノムコピーを複製するプロセスとウイルスタンパク質 (例えば、HBVまたはWHVの表面抗原) の産生とが異なって調節されているとい点で特異である (Ganem, D., *Hepadnaviridae*, 「*Fields Virology*」, Fields BN, Knipe DM, Howley P. 編, Lippincott-Raven, 1996, Philadelphia, 2703~2737)。したがって、ウイルスのポリメラーゼを標的とする合成ヌクレオシド (例えば、ラミブジン) などの抗ウイルス剤は、(例えば、ウイルス血症の低下によって測定されるような) HBVの複製を著しく阻害することができるが、(例えば、血漿中または血清中のHBV表面抗原のレベルによって測定されるような) ウイルスmRNAまたはウイルスタンパク質の産生のレベルに影響を及ぼすことができない。表面抗原タンパク質によるウイルスエンベロープの形成は、HDVに対する重要な、HBVおよびWHVの唯一の機能であるので、HBsAg産生

が阻害されないことが、ラミブジンがH D V複製および疾患に影響を及ぼさないことにおいて一定の役割を果たしていると考えられる。

【0011】

米国特許第5,747,044号は、ワクチンとして有用な組換え産生された免疫原性のH D Vポリペプチドを開示する。

【0012】

米国特許第5,932,219号(Chiron)は、D型肝炎ウイルスの全ゲノム、すなわち、H D Vゲノム全体のc D N A複製体の集団を開示し、そしてこれらのc D N A配列の様々な部分が、臨床サンプルにおけるウイルスの存在を診断するためのプローブとして有用であることを教示している。この特許には、ワクチン製造において有用な、c D N Aによってコードされるタンパク質もまた開示される。具体的には、'219号特許は、p24およびp27のウイルスポリペプチドを含むD型肝炎ワクチンを開示している。米国特許第5,750,350号(Chiron)では、H D VゲノムのO R F 5によってコードされるペプチドを含む、D型肝炎ウイルスの分析において有用なキットが特許請求されている。米国特許第5,747,044号では、H D Vヌクレオチド配列のO R F 5またはその相補体にコードされている免疫原性ポリペプチドを含む、H D Vに対する抗体を惹起させる組換え産生された免疫原性粒子が特許請求されている。

10

【0013】

米国特許第6,020,167号(Medeva Holdings B.V.に譲渡)は、H B s A gを含有する組成物を投与することを含む慢性肝炎(特にB型肝炎)の処置方法を開示する。

20

【0014】

米国特許第5,770,584号は、アルキル脂質またはアルキル脂質誘導体を投与することによる肝炎ウイルス感染の処置方法を開示する。

【0015】

米国特許第4,619,896号は、動物の血液中のデルタ抗原を暴露させる方法を開示する。この方法は、血清を界面活性剤および場合によっては抗体-抗原解離剤で処理することを含む。血液由来のデルタ抗原が、D型肝炎ウイルスに対する抗体の種々のクラスを検出および決定する際の診断剤として使用される。

【0016】

合衆国法定発明登録H1,345号は、タンパク質-プレニルトランスフェラーゼ阻害剤を投与することによって肝炎ウイルスを防止または処置する方法を開示する。

30

【0017】

Sureau他、「感染性デルタ型肝炎ウイルスのインビトロでの産生およびB型肝炎ウイルスのプレS抗原に対する抗体による中和」(Journal of Virology、1992、1241~1245)は、インビトロで産生されたH D V粒子が感染性であること、そして(i)感染性粒子は、プレS1領域およびプレS2領域を含有するH B Vエンベロープタンパク質で覆われていること、および(ii)H B Vエンベロープタンパク質のプレS1ドメインおよびプレS2ドメインのエピトープがH D V粒子の表面に露出していること、および(iii)そのようなエピトープに対する抗体はH D Vに対する中和活性を有することを開示している。

40

【0018】

最近、L-FMAUが慢性的な感染動物におけるH D Vの強力な阻害剤であることが報告されている(Casey, J.L.他、Antiviral Therapy、2000、5(増刊1)、32、要約057)。

【0019】

合成ヌクレオシドの-L-2'-デオキシシチジン(-L-2'-dC)、-L-2'-デオキシチミジン(-L-dT)および-L-2'-デオキシアデノシン(-L-2'-dA)もまたこの分野では知られている。Antonin Holyにより、-L-dCおよび-L-dTが1972年に初めて開示された(「核酸化合物およ

50

びそのアナログ、C L I I I、ピリミジン系列の2'-デオキシ-L-リボヌクレオシドの調製」、Collect Czech Chem Commun、1972、37(12)、4072~87)。Morris S、Zedecck他により、-L-dAが、シュドモナステストステロニにおける誘導型酵素の合成を阻害するために初めて開示された(Mol Phys、1967、3(4)、386~95)。

【0020】

ある種の2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドが抗新生物活性および選択された抗ウイルス活性を有することが知られている。Verri他により、抗新生物剤および抗ヘルペス剤としての2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドの使用が開示されている(Mol Pharmacol、1997、51(1)、132~138; Biochem J、1997、328(1)、317~20)。Saneyoshi他により、レトロウイルスの抑制およびAIDSの処置に対する逆転写酵素(I)阻害剤としての2'-デオキシ-L-リボヌクレオシドの使用が明らかにされている(日本公開特許公報JP06293645(1994))。

10

【0021】

Giovanni他は部分的に偽狂犬病ウイルス(PRV)に対して2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドを調べた(Biochem J、1993、294(2)、381~5)。

【0022】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドの化学療法的使用がTyrrsted他(Biochem Biophys Acta、1968、155(2)、619~22)およびBloch他(J Med Chem、1967、10(5)、908~12)によって研究された。

20

【0023】

-L-2'-デオキシチミジン(-L-dT)は1型ヘルペス単純ウイルス(HSV-1)のチミジンキナーゼ(TK)を阻害することがこの分野では知られている。Iotti他の国際特許出願公開WO92/08727には、-L-dTが、ヒトのTKではなく、HSV-1のTKによるD-チミジンのリン酸化を選択的に阻害することが教示されている。Spaldari他は、L-チミジンが1型ヘルペス単純ウイルスのチミジンキナーゼによってリン酸化され、ウイルス増殖を阻害することを報告した(J Med Chem、1992、35(22)、4214~20)。

30

【0024】

合成ヌクレオシドの-L-2'-デオキシシチジン(-L-2'-dC)、-L-2'-デオキシチミジン(-L-dT)、-L-2'-デオキシイノシン(-L-dI)および-L-2'-デオキシアデノシン(-L-2'-dA)が、最近、B型肝炎ウイルスを処置するためにこの分野で開示された。Gilles Gosselin他により、-L-dT、-L-dA、-L-dCおよび-L-dIならびにそれらの医薬として許容される塩およびプロドラッグをB型肝炎ウイルスの処置のために使用することが国際特許出願公開WO00/09531(PCT/US99/18149)に開示された。

40

【0025】

PCT/US01/09987(ジョージタウン大学、コーネル大学およびジョージア大学研究財団によって出願)には、宿主におけるB型肝炎表面抗原(明細書中ではHBsAgとして示される)のレベルを実質的に低下させるヌクレオシドまたはヌクレオシドアナログの投与がその宿主におけるデルタ型肝炎ウイルス感染の処置において有用であることが記載されている。1つの実施形態において、PCT/US01/09987は、2'-フルオロ-5-メチル-L-アラビノフラノシルウリジン(L-FMAU)がB型肝炎表面抗原のレベルを著しく低下させ、したがってデルタ型肝炎感染症の処置において有用であることを記載している。

【0026】

50

デルタ型肝炎ウイルスの感染者数が非常に多く、そして個体に対するデルタ型肝炎ウイルス感染の作用は破壊的であり、そして効果的な処置がないために、デルタ型肝炎ウイルス感染を処置するための新しい効果的な方法が非常に求められている。

【0027】

したがって、デルタ型肝炎ウイルスに感染した宿主（ヒトを含む）を処置するための方法を提供することは本発明の目的である。

【0028】

発明の概要

ヒトおよび他の宿主におけるデルタ型肝炎の感染を処置するための方法が開示される。この方法は、場合によっては医薬として許容されるキャリアにおいて、効果的な量の生物学的に活性な 2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド（これは代わりに本明細書中では β-L-d-ヌクレオシドまたは β-L-2'-d-ヌクレオシドとして示される）またはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグを投与することを含む。この場合、これらは単独または組み合わせもしくは交互のいずれでも投与される。本明細書中で使用される用語の 2'-デオキシは、2'位に置換基を有しないヌクレオシドを示す。

10

【0029】

開示される 2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドまたは医薬として許容されるプロドラッグもしくは塩、あるいはこれらの化合物を含有する医薬として許容される配合物は、D型肝炎感染症および他の関連する状態（HDVによって引き起こされる慢性的な肝臓炎症、肝硬変、急性肝炎、劇症肝炎、慢性の持続性肝炎、および疲労など）の防止および処置において有用である。これらの化合物または配合物はまた、HDVに感染している個体、またはHDVにさらされている個体における臨床的疾患の進行を防止または遅延させるために予防的に使用することができる。

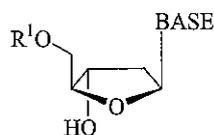
20

【0030】

本発明の一実施形態では、2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0031】

【化29】



30

（式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；かつ

40

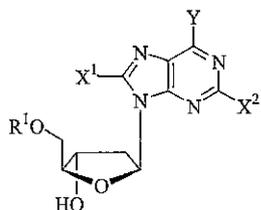
BASE は、場合によっては置換され得るプリン塩基またはピリミジン塩基である。）の化合物である。

【0032】

本発明の別の実施形態では、2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0033】

【化30】



(式中、

R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリーール、CO-アルコキシアリキル、CO-アリーールオキシアリキル、CO-置換アリーール、アルキルスルホニル、アリーールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、
 ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

10

Y は OR^3 、 NR^3R^4 または SR^3 であり；かつ

X^1 および X^2 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリーール、CO-アルコキシアリキル、ハロゲン、 OR^5 、 NR^5NR^6 または SR^5 からなる群から独立して選択され；そして

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリーール、CO-アルコキシアリキル、CO-アリーールオキシアリキル、CO-置換アリーール、アルキルスルホニル、アリーールスルホニル、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。)

20

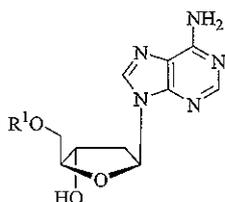
の -L-2'-デオキシプリンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0034】

特定の実施形態では、2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0035】

【化31】



30

(式中、 R^1 は、H、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオシアデノシンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

40

【0036】

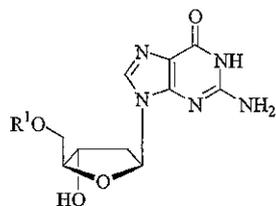
好ましい実施形態では、 R^1 はHである。

【0037】

別の特定の実施形態では、2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0038】

【化32】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

10

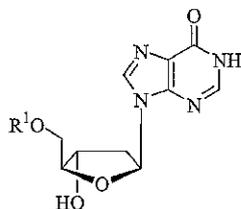
の -L-2'-デオキシグアノシンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0039】

別の特定の実施形態では、2'-デオキシ - L-エリスロ - ペントフラノヌクレオチド誘導体は、下記式：

【0040】

【化33】



20

(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシイノシンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

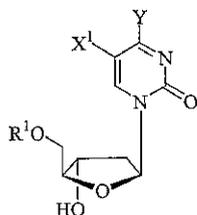
【0041】

本発明の別の実施形態では、2'-デオキシ - L-エリスロ - ペントフラノヌクレオチド誘導体は、下記式：

30

【0042】

【化34】



40

(式中、 R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、CO-アリアルオキシアリル、CO-置換アリアル、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、アラリルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

Yは OR^3 、 NR^3R^4 または SR^3 であり；かつ

X^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリアル、CO-アルコキシアリル、ハロゲン、 OR^5 、 NR^5NR^6 または SR^5 からなる群から選択され；そして

50

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシピリミジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

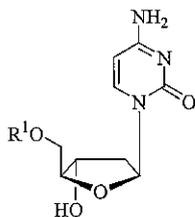
【0043】

特定の実施形態では、2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

10

【0044】

【化35】



(式中、 R^1 は、H、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

20

の -L-2'-デオキシシチジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0045】

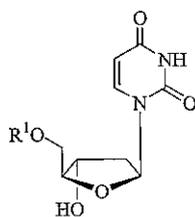
好ましい実施形態では、 R^1 はHである。

【0046】

別の実施形態では、2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0047】

【化36】



(式中、 R^1 は、H、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

40

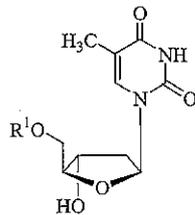
の -L-2'-デオキシウリジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0048】

別の実施形態では、2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0049】

【化37】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

の - L - チミジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

10

【0050】

好ましい実施形態において、 R^1 はHである。

【0051】

別の実施形態において、2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド、その医薬として許容される塩またはプロドラッグは、1つ以上の他の2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド、その医薬として許容される塩もしくはプロドラッグ、またはD型肝炎ウイルスに対する活性を示す1つ以上の他の化合物と交互に、またはそれらと組み合わせて投与される。一般に、交互療法においては、それぞれの薬剤の効果的な投薬量が儒順次投与され、これに対して、混合療法では、2つ以上の薬剤の効果的な投薬量と一緒に投与される。投薬量は、薬物の吸収、不活性化および排出速度、ならびに当業者に知られている他の要因に依存する。投薬量の値はまた、緩和すべき状態の重篤度により変化することに留意しなければならない。任意の特定の対象体について、具体的な投薬法およびスケジュールは、個々の必要性、および組成物を投与する医師または組成物の投与を監督する医師の専門的判断に従って時間とともに調節すべきであることをさらに理解しなければならない。

20

【0052】

別の実施形態において、本発明は、HDVに感染しているヒトを処置するための方法を包含する。この方法は、開示される2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド誘導体のプロドラッグのHDV処置量を投与することを含む。本明細書中で使用されるプロドラッグは、インビボ投与したときにそのヌクレオシドに変換される化合物を示す。非限定的な例には、医薬として許容される塩(これは代わりに「生理学的に受容可能な塩」として示される)、活性な化合物の5'位および/または N^4 位(シチジン)および/または N^6 位(アデノシン)のアシル化誘導体またはアルキル化誘導体、活性な化合物の5'-リン脂質および/または5'-エーテル脂質が挙げられる。

30

【0053】

好ましい実施形態において、2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドは、5'-ヒドロキシルがアミノ酸でアシル化されているという点で、医薬として許容されるプロドラッグの形態である。さらにより好ましい実施形態において、アミノ酸はバリンである。

【0054】

40

(図面の簡単な説明)

図1は出発物質としてL-リボースまたはL-キシロースを使用して - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド(- L - dN)を得るための一般的なプロセスを例示する図である。

図2は出発物質としてL-リボースを使用してL-デオキシアデノシンを合成する非限定的な例を例示する図である。

図3aは出発物質としてL-アラビノースを使用して - L - dCを合成する非限定的な例を例示する図である。

図3bは出発物質としてL-アラビノースを使用して - L - dTを合成する非限定的な例を例示する図である。

50

図 4 は蓄積および減少に関してヒト H e p G 2 細胞における L - d A、L - d C および L - d T の代謝を例示するグラフである。細胞は 10 μ M の化合物とともにインキュベーションされた。

図 5 はウッドチャック慢性肝炎モデルにおける L - d A、L - d T および L - d C の抗ウイルス作用を例示するグラフである。

【 0 0 5 5 】

発明の詳細な説明

ヒトおよび他の宿主におけるデルタ型肝炎の感染を処置するための方法が開示される。この方法は、場合によって医薬として許容されるキャリアにおいて、効果的な量の生物学的に活性な 2' - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド（これは代わりに本明細書中では L - d - ヌクレオシドまたは L - 2' - d - ヌクレオシドとして示される）またはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグを投与することを含む。この場合、これらは単独または組合わせのいずれでも投与される。本明細書中で使用される用語の 2' - デオキシは、2' 位に置換基を有しないヌクレオシドを示す。

10

【 0 0 5 6 】

開示される 2' - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドまたは医薬として許容されるプロドラッグもしくは塩、あるいはこれらの化合物を含有する医薬として許容される配合物は、D 型肝炎感染症および他の関連する状態（H D V によって引き起こされる慢性的な肝臓炎症、肝硬変、急性肝炎、劇症肝炎、慢性の持続性肝炎、および疲労など）の防止および処置において有用である。これらの化合物または配合物はまた、H D V に感染している個体、または H D V にさらされている個体における臨床的疾患の進行を防止または遅延させるために予防的に使用することができる。

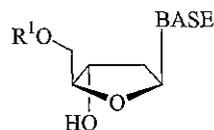
20

【 0 0 5 7 】

本発明の一実施形態では、2' - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【 0 0 5 8 】

【 化 3 8 】



30

（式中、

R¹ は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；かつ

B A S E は、場合によっては置換され得るプリン塩基またはピリミジン塩基である。）

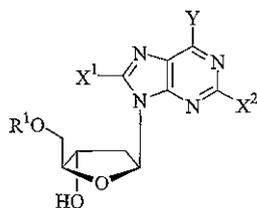
40

【 0 0 5 9 】

本発明の別の実施形態では、2' - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【 0 0 6 0 】

【 化 3 9 】



(式中、

R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

10

Y は OR^3 、 NR^3R^4 または SR^3 であり；かつ

X^1 および X^2 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、ハロゲン、 OR^5 、 NR^5NR^6 または SR^5 からなる群から独立して選択され；そして

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。)

20

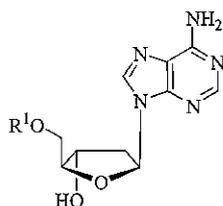
の -L-2'-デオキシプリンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0061】

特定の実施形態では、2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0062】

【化40】



30

(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシアデノシンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

40

【0063】

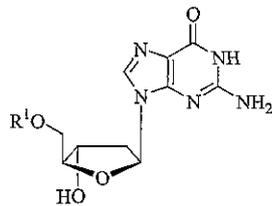
好ましい実施形態では、 R^1 はHである。

【0064】

別の特定の実施形態では、2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0065】

【化41】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

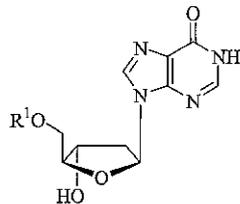
の -L-2'-デオキシグアノシンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。 10

【0066】

別の特定の実施形態では、2'-デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオチド誘導体は、下記式：

【0067】

【化42】



20

(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

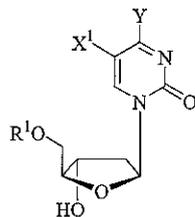
の -L-2'-デオキシイノシンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0068】

本発明の別の実施形態では、2'-デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオチド誘導体は、下記式： 30

【0069】

【化43】



40

(式中、 R^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、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、アラキルスルホニル、アミノ酸残基、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体からなる群から選択され；

Yは OR^3 、 NR^3R^4 または SR^3 であり；かつ

X^1 は、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアルキル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリール、ハロゲン、 OR^5 、 NR^5NR^6 または SR^5 からなる群から選択され；そして

R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は独立して、H、直鎖状もしくは分枝状もしくは環状のアル 50

キル、CO-アルキル、CO-アリール、CO-アルコキシアリル、CO-アリールオキシアリル、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、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、またはリン酸誘導体である。)

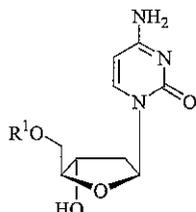
の -L-2'-デオキシピリミジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0070】

特定の実施形態では、2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0071】

【化44】



(式中、R¹は、H、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

の -L-2'-デオキシシチジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0072】

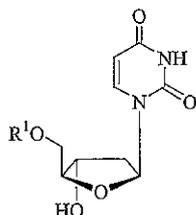
好ましい実施形態では、R¹はHである。

【0073】

別の実施形態では、2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0074】

【化45】



(式中、R¹は、H、ーリン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

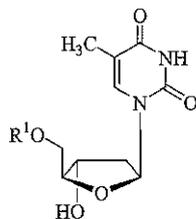
の -L-2'-デオキシウリジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0075】

別の実施形態では、2'-デオキシ- -L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体は、下記式：

【0076】

【化46】



(式中、 R^1 は、H、一リン酸もしくは二リン酸もしくは三リン酸、アシル、アルキル、または(安定化ヌクレオチドプロドラッグを形成するための)安定化リン酸誘導体である。)

10

の - L - チミジンまたはその医薬として許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0077】

好ましい実施形態において、 R^1 はHである。

【0078】

別の実施形態において、2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド、その医薬として許容される塩またはプロドラッグは、1つ以上の他の2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド、その医薬として許容される塩もしくはプロドラッグ、またはD型肝炎ウイルスに対する活性を示す1つ以上の他の化合物と交互に、またはそれらと組み合わせて投与される。一般に、交互療法においては、それぞれの薬剤の効果的な投薬量が順次投与され、これに対して、混合療法では、2つ以上の薬剤の効果的な投薬量が一緒に投与される。投薬量は、薬物の吸収、不活性化および排出速度、ならびに当業者に知られている他の要因に依存する。投薬量の値はまた、緩和すべき状態の重篤度により変化することに留意しなければならない。任意の特定の対象体について、具体的な投薬法およびスケジュールは、個々の必要性、および組成物を投与する医師または組成物の投与を監督する医師の専門的判断に従って時間とともに調節すべきであることをさらに理解しなければならない。

20

【0079】

別の実施形態において、本発明は、HDVに感染しているヒトを処置するための方法を含む。この方法は、開示される2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド誘導体のプロドラッグのHDV処置量を投与することを含む。本明細書中で使用されるプロドラッグは、インビボ投与したときにそのヌクレオシドに変換される化合物を示す。非限定的な例には、医薬として許容される塩(これは代わりに「生理学的に受容可能な塩」として示される)、活性な化合物の5'位および/または N^4 位(シチジン)および/または N^6 位(アデノシン)のアシル化誘導体またはアルキル化誘導体、活性な化合物の5'-リン脂質および/または5'-エーテル脂質が挙げられる。

30

【0080】

好ましい実施形態において、本発明の2'-デオキシ- - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドは、5'-ヒドロキシルがアミノ酸でアシル化されているという点で、医薬として許容されるプロドラッグの形態である。さらにより好ましい実施形態において、アミノ酸はバリンである。

40

【0081】

立体化学

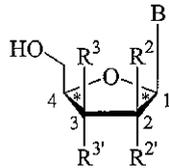
下記に示されるように、ヌクレオシドは少なくとも2つの重要なキラル炭素原子(*)を含有する。一般に、ヌクレオシドのキラル炭素における置換基[指定されたプリン塩基またはピリミジン塩基(これは糖環の中間番号付けを使用したときにはC1置換基として示される)および CH_2OH (これはC4置換基として示される)]は、糖の環系に関してcis(同じ側)またはtrans(反対側)のいずれかであり得る。cisおよびtransの両方のラセミ体は1対の光学異性体からなる。従って、各化合物は4つの異なる立体異性体を有する。4つの立体異性体は、(-O-成分が後側に位置するように糖成分を水平面で配向させたときの)下記の立体配置によって表される:(1)両方の基が「上

50

側」にある *cis*、これは β -D と呼ばれる；(2) その鏡像体、すなわち、両方の基が「下側」にある *cis*、これは鏡像体であり、 β -L と呼ばれる；(3) C4 置換基が「上側」にあり、C1 置換基が「下側」にある *trans* (これは β -D と呼ばれる)；および(4) C4 置換基が「下側」にあり、C1 置換基が「上側」にある *trans* (これは β -L と呼ばれる)。2つの *cis* エナンチオマーは一緒にして β -エナンチオマーのラセミ混合物と呼ばれ、2つの *trans* エナンチオマーは β -エナンチオマーのラセミ混合物と呼ばれる。

【0082】

【化47】

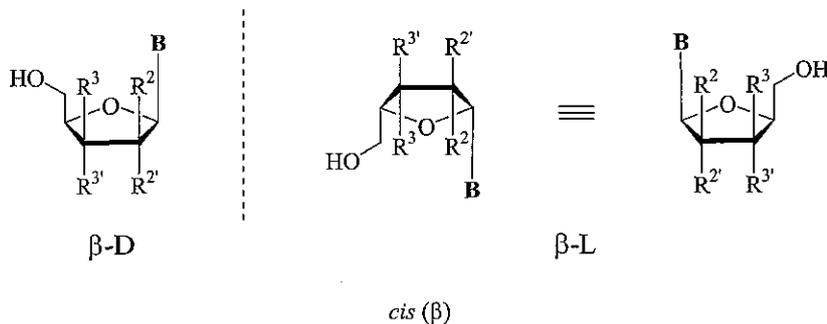


10

請求項に記載される4つの可能な立体異性体を下記に例示する。

【0083】

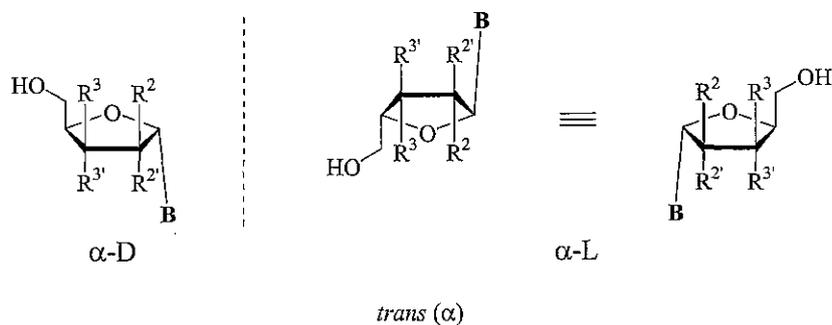
【化48】



20

【0084】

【化49】



30

【0085】

定義

本明細書中で使用される用語「実質的に単一異性体の形態で」または用語「単離された形態で」は、指定された立体配置が少なくとも約95%であり、好ましくは少なくとも98%または99%である2'-デオキシ- β -L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドを示す。好ましい実施形態において、活性な化合物は、少なくともこのレベルの純度で、治療が必要な宿主に投与される。

40

【0086】

本明細書中で使用される用語のD型肝炎および関連する状態は、D型肝炎の感染、HDVに付随する慢性的な肝臓炎症、肝硬変、急性肝炎、劇症肝炎、慢性的持続性肝炎および疲労を示す。本発明の方法は、HBVに感染している個体、またはHBVにさらされている個体における臨床的疾患の進行を防止または遅延させるために予防的に、2'-デオキシ

50

- L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド誘導体、その医薬として許容される塩またはそのプロドラッグを使用することを含む。

【0087】

本明細書中で使用される用語のアルキルは、別途示されない限り、典型的には $C_1 \sim C_{10}$ （好ましくは $C_1 \sim C_6$ ）の飽和した直鎖状または分枝状または環状の一級または二級または三級の炭化水素を示し、具体的には、メチル、トリフルオロメチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、イソプロピル、イソブチル、sec - ブチル、t - ブチル、イソペンチル、アミル、t - ペンチル、シクロペンチルおよびシクロヘキシルを含むが、これらに限定されない。アルキル基は、当業者に知られているように、例えば、Greene他、「Protective Groups in Organic Synthesis」(John Wiley and Sons、第2版、1991；これはここに参照により組み込まれる)に教示されているように、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、スルファート、ホスホン酸、リン酸またはホスホナート（これらは必要な場合には非保護または保護のいずれであってもよい）からなる群から選択される1つ以上の成分で場合によっては置換することができる。

10

【0088】

本明細書中で使用される用語のアシルは、式 $-C(O)R'$ の成分を示す（式中、 R' は、アルキル、アリール、アルカリール、アラルキル、複素芳香族、アルコキシアルキル（メトキシメチルを含む）、アリールアルキル（ベンジルを含む）、アリールオキシアルキル（フェノキシメチルなど）またはアリール（フェニルを含む）であり、これらは、ハロゲン、 $C_1 \sim C_4$ アルキルもしくは $C_1 \sim C_4$ アルコキシ、またはアミノ酸の残基で場合によっては置換される）。用語アシルは、具体的には、アセチル、プロピオニル、ブチリル、ペンタノイル、3 - メチルブチリル、ハイドロジェンスクシナート、3 - クロロベンゾアート、ベンゾイル、アセチル、ピバロイル、メシラート、プロピオニル、バレリル、カプロイック、カプリリック、カプリック、ラウリック、ミリスチック、パルミチック、ステアリックおよびオレイック（これらに限定されない）を含み、そしてまたアミノ酸の残基であり得る。

20

【0089】

本明細書中で使用される用語の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 - アセチレン性プリン、 N^6 - アシルプリン、 N^6 - ヒドロキシアルキルプリン、 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 - メルカプトピリミジンおよび/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 - アセチレン性ピリミジン、 C^5 - アシルピリミジン、 C^5 - ヒドロキシアルキルプリン、 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 - アザウラシリル、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ロピリミジニルが含まれるが、これらに限定されない。

30

40

【0090】

塩基の例には、シトシン、5 - フルオロシトシン、5 - ブロモシトシン、5 - ヨードシトシン、5 - クロロシトシン、ウラシル、5 - フルオロウラシル、5 - ブロモウラシル、5 - ヨードウラシル、5 - メチルウラシル、チミン、アデニン、グアニン、イノシン、キサントシン、2, 6 - ジアミノプリン、6 - アミノプリン、6 - クロロプリンおよび2, 6 - ジクロロプリン、6 - ブロモプリン、2, 6 - ジブロモプリン、6 - ヨードプリン、2,

50

6 - ジョードプリン、ヒポキサンチン、アミノ基またはカルボニル基を含む置換基を6位に場合により有する2 - (Br、F、ClまたはI)プリン、ならびにアミノ基またはカルボニル基を含む置換基を2位に場合により有する6 - (Br、F、ClまたはI)プリン、5 - プロモビニルシトシン、5 - プロモビニルウラシル、5 - プロモエテニルシトシン、5 - プロモエテニルウラシル、5 - トリフルオロメチルシトシン、ならびに5 - トリフルオロメチルウラシルが挙げられる。

【0091】

本明細書中で使用される用語のプロドラッグは、インビボ投与したときにそのヌクレオシドに変換される化合物を示す。非限定的な例には、医薬として許容される塩（これは代わりに「生理学的に受容可能な塩」として示される）、活性な化合物の5'位および/またはN⁴位（シチジン）またはN⁶位（アデノシン）のアシル化誘導体またはアルキル化誘導体、ならびに活性な化合物の5' - リン脂質誘導体および5' - エーテル脂質誘導体が挙げられる。

10

【0092】

本明細書中で使用される用語の宿主は、細胞株および動物（好ましくはヒト）を含む、ウイルスが複製し得る単細胞生物または多細胞生物を示す。あるいは、宿主は、本発明の化合物によってその複製または機能が変化し得るデルタ型肝炎ウイルスのゲノム的一部分を保有し得る。このような用語の宿主は、具体的には、感染した細胞、HDVゲノムのすべてまたは一部でトランスフェクションされた細胞、および動物（特に、霊長類（チンパンジーを含む）およびヒト）を示す。本発明の大部分の動物適用において、宿主はヒト患者である。しかし、ある種の適用症における獣医学的適用が本発明によって明らかに予想される（チンパンジーなど）。

20

【0093】

医薬として許容される塩およびプロドラッグ

本明細書中で使用される用語の医薬として許容される塩または複合体は、元の化合物の所望される生物学的活性を保持し、かつ存在する場合でも、最小限の望ましくない毒物学的作用を示す、2' - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドの塩または複合体をいう。そのような塩の非限定的な例として、(a) 無機酸（例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、硝酸など）によって形成される酸付加塩、ならびに酢酸、シュウ酸、酒石酸、コハク酸、リンゴ酸、アスコルビン酸、安息香酸、タンニン酸、パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンスルホン酸、ナフタレンジスルホン酸およびポリガラクトロン酸などの有機酸との形成される塩；(b) ナトリウム、カリウム、亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、マグネシウム、アルミニウム、銅、コバルト、ニッケル、カドミウム、ナトリウム、カリウムなどのカチオンとの形成される塩基付加塩、またはN, N - ジベンジルエチレンジアミン、アンモニウムもしくはエチレンジアミンから形成される有機カチオンとの形成される塩基付加塩；あるいは(c) (a) および(b) の組合せ、例えば、タンニン酸亜鉛塩などが挙げられる。

30

【0094】

2' - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシドは、下記の参考文献に開示されるように、5' - リン脂質または5' - エーテル脂質として提供され得る：Kucera, L. S., Lyster, N., Leake, E., Raben, A., Modest, E. J., D. L. W. および Piantadosi, C., 「感染性HIV-1の産生を阻害し、かつ欠陥ウイルスの形成を誘導する新規な膜相互作用性エーテル脂質アナログ」、AIDS Res Hum Retroviruses、1990、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. Lyster, C. A. Wallen, S. Piantadosi および E. J. Modest, 「抗HIV活性に必要な新規なエーテル脂質ヌクレオシド結合体の合成および評価」、J Med Chem、1991、34、1408~1414；Hostetler, K. Y., Richman, D

40

50

. D .、Carson, D. A.、Stuhmiller, L. M.、van Wijk, G. M. T. および van den Bosch, H.、「31-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(31-デオキシチミジンの脂質プロドラッグ)によるCEM細胞およびHT4-6C細胞における1型ヒト免疫不全症ウイルス複製の非常に強化された阻害」、Antimicrob Agents Chemother、1992、36、2025~2029; Hostetler, K. Y.、Stuhmiller, L. M.、Lenting, H. B.、van den Bosch, H. および Richman, D. D.、「アジドチミジンおよび他の抗ウイルス性ヌクレオシドのリン脂質アナログの合成および抗レトロウイルス活性」、J Biol Chem、1990、265、6112~7。

10

【0095】

2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドは、適切なエステル化剤(例えば、酸ハロゲン化物または酸無水物)との反応によって医薬として許容されるエステルに変換され得る。ヌクレオシドまたはその医薬として許容されるプロドラッグは、従来の様式で、例えば、適切な塩基または酸との処理によってその医薬として許容される塩に変換され得る。エステルまたは塩は、例えば、加水分解によって元のヌクレオシドに変換され得る。

【0096】

活性な化合物の修飾、特にN⁴位、N⁶位および5'-O位における修飾は、活性な化学種の生物利用性および代謝速度に影響を及ぼすことができ、したがって、活性な化学種の送達を制御することができる。

20

【0097】

本発明の好ましい実施形態は、ヒトまたは他の宿主動物におけるHDV感染症を処置するための方法である。この方法は、β-L-2'-デオキシアデノシン、β-L-2'-デオキシシチジン、β-L-2'-デオキシウリジン、β-L-2'-グアノシン、β-L-2'-デオキシイノシンおよびβ-L-2'-デオキシチミジン、あるいはその医薬として許容されるプロドラッグ(リン酸、5'位および/またはN⁴位またはN⁶位のアルキル化誘導体またはアシル化誘導体を含む)、あるいはその生理学的に受容可能な塩からなる群から選択される2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体の1つまたは複数の効果的な量を、場合によっては医薬として許容されるキャリアにおいて投与することを含む。本発明の化合物は、直接的な抗HDV活性を有するか、または抗HDV活性を示す化合物(1つもしくは複数)に代謝されるか、そのいずれでもある。好ましい実施形態において、2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドは、実質的には単一異性体の形態で、すなわち、指定された立体配置が少なくとも約95%で投与される。

30

【0098】

本明細書中に記載されるヌクレオシドはどれも、活性、生物利用性、安定性、またはヌクレオシドを変化させる他の性質を増大させるために安定化されたプロドラッグとして投与することができる。多数のヌクレオチドプロドラッグリガンドが知られている。一般に、ヌクレオシドのーリン酸または二リン酸または三リン酸のアルキル化、アシル化または他の親油性修飾はヌクレオチドの安定性を増大させる。リン酸基における1つ以上の水素を置換し得る置換基の例には、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が挙げられる。多くが、R. Jones および N. Bischofberger、Antiviral Research、1995、27、1~17に記載される。これらはいずれも、所望する効果を達成するために、開示されたヌクレオシドと組み合わせて使用することができる。

40

【0099】

1つの実施形態において、2'-デオキシ-β-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドは5'-ヒドロキシル親油性プロドラッグとして提供される。ヌクレオシドまたは親油性調製物の好ましくは5'-OH位においてヌクレオシドに共有結合的に取り込まれ得る

50

好適な親油性置換基を開示する米国特許の非限定的な例には、米国特許第5,149,794号(1992年9月22日、Yatvin他)、同第5,194,654号(1993年3月16日、Hostetler他)、同第5,223,263号(1993年6月29日、Hostetler他)、同第5,256,641号(1993年10月26日、Yatvin他)、同第5,411,947号(1995年5月2日、Hostetler他)、同第5,463,092号(1995年10月31日、Hostetler他)、同第5,543,389号(1996年8月6日、Yatvin他)、同第5,543,390号(1996年8月6日、Yatvin他)、同第5,543,391号(1996年8月6日、Yatvin他)および同第5,554,728号(1996年9月10日、Basava他)がある。

10

【0100】

本発明の2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシド誘導体または親油性調製物に結合させることができる親油性置換基を開示する外国特許出願明細書には、国際特許出願公開WO89/02733、同WO90/00555、同WO91/16920、同WO91/18914、同WO93/00910、同WO94/26273、同WO96/15132、欧州特許EP0350287、同EP93917054.4および国際特許出願公開WO91/19721が挙げられる。

【0101】

2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドのさらなる非限定的な例には、下記の刊行物に記載されるような置換基を含むヌクレオシドがある。これらの誘導体化された2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラノヌクレオシドは、本明細書中に記載される適応症に対して使用することができ、またはそれ以外の場合には、抗HBV剤としての使用を含む、抗ウイルス剤としての使用が可能である(Ho, D. H. W.、「ヒトおよびマウスの組織における1-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」、Cancer Res、1973、33、2816~2820; Holy, A.、「等極性リン修飾ヌクレオチドアナログ」、Advances in Antiviral Drug Design、De Clercq(編)、JAI Press:1993、第I巻、179~231; Hong, C. I.、Nechaev, A.およびWest, C. R.、「コルチゾールおよびコルチゾンの1-D-アラビノフラノシルシトシン結合体の合成および抗腫瘍活性」、Biochem Biophys Res Commun、1979a、88、1223~1229; Hong, C. I.、Nechaev, A.、Kirisits, A. J.、Buchheit, D. J.およびWest, C. R.、「潜在的な抗腫瘍剤としてのヌクレオシド結合体. 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-(D-アラビノフラノシル)シトシン結合体の合成および抗腫瘍活性」、J Med Chem、1980、28、171~177; Hostetler, K. Y.、Stuhmiller, L. M.、Lenting, H. B. M.、van den Bosch, H.およびRichman, D. D.、「アジドチミジンおよび他の抗ウイルス性ヌクレオシドのリン脂質アナログの合成および抗レトロウイルス活性」、J Biol Chem、1990、265、6112~6117; Hostetler, K. Y.、Carson, D. A.およびRichman, D. D.、「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機構」、J Biol Chem、1991、266、11714~11717; Hostetler, K. Y.、Korba, B.、Sridhar, C.、Gardener, M.、「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マウスにおける増強された幹細胞取り込み」、Antiviral Res、1994a、24、59~67; Hostetler, K. Y.、Richman, D. D.、Sridhar, C. N.、Felgner, P. L.、Felgner, J.、Ricci, J.、Gardener, M. F.、Selleseth, D. W.およびEllis, M. N.、「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取り込みならびにヒト免疫不全症ウイルス

20

30

40

50

感染細胞およびラウ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」、*Antimicrobial Agents Chemother*、1994b、38、2792~2797; Hunston, R. N.、Jones, A. A.、McGuigan, C.、Walker, R. T.、Balzarini, J. および De Clercq, E.、「2'-デオキシ-5-フルオロウリジンに由来するいく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」、*J Med Chem*、1984、27、440~444; Ji, Y. H.、Moog, C.、Schmitt, G.、Bischoff, P. および Luu, B.、「潜在的な抗腫瘍剤としての7-ヒドロキシコレステロールおよびピリミジンヌクレオシドのモノリン酸ジエステル: 合成および抗腫瘍活性の予備的評価」、*J Med Chem*、1990、33、2264~2270; Jones, A. S.、McGuigan, C.、Walker, R. T.、Balzarini, J. および De Clercq, E.、「いくつかのヌクレオシド環状ホスホルアミダートの合成、性質および生物学的活性」、*J Chem Soc Perkin Trans I*、1984、1471~1474; Juodka, B. A. および Smart, J.、「ジリボヌクレオシド a (P N) アミノ酸誘導体の合成」、*Coll Czech Chem Comm*、1974、39、363~968; Kataoka, S.、Imai, J.、Yamaji, N.、Kato, M.、Saito, M.、Kawada, T. および Imai, S.、「アルキル化された cAMP 誘導体: 選択的合成および生物学的活性」、*Nucleic Acids Res Sym Ser*、1989、21、1~2; Kataoka, S.、Uchida, R. および Yamaji, N.、「アデノシン 3', 5' 環状リン酸 (cAMP) のベンジルトリエステルおよびメチルトリエステルの簡便な合成」、*Heterocycles*、1991、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. および McGuigan, C.、「インビトロでの HIV および MuLV に対するジドブジンのホスホルアミダート誘導体およびホスホロジアミダート誘導体の抗ウイルス作用の比較」、*Antiviral Chem Chemother*、1992、3、107~112; Kodama, K.、Morozumi, M.、Saitoh, K. I.、Kuninaka, H.、Yoshino, H. および Saneyoshi, M.、「1-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ステアリルリン酸 (1-D-アラビノフラノシルシトシンの経口活性な誘導体) の抗腫瘍活性および薬理学」、*Jpn J Cancer Res*、1989、80、679~685; Korty, M. および Engels, J.、「モルモット心室心筋に対するアデノシン-3', 5'-リン酸およびグアノシン-3', 5'-リン酸およびベンジルエステルの影響」、*Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*、1979、310、103~111; Kumar, A.、Goe, P. L.、Jones, A. S.、Walker, R. T.、Balzarini, J. および De Clercq, E.、「いくつかの環状ホスホルアミダートヌクレオシド誘導体の合成および生物学的評価」、*J Med Chem*、1990、33、2368~2375; LeBec, C. および Huynh-Dinh, T.、「抗ガン性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」、*Tetrahedron Lett*、1991、32、6553~6556; Lichtenstein, J.、Barner, H. D. および Cohen, S. S.、「外部から供給されたヌクレオチドの大腸菌による代謝」、*J Biol Chem*、1960、235、457~465; Lucthy, J.、Von Daenilken, A.、Friederich, J.、Manthey, B.、Zweifel, J.、Schlatte, C. および Benn, M. H.、「3つの天然に存在するシアノエピチオアルカンの合成および毒物学的性質」、*Mitt Geg Lebensmitt elunters Hyg*、1981、72、131~133 (Chem Abstr、95、127093); McGuigan, C.、Tollerfield, S. M. お

よび Riley, P. A., 「抗ウイルス性薬物 Ara のいく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」、Nucleic Acids Res、1989、17、6065～6075；McGuigan, C., Devine, K. G., O'Connor, T. J., Galpin, S. A., Jeffries, D. J. および Kinchington, D., 「抗 HIV 化合物としての 3'-アジド-3'-デオキシチミジン (AZT) のいくつかの新規なホスホルアミダート誘導体の合成および評価」、Antiviral Chem Chemother、1990a、1、107～113；McGuigan, C., O'Connor, T. J., Nicholls, S. R., Nickson, C. および Kinchington, D., 「AZT および ddCyd のいくつかの新規な置換ジアルキルリン酸誘導体の合成および抗 HIV 活性」、Antiviral Chem Chemother、1990b、1、355～360；McGuigan, C., Nicholls, S. R., O'Connor, T. J. および Kinchington, D., 「潜在的な抗 AIDS 薬としての 3' 修飾ヌクレオシドのいくつかの新規なジアルキルリン酸誘導体の合成」、Antiviral Chem Chemother、1990c、1、25～33；McGuigan, C., Devine, K. G., O'Connor, T. J. および Kinchington, D., 「3'-アジド-3'-デオキシチミジン (AZT) のいくつかの八口アルキルホスホルアミダ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強力な活性」、Antiviral Res、1991、15、255～263；McGuigan, C., Pathirana, R. N., Mahmood, N., Devine, K. G. および Hay, A. J., 「AZT のアリールリン酸誘導体は、AZT の作用に対して抵抗性の細胞株において HIV-1 に対する活性を保持する」、Antiviral Res、1992、17、311～321；McGuigan, C., Pathirana, R. N., Choi, S. M., Kinchington, D. および O'Connor, T. J., 「HIV 阻害剤としての AZT のホスホルアミダート誘導体：カルボキシル末端に対する研究」、Antiviral Chem Chemother、1993a、4、97～101；McGuigan, C., Pathirana, R. N., Balzarini, J. および De Clercq, E., 「AZT のアリールリン酸誘導体による生物活性な AZT ヌクレオチドの細胞内送達」、J Med Chem、1993b、36、1048～1052。

【0102】

ヌクレオシド環状 3', 5'-リン酸のリン酸環に対するチェア-ツイスト平衡の問題が、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 線結晶学による研究によって分析されている (J Am Chem Soc、109、4058～4064；Nerbonne, J. M., Richard, S., Nargeot, J. および Lester, H. A., 「新しい光活性化可能な環状ヌクレオチドは環状 AMP および環状 GMP の濃度の細胞内上昇をもたらす」、Nature、1984、301、74～76；Neumann, J. M., Herve, M., Debouzy, J. C., Guerra, F. I., Gouyette, C., Dupraz, B. および Huynh-Dinh, T., 「チミジンのグルコシルリン脂質の合成および NMR による膜貫通輸送研究」、J Am Chem Soc、1989、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. および Kimura, J., 「経口投与された 1-D-アラビノフラノシルシトシン-5'-ステアリルリン酸を用いた骨髄異形成症候群の処置」、Oncology、1991、48、451～455)。

【0103】

Palomino, E., Kessle, D. および Horwitz, J. P., 「2'

、3'-ジデオキシヌクレオシドを脳に持続的に送達するためのジヒドロピリジンキャリアシステム」、J Med Chem、1989、32、622~625; 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. および Brown, A.G.、「マウスにおけるラウシャーネズミ白血病ウイルスに対するBRL47923およびその経口プロドラッグSB203657Aの活性」、Antiviral Res、1993、20(増刊I)、84; Piantadosi, C.、Marasco, C.J., Jr.、Morris-Natschke, S.L.、Meyer, K.L.、Gumus, F.、Surlles, J.R.、Ishaq, K.S.、Kucera, L.S.、Iyer, N.、Wallen, C.A.、Piantadosi, S. および Modest, E.J.、「抗HIV-1活性に対する新規なエテル脂質ヌクレオシド結合体の合成および評価」、J Med Chem、1991、34、1408~1414; Pompon, A.、Lefebvre, I.、Imbach, J.L.、Kahn, S. および Farquhar, D.、「細胞抽出物および組織培養培地におけるアジドチミジン-5'-リン酸のモノ(ピバロイルオキシメチル)エステルおよびビス(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技術の適用」、Antiviral Chem Chemother、1994、5、91~98; Postemark, T.、「環状AMPおよび環状GMP」、Annu Rev Pharmacol、1974、14、23~33; Prinsbe, E.J.、Martin, J.C.M.、McGee, D.P.C.、Barker, M.F.、Smeed, D.F.、Duke, A.E.、Matthews, T.R. および Verheyden, J.P.J.、「9-[(1,3-ジヒドロキシ-2-プロポキシ)メチル]グアニンのリン酸誘導体およびホスホナート誘導体の合成および抗ヘルペスウイルス活性」、J Med Chem、1986、29、671~675; Puech, F.、Gosselin, G.、Lefebvre, I.、Pompon, A.、Aubertin, A.M.、Dirn, A. および Imbach, J.L.、「レダクターゼにより媒介される活性化プロセスによるヌクレオシド-リン酸の細胞内送達」、Antiviral Res、1993、22、155~174; Pugaeva, V.P.、Klochkeva, S.L.、Mashbits, F.D. および Eizengart, R.S. (1969) Robins, R.K.、「レトロウイルスおよび腫瘍の阻害剤としてのヌクレオチドアナログの可能性」、Pharm Res、1984、11~18; Rosowsky, A.、Kim, S.H.、Ross, J. および Wick, M.M.、「潜在的なプロドラッグとしての1-D-アラビノフラノシルシトシンならびにそのN⁴-アシル誘導体および2,2'-アンヒドロ-3'-O-アシル誘導体の親油性5'-(アルキルリン酸)エステル」、J Med Chem、1982、25、171~178; Ross, W.、「グルコース前処理後の塩基性側鎖を有する芳香族ナイトロジェンマスタードに対するウォーカーターンアウトの増大した感受性」、Biochem Pharm、1961、8、235~240; Ryu, E.K.、Ross, R.J.、Matsushita, T.、MacCoss, M.、Hong, C.I. および West, C.R.、「リン脂質ヌクレオシド結合体. 3.1-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予備的な生物学的評価」、J Med Chem、1982、25、1322~1329; Saffhill, R. および Hume, W.J.、「種々の供給源の血清による5-ヨードデオキシウリジンおよび5-プロモデオキシウリジンの分解ならびにDNA内に取り込ませるためのこれらの化合物の使用に対するその結果」、Chem Biol Interact、1986、57、347~355; Saneyoshi, M.、Morozumi, M.、Kodama, K.、Machida, J.、Kuninaka, A. および Yoshino, H.、「合成ヌクレオシドおよび合成ヌクレオチド. XVI. 一連の1-

- D - アラビノフラノシルシトシンの 5' - アルキルリン酸または 5' - アリールリン酸の合成および生物学的評価」、Chem Pharm Bull、1980、28、2915 ~ 2923; Sastry, J. K., Nehete, P. N., Khan, S., Nowak, B. J., Plunkett, W., Arlinghaus, R. B. および Farquhar, D., 「膜透過性ジデオキシウリジン 5' - リン酸アナログはヒト免疫不全症ウイルスの感染を阻害する」、Mol Pharmacol、1992、41、441 ~ 445; Shaw, J. P., Jones, R. J., Arimilli, M. N., Louie, M. S., Lee, W. A. および Cundy, K. C., 「オス Sprague - Dawley ラットにおける PME A プロドラッグに由来する PME A の経口による生物利用性」、9th Annual AAPS Meeting, San Diego, CA、1994 (要約)。Shuto, S., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K., Matsuda, A. および Ueda, T., 「酵素二相反応による 5' - ホスファチジルヌクレオシドの容易な一段階合成」、Tetrahedron Lett、1987、28、199 ~ 202; Shuto, S., Itoh, H., Ueda, S., Imamura, S., Kukukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. および Ueda, T., 「5' - (3 - sn - ホスファチジル)ヌクレオシドの容易な酵素的合成およびその抗白血病活性」、Chem Pharm Bull、1988、36、209 ~ 217。1つの好ましいリン酸プロドラッグ基は S - アシル - 2 - チオエチル基であり、これはまた「SATE」としても示される。

10

20

【0104】

薬学的組成物

本発明の 2' - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド誘導体に基づく薬学的組成物で、D型肝炎の感染を処置するために治療効果的な量の上記化合物またはその塩もしくはプロドラッグを、場合によっては医薬として許容される添加剤、キャリアまたは賦形剤との組合せで含む薬学的組成物を調製することができる。治療効果的な量は、処置される感染または状態、その重篤度、用いられる処置法、使用される薬剤の薬物動態学、ならびに処置される患者により変化し得る。

【0105】

本発明による1つの態様において、本発明による化合物は、医薬として許容されるキャリアとの混合物で好ましくは配合される。一般には、薬学的組成物を経口投与可能な形態で投与することが好ましいが、配合物は、非経口的、静脈内、筋肉内、経皮的、口内、皮下、坐薬または他の経路によって投与することができる。静脈内および筋肉内に投与される配合物は、好ましくは、無菌の生理学的食塩水において投与される。当業者は、本発明の組成物を不安定にすることなく、またはその治療活性を損なうことなく、特定の投与経路に対する多数の配合物を提供するために本明細書の教示の範囲に含まれる配合物を改変することができる。具体的には、例えば、水または他のビヒクルにおける安定性をより大きくするために、所望する化合物の修飾を、日常的な修飾(塩の形成、エステル化など)によって容易に達成することができる。

30

【0106】

いくつかの薬学的投薬形態において、化合物のプロドラッグ形態が好ましく、これには、特に、本発明の化合物のアシル化誘導体(アセチル化誘導体など)およびエーテル誘導体、リン酸エステルおよび様々な塩形態が含まれる。当業者は、宿主生物または患者における標的化部位への活性化化合物の送達を促進するために、本発明の化合物をプロドラッグ形態に容易に修飾する方法を理解する。当業者はまた、適用可能な場合には、D型肝炎感染の処置において化合物の意図された作用を最大限にするために、所望する化合物を宿主生物または患者における標的化部位に送達する際にプロドラッグ形態の有利な薬物動態学的パラメーターを利用する。

40

【0107】

治療活性な配合物に含まれる化合物の量は、本発明によれば、感染または状態を処置する

50

ために効果的な量であり、好ましい実施形態ではD型肝炎の感染を処置するために効果的な量である。一般に、薬学投薬形態における本発明の化合物の治療効果的な量は、使用される化合物、処置される状態または感染、および投与経路に依存して、通常的には約0.1 mg/kg ~ 約100 mg/kg以上の範囲である。本発明のためには、組成物の予防的または防止的に効果的な量は、本発明によれば、治療効果的な量について上記に示されたのと同じ濃度範囲に含まれ、通常的には治療効果的な量と同じである。

【0108】

活性な化合物の投与は、連続的（静脈内点滴）から1日あたり数回（例えば、1日4回、1日2回など）の経口投与まで変化させることができ、そして他の投与経路の中でも、経口投与、局所投与、非経口投与、筋肉内投与、静脈内投与、皮下投与、経皮的投与（浸透強化剤を含む場合がある）、口内投与および坐薬投与を含み得る。腸溶性コーティングが施された経口錠剤もまた、経口投与経路からの化合物の生物利用性および安定性を高めるために使用することができる。最も効果的な投薬形態は、患者における疾患の重篤度だけでなく、選ばれた特定の薬剤の薬物動態学に依存する。投与が容易であり、そして患者が指示に従いやすいことが期待されるので、経口投薬形態が特に好ましい。

10

【0109】

本発明による薬学的組成物を調製するために、治療効果的な量の1つまたは複数の本発明による化合物が好ましくは、服用量を製造するための従来の製薬配合技術に従って、医薬として許容されるキャリアと混合される。キャリアは、投与（例えば、経口または非経口）のために所望される調製物の形態に依存して広範囲の形態を取ることができる。経口投薬形態の薬学的組成物を調製する際、通常の薬学的媒体はいずれも使用することができる。例えば、懸濁物、エリキシル剤および溶液剤などの液体の経口調製物の場合、水、グリコール、オイル、アルコール、矯味矯臭剤、保存剤、着色剤などを含む好適なキャリアおよび添加剤を使用することができる。粉末剤、錠剤、カプセルなどの固体の経口調製物の場合、そして坐薬などの固体の調製物の場合、デンプン、糖キャリア（デキストロース、マンニトール、ラクトースおよび関連するキャリアなど）、希釈剤、造粒化剤、滑剤、結合剤、崩壊剤などを含む好適なキャリアおよび添加剤を使用することができる。所望する場合には、錠剤またはカプセルは、標準的な技術によって、持続した放出のために腸溶性コーティングすることができる。これらの投薬形態の使用は患者における化合物の生物利用性に著しい影響を与え得る。

20

30

【0110】

非経口配合物の場合、キャリアは、通常、滅菌された水または塩化ナトリウム水溶液を含むが、分散補助成分などの他の成分もまた使用することができる。滅菌水が使用され、無菌として維持される場合、組成物およびキャリアもまた滅菌されなければならない。注射可能な懸濁物もまた調製することができ、そのような懸濁物が調製される場合、適切な液体のキャリア、懸濁剤などを用いることができる。

【0111】

リボソーム懸濁物（ウイルス抗原に対して標的化されたりボソームを含む）もまた、医薬として許容されるキャリアを製造するための従来の方法によって調製することができる。これは、本発明によるヌクレオシド化合物の遊離ヌクレオシド、アシルヌクレオシドまたはリン酸エステルプロドラッグ形態を送達するためには適切であり得る。

40

【0112】

本発明による特に好ましい実施形態において、本発明の化合物および組成物は、D型肝炎感染症を処置し、またはその発症を防止し、またはその発症を遅延させるために使用される。好ましくは、D型肝炎感染症を処置し、またはその発症を防止し、またはその発症を遅延させるために、組成物は、約250マイクログラムから約1グラム以上までの範囲の量で、1日に少なくとも1回、または好ましくは1日に4回までで、経口投薬形態で投与される。本発明の化合物は、好ましくは経口投与されるが、非経口的に、局所的に、または坐薬形態で投与することができる。

【0113】

50

本発明による化合物は、いくつかの場合には宿主細胞に対するその毒性が低いため、D型肝炎の感染を防止するために、またはウイルス感染に付随する臨床的症状の発生を防止するために好都合には予防的に用いることができる。したがって、本発明はまた、ウイルス感染（特にD型肝炎の感染）を予防的に処置するための方法を包含する。この態様において、本発明によれば、本発明の組成物が、D型肝炎の感染の発症を防止または遅延させるために使用される。この予防方法は、そのような処置を必要とする患者に、またはHDV疾患を発症する危険性を有する患者に、ウイルス感染の発症を緩和または防止または遅延させるために効果的な量の本発明による化合物を投与することを含む。本発明による予防的処置では、利用される抗ウイルス性化合物は患者に対して毒性が低く、好ましくは毒性がないことが好ましい。本発明のこの態様では、使用される化合物が、ウイルスに対して最大限に効果的であり、かつ患者に対する最小限の毒性を示すことが特に好ましい。このような疾患状態を処置するために使用され得る本発明による化合物は、D型肝炎の感染の増殖を防止するか、あるいは臨床的症候を発現するD型肝炎感染の発症を引き延ばすための予防剤として、治療的処置の場合と同じ範囲内で投与することができる（すなわち、経口投薬形態については約250マイクログラムから約1グラム以上、1日あたり1回から4回）。

10

【0114】

さらに、本発明による化合物は、本発明の他の化合物を含んで、1つまたは複数の抗ウイルス剤、抗HBV剤、抗HCV剤、抗HDV剤もしくは抗ヘルペス剤またはインターフェロン、抗ガン剤もしくは抗菌剤と組み合わせて、またはそれらと交互に投与することができる。本発明によるいくつかの化合物は、他の化合物の代謝、異化作用または不活性化を低下させることによって本発明によるいくつかの薬剤の生物学的活性を高めることに対して効果的であることがあり、そのため、この意図された作用のために同時に投与される。

20

【0115】

組合せ療法または交互療法

肝炎ウイルスの薬物耐性変化体が抗ウイルス剤による長期間の処置の後に出現し得ることが認識されている。D型肝炎ウイルスの生活環におけるB型肝炎ウイルスの役割は不可欠であるため、抗B型肝炎ウイルス活性を有する化合物を、開示された-2'-L-デオキシヌクレオシド、その医薬として許容される塩またはプロドラッグと組み合わせて、またはそれらと交互に投与することができる。薬物耐性は、最も典型的には、ウイルス生活環において使用される酵素をコードする遺伝子に変異することによって生じ、HBVの場合には、最も典型的にはDNAポリメラーゼの変異によって生じる。近年、HBV感染に対する薬物の効力が、主成分の薬剤によって引き起こされる変異とは異なる変異を誘導する第2の抗ウイルス化合物および場合によっては第3の抗ウイルス化合物と組み合わせて、またはそれらと交互に化合物を投与することによって持続または増強または回復し得ることが明らかにされている。あるいは、薬物の薬物動態学、生物分布または他のパラメータをそのような組合せ療法または交互療法によって変化させることができる。一般に、組合せ療法は典型的には、ウイルスに対して多重の同時ストレスが誘導されるために交互療法よりも好ましい。

30

【0116】

-L-2'-dA、-L-2'-dC、-L-2'-dU、-L-2'-dG、
-L-2'-dT、-L-dI、または本明細書中に示される他の-L-2'-ヌクレオシド、またはこれらの化合物のプロドラッグ、リン酸もしくは塩の抗D型肝炎ウイルス活性は、2つ以上のこれらのヌクレオシドを組合せまたは交互で投与することによって高めることができる。あるいは、例えば、1つまたは複数の-L-2'-dA、-L-2'-dC、-L-2'-dU、-L-2'-dG、-L-2'-dT、-L-dI、または本明細書中に示される他の-L-2'-ヌクレオシドを、3TC、FTC、L-FMAU、DAPD、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、ガンシクロビルまたはリバビリンと組み合わせて、またはそれらと交互に投与することができる。

40

50

【0117】

本明細書中に記載される実施形態のいずれにおいても、本発明の - L - 2' -ヌクレオシドは、活性な形態にリン酸化される第2のヌクレオシド系ポリメラーゼ阻害剤または非ヌクレオシド系ポリメラーゼ阻害剤と組み合わせて、またはそれらと交互に投与されるならば、選択された本発明の - L - 2' -ヌクレオシドをインピボでリン酸化する酵素とは異なる酵素によって第2の化合物がリン酸化されることが好ましい。キナーゼ酵素の例には、チミジンキナーゼ、シトシンキナーゼ、グアノシンキナーゼ、アデノシンキナーゼ、デオキシチジンキナーゼ、5' -ヌクレオチダーゼおよびデオキシグアノシンキナーゼがある。

【0118】

活性な化合物の調製

本発明の 2' -デオキシ - - L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド誘導体はこの分野では知られており、Holy (Collect Czech Chem Commun、1972、37(12)、4072~87; および Mol Phys、1967、3(4)、386~95) によって開示される方法に従って調製することができる。

【0119】

- L - エリスロ - ペントフラノヌクレオシド (- L - dN) を得るための一般的なプロセスが、出発物質として L - リボースまたは L - キシロースを使用して、図1に示される。

【0120】

活性なヌクレオシドの一リン酸誘導体、二リン酸誘導体および三リン酸誘導体を、発表された方法に従って記載される通りにして調製することができる。一リン酸は、Imai他 (J Org Chem、1969、34(6)、1547~1550) の手順に従って調製することができる。二リン酸は、Davissou他 (J Org Chem、1987、52(9)、1794~1801) の手順に従って調製することができる。三リン酸は、Hoard他 (J Am Chem Soc、1965、87(8)、1785~1788) の手順に従って調製することができる。

【0121】

実施例

実験プロトコル

融点は、封じていない毛細管で Gallenkamp MFB - 595 - 010M 装置において測定されたが、未補正值である。UV吸収スペクトルは Uvikon 931 (KONTRON) 分光光度計でエタノール中で測定された。¹H-NMRスペクトルは、Bruker AC250分光計または400分光計を用いてDMSO-d₆中で室温において測定された。ケミカルシフトはppm単位で示され、DMSO-d₅が基準として2.49ppmに設定されている。重水素交換、デカップリング実験または2D-COSYを行い、プロトンの帰属を確認した。シグナル多重度は、s(一重)、d(二重)、dd(二重の二重)、t(三重)、q(四重)、br(広い)、m(多重)によって表される。すべてのJ値はHz単位である。FAB質量スペクトルはJEOL DX300質量分析計において陽イオンモード(FAB>0)または負イオンモード(FAB<0)で記録された。マトリックスは3-ニトロベンジルアルコール(NBA)、またはグリセロールとチオグリセロール(GT)との混合物(50:50、v/v)であった。比旋光度はPerkin-Elmer 241分光旋光計(光路長:1cm)で測定され、10⁻¹ deg cm² g⁻¹の単位で示される。元素分析は「Service de Microanalyses du CNRS, Division de Vernaison」(フランス)によって行われた。元素記号または官能基によって示される分析は理論値の±0.4%以内であった。薄層クロマトグラフィーはシリカゲル60F₂₅₄(Merck、製品番号5554)のプレコーティングされたアルミニウムシートで行われ、生成物の可視化が、10%のエタノール性硫酸および加熱による炭化後のUV吸収性によって行われた。カラムクロマトグラフィーは、大気圧下、シリカゲル60(Merck、製品番号

10

20

30

40

50

9385)で行われた。

【0122】

実施例1 9-(3,5-ジ-O-ベンゾイル-L-キシロフラノシル)アデニン(3)

9-(2-O-アセチル-3,5-ジ-O-ベンゾイル-L-キシロフラノシル)アデニン2 [参考文献: Gosselin, G., Bergogne, M.-C., Imbach, J.-L., 「5個の天然に存在する核酸塩基の-L-キシロフラノシルヌクレオシドの合成および抗ウイルス評価」、Journal of Heterocyclic Chemistry、1993、30、1229~1233] (8.30g、16.05mmol) および98%ヒドラジン水和物(234mL、48.5mmol)をピリジン/氷酢酸の混合物(4/1、v/v、170mL)に含む溶液を室温で22時間攪拌した。反応を、アセトン(40mL)を加えることによって停止させ、攪拌をさらに1時間続けた。反応混合物を、その容量を半分にして、水(250mL)で希釈し、ククロホルムで抽出した(150mLで2回)。有機層をNaHCO₃飽和水溶液(100mLで3回)および水(100mLで3回)で順に洗浄し、乾燥し、ろ過して、濃縮し、そしてトルエンおよびメタノールと同時に蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(0~3% MeOH/ジクロロメタン)によって精製して、3を、ジイソプロピルエーテルから析出させて得た(5.2g、68%)：¹H NMR(DMSO-d₆)：4.5~4.9(m, 4H, H-2', H-4', H-5' および H-5''), 5.64(t, 1H, H-3', J_{2',3'} = J_{3',4'} = 3.5 Hz)、6.3(br s, 1H, OH-2')、6.45(d, 1H, H-1', J_{1',2'} = 4.6 Hz)、7.3(br s, 2H, NH₂-6)、7.4~7.9(m, 10H, 2 ベンゾイル)、8.07 および 8.34(2s, 2H, H-2 および H-8)；ms：マトリックス G/T、(FAB⁺) m/z 476 [M+H]⁺、136 [BH₂]⁺、(FAB⁻) m/z 474 [M-H]⁻、134 [B]⁻；UV(95% エタノール)：m_{ax} 257nm(16400)、230nm(29300)、m_{in} 246nm(14800)；[α]_D²⁰ = -64(c 1.07, CHCl₃)。元素分析 C₂₄H₂₁N₅O₄ (M = 475.45)の計算値：C, 60.43；H, 4.45；N, 14.73。実測値：C, 60.41；H, 4.68；N, 14.27。

【0123】

実施例2 9-(3,5-ジ-O-ベンゾイル-2-デオキシ-L-threo-ペントフラノシル)アデニン(4)

化合物3(1.00g、2.11mmol)を含む乾燥アセトニトリル(65mL)の溶液に4-(ジメチルアミノ)ピリジン(0.77g、6.32mmol)およびフェノキシチオカルボニル塩化物(0.44mL、3.16mmol)を加えた。混合物を室温で2時間攪拌した。濃縮後、残渣をジクロロメタン(50mL)に溶解して、水(30mLで2回)および0.5N塩酸水溶液(30mL)および水(30mLで3回)で順に洗浄した。有機層を乾燥し、ろ過して、濃縮乾固した。粗製のチオカルボニル化中間体を、乾燥ジオキサン(17mL)中で2時間還流しながら、トリス(トリメチルシリル)シラン水素化物(0.78mL、5.23mmol)および、'-アゾイソブチロニトリル(AIBN、0.112g、0.69mmol)で直接処理した。溶媒を減圧下で除き、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィ(0~5% MeOH/ジクロロメタン)によって精製して、純粋な4を泡状物として得た(0.93g、96%)：¹H NMR(DMSO-d₆)：2.9~3.1(m, 2H, H-2' および H-2''), 4.6~4.7(m, 3H, H-4', H-5' および H-5''), 5.8(br s, 1H, H-3')、6.43(dd, 1H, H-1', J_{1',2'} = 3.1 Hz, J_{1',2''} = 7.6 Hz)、7.3(br s, 2H, NH₂-6)、7.4~7.9(m, 10H, 2 ベンゾイル)、8.05 および 8.33(2s, 2H, H-2 および H-8)；ms：マトリックス G/T、(FAB⁺) m/z 460 [M+H]⁺、325 [S]⁺、136 [BH₂]⁺、(FAB⁻) m/z 458 [M-H]⁻、134 [B]⁻；UV

(95% エタノール) : m_{ax} 261 nm (14400)、231 nm (26300)、 m_{in} 249 nm (12000) ; $[\alpha]_D^{20} = -38$ (c 1.04, DMSO)。

【0124】

実施例3 6-N-(4-モノメトキシトリチル)-9-(3,5-ジ-O-ベンゾイル-2-デオキシ-L-threo-ペントフラノシル)アデニン(5)

化合物4(0.88g、1.92mmol)を含む乾燥ピリジン(40mL)の溶液に4-モノメトキシトリチル塩化物(1.18g、3.84mmol)を加えた。混合物を60で24時間攪拌した。メタノール(5mL)を添加した後、溶液を濃縮乾固して、残渣をジクロロメタン(50mL)に溶解し、水(30mL)およびNaHCO₃飽和水溶液(30mL)および水(30mL)で順に洗浄した。有機層を乾燥し、ろ過し、濃縮して、トルエンと同時に蒸発させ、純粋な5を泡状物として得た(1.01g、72%) : ¹H NMR(CDCl₃) : 2.9~3.0(m, 2H, H-2'およびH-2'')、3.62(s, 3H, OCH₃)、4.6~4.8(m, 3H, H-4', H-5'およびH-5'')、5.85(pt, 1H, H-3')、6.44(dd, 1H, H-1', J_{1',2'} = 3.1 Hz, J_{1',2''} = 7.3 Hz)、6.9(br s, 1H, NH-6)、6.7~6.8および7.2~7.4(2m, 24H, 2ベンゾイルおよびMMTr)、7.97および8.13(2s, 2H, H-2およびH-8) ; ms : マトリックス G/T、(FAB⁺) m/z 732 [M+H]⁺、(FAB⁻) m/z 730 [M-H]⁻ ; UV(95% エタノール) : m_{ax} 274 nm (12100)、225 nm (24200)、 m_{in} 250 nm (5900) ; $[\alpha]_D^{20} = -16$ (c 1.12, DMSO)。

【0125】

実施例4 6-N-(4-モノメトキシトリチル)-9-(2-デオキシ-L-threo-ペントフラノシル)アデニン(6)

化合物5(0.95g、1.30mmol)を(-10で飽和させた)メタノール性アンモニアの溶液(40mL)で室温で一晩処理した。濃縮後、残渣をジクロロメタン(60mL)に溶解し、水(30mL)で洗浄した。水層をジクロロメタン(10mL)で2回抽出した。有機層を一緒にして、乾燥し、ろ過して、濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(0~5% MeOH/ジクロロメタン)によって精製して、純粋な6を泡状物として得た(0.67g、98%) : ¹H NMR(CDCl₃) : 2.6~2.9(m, 2H, H-2'およびH-2'')、3.5(br s, 1H, OH-5')、3.55(s, 3H, OCH₃)、3.9~4.0(m, 3H, H-4', H-5'およびH-5'')、4.5~4.6(m, 1H, H-3')、6.03(dd, 1H, H-1', J_{1',2'} = 4.0 Hz, J_{1',2''} = 8.8 Hz)、7.0(br s, 1H, NH-6)、6.7~6.8および7.1~7.4(2m, 14H, MMTr)、7.40(d, 1H, OH-3', J_{H,OH} = 10.6 Hz)、7.80および7.99(2s, 2H, H-2およびH-8) ; ms : マトリックス G/T、(FAB⁺) m/z 524 [M+H]⁺、408 [BH₂]⁺、(FAB⁻) m/z 1045 [2M-H]⁻、522 [M-H]⁻、406 [B]⁻ ; UV(95% エタノール) : m_{ax} 275 nm (12300)、 m_{in} 247 nm (3600) ; $[\alpha]_D^{20} = +28$ (c 0.94, DMSO)。

【0126】

実施例5 6-N-(4-モノメトキシトリチル)-9-(2-デオキシ-5-O-(4-モノメトキシトリチル)-L-threo-ペントフラノシル)アデニン(7)

化合物6(0.62g、1.24mmol)を、乾燥ピリジン(25mL)中で、4-モノメトキシトリチル塩化物(0.46g、1.49mmol)で室温で16時間処理した。メタノール(5mL)を添加した後、混合物を濃縮乾固した。残渣をジクロロメタン(60mL)に溶解し、水(40mL)およびNaHCO₃飽和水溶液(40mL)および水(40mLで3回)で順に洗浄した。有機層を乾燥し、ろ過し、濃縮して、トルエンお

よびメタノールと同時に蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（0～10% MeOH / ジクロロメタン）によって精製し、純粋な7を泡状物として得た（0.71 g、72%）：¹H NMR（DMSO-d₆）：2.21（d, 1H, H-2', J_{2', 2''} = 14.3 Hz）、2.6～2.7（m, 1H, H-2''）、3.1～3.3（2m, 2H, H-5' および H-5''）、3.64 および 3.65（2s, 6H, 2 × OCH₃）、4.1～4.2（m, 1H, H-4'）、4.2～4.3（m, 1H, H-3'）、5.68（d, 1H, OH-3', J_{H, OH} = 5.2 Hz）、6.24（d, 1H, H-1', J_{1', 2''} = 7.0 Hz）、6.7～6.8 および 7.1～7.3（2m, 2H, 2 MMTr および NH-6）、7.83 および 8.21（2s, 2H, H-2 および H-8）；ms：マトリックス G/T、(FAB⁺) m/z 796 [M+H]⁺、408 [BH₂]⁺、(FAB⁻) m/z 794 [M-H]⁻、406 [B]⁻；UV（95% エタノール）：m_{ax} 275 nm（30900）、m_{in} 246 nm（12800）；[α]_D²⁰ = +14（c 1.03, DMSO）。

【0127】

実施例6 6-N-(4-モノメトキシトリチル)-9-(3-O-ベンゾイル-2-デオキシ-5-O-(4-モノメトキシトリチル)-L-エリスロ-ペントフラノシル)アデニン(8)

ジエチルアゾジカルボキシラート（0.38 mL、2.49 mmol）を含む乾燥テトラヒドロフラン（20 mL）の溶液を、ヌクレオシド7（0.66 g、0.83 mmol）、トリフェニルホスフィン（0.66 g、2.49 mmol）および安息香酸（0.30 g、2.49 mmol）を含む乾燥THF（20 mL）の冷却した溶液（0℃）に滴下して加えた。混合物を室温で18時間攪拌して、メタノール（1 mL）を加えた。溶媒を減圧下で除き、粗製物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（0～5% 酢酸エチル / ジクロロメタン）によって精製して、トリフェニルホスフィンオキシドをわずかに含有する化合物8を得た。

【0128】

実施例7 6-N-(4-モノメトキシトリチル)-9-(2-デオキシ-5-O-(4-モノメトキシトリチル)-L-エリスロ-ペントフラノシル)アデニン(9)

化合物8を、(-10℃で飽和させた)メタノール性アンモニアの溶液（20 mL）によって室温で24時間処理し、その後、反応混合物を濃縮乾固した。残渣をジクロロメタン（30 mL）に溶解し、水（20 mL）で洗浄した。水層をジクロロメタン（20 mLで2回）で抽出し、一緒にした有機相を乾燥し、ろ過し、濃縮した。純粋な化合物9（0.50 g、7から76%）を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー（0～2% MeOH / ジクロロメタン）による精製の後に泡状物として得た：¹H NMR（DMSO-d₆）：2.2～2.3（m, 1H, H-2'）、2.8～2.9（m, 1H, H-2''）、3.1～3.2（m, 2H, H-5' および H-5''）、3.64 および 3.65（2s, 6H, 2 × OCH₃）、3.97（pq, 1H, H-4'）、4.4～4.5（m, 1H, H-3'）、5.36（d, 1H, OH-3', J_{H, OH} = 4.5 Hz）、6.34（t, 1H, H-1', J_{1', 2''} = J_{1', 2''} = 6.4 Hz）、6.8～6.9 および 7.1～7.4（2m, 2H, 2 MMTr および NH-6）、7.81 および 8.32（2s, 2H, H-2 および H-8）；ms：マトリックス G/T、(FAB⁺) m/z 796 [M+H]⁺、408 [BH₂]⁺、(FAB⁻) m/z 794 [MH]⁻、406 [B]⁻；UV（95% エタノール）：m_{ax} 276 nm（42600）、m_{in} 248 nm（23300）；[α]_D²⁰ = +29（c 1.05, DMSO）。

【0129】

実施例8 2'-デオキシ-L-アデノシン(-L-dA)

化合物9（0.44 g、0.56 mmol）を80% 酢酸水溶液（17 mL）で室温において5時間処理した。混合物を濃縮乾固して、残渣を水（20 mL）に溶解し、ジエチル

エーテルで洗浄した(15 mLで2回)。水層を濃縮して、トルエンおよびメタノールと同時に蒸発させた。所望する2'-デオキシ-L-アデノシン(L-dA)(0.12 g、83%)を、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(0~12% MeOH/ジクロロメタン)による精製およびMillex HV-4ユニット(0.45 μ、Millipore)によるろ過の後に得た：mp 193~194 (水からの結晶化物)(文献値：184~185 (L-エナンチオマー)[参考文献：Robins, M. J.、Khawaja, T. A.、Robins, R. K.、J Org Chem、1970、35、636~639]および187~189 (D-エナンチオマー)[参考文献：Ness, R. K.、Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry; Zorbach, W. W.、Tipson, R. S. 編、J. Wiley and sons、New York、1968、第1巻、183~187]; ¹H NMR(DMSO-d₆): 2.2~2.3および2.6~2.7(2m, 2H, H-2'およびH-2''), 3.4~3.6(2m, 2H, H-5'およびH-5''), 3.86(pq, 1H, H-4'), 4.3~4.4(m, 1H, H-3'), 5.24(t, 1H, OH-5', J_{H, OH} = 5.8 Hz)、5.30(d, 1H, OH-3', J_{H, OH} = 4.0 Hz)、6.32(dd, 1H, H-1', J_{1, 2'} = 6.2 Hz, J_{1, 2''} = 7.8 Hz)、7.3(br s, 2H, NH₂-6)、8.11および8.32(2s, 2H, H-2およびH-8); ms: マトリックス G/T、(FAB⁺) m/z 252 [M+H]⁺、136 [BH₂]⁺、(FAB⁻) m/z 250 [M-H]⁻、134 [B]⁻; UV(95% エタノール): m_{max} 258 nm(14300)、m_{min} 226 nm(2100); [α]_D²⁰ = +25(c 1.03, H₂O)、(Lit. [α]_D²⁰ = +23(c 1.0, H₂O))(文献値:[α]_D²⁰ = +23(c 1.0, H₂O))(L-エナンチオマー)[参考文献：Robins, M. J.、Khawaja, T. A.、Robins, R. K.、J Org Chem、1970、35、636~639]および[α]_D²⁰ = -25(c 0.47, H₂O))(D-エナンチオマー)[参考文献：Ness, R. K.、Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry; Zorbach, W. W.、Tipson, R. S. 編、J. Wiley and sons、New York、1968、第1巻、183~187]。元素分析、計算値：C₁₀H₁₃N₅O₃ + 1.5 H₂O (M = 278.28): C、43.16; H、5.80; N、25.17。実測値：C、43.63; H、5.45; N、25.33。

【0130】

実施例9 1-O-アセチル-2,3,5-トリ-O-ベンゾイル-L-リボフラノース(143)

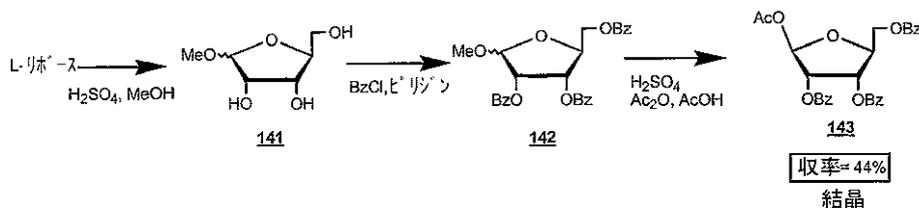
スキーム1に示されるように、L-リボース140(150 g、1 mol; Cultor Science Food、CAS [24259-59-4]、バッチRIB9711013)を含むメタノール(2リットル、P. A. Pro labo; 参照番号20847.295)の溶液を95%~97%の硫酸(12 mL; Merck; 参照番号1.00731.1000)で処理して、+4 で12時間放置し、その後、ピリジン(180 mL; 99% Acros; 参照番号131780025)で中和した。留去により、メチルリボフラノシド141の混合物をシロップとして得た。このアノマー混合物を含むピリジン(1.3リットル)の溶液を、冷却および機械的攪拌を行いながら塩化ベンゾイル(580 mL、5 mol; Fluka; 参照番号12930)で処理した。溶液を室温で12時間放置し、その後、絶えず攪拌しながら氷(約10リットル)に注いだ。混合物(水中のオイル)をセライト床でろ過した。セライト床上の得られたオイルを水(3リットルで3回)で洗浄し、その後、酢酸エチル(3リットル)を用いて溶解させた。有機相を5% NaHCO₃ 溶液(2リットル)および水(2リットル)で洗浄し、硫酸ナトリウム(Pro labo; 参照番号28111.365)で乾燥し、ろ過し、蒸発させて、1-O-メチル-2,3,5-トリ-O-ベンゾイル-L-リボフラノース142

を濃厚なシロップとして得た。このオイルを無水酢酸 (560 mL; Fluka; 参照番号 45830) および酢酸 (240 mL; P. A. Carlo erba; 参照番号 20104298) に溶解した。溶液を、濃硫酸 (80 mL) に滴下して加えた後、機械的に攪拌しながら低温 (+4) で 10 時間保った。その後、溶液を連続的な攪拌下で氷 (約 10 リットル) に注いだ。混合物 (水中の油状化合物) をセライト床上でろ過した。セライト床上の得られたガム状固体を、水 (3 リットルで 3 回) で洗浄した後、ジクロロメタン (2.5 リットル; P. A. Merck; 参照番号 1.06050.6025) に溶解した。有機相を 5% NaHCO₃ 溶液 (1 リットル) および水 (2 リットルで 2 回) で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、ろ過し、蒸発させて、ガム状固体 143 を得た。これをエタノール 95 (Prolabo; 参照番号 20823.293) から結晶化して、22.5 g の生成物 (44%) を得た: mp 129 ~ 130 (EtOH 95) (Recondo, E. F. および Rinderknecht, H. (「1-O-アセチル-2,3,5-トリ-O-D-リボフラノシドの新しい容易な合成」、Helv. Chim. Acta, 1959, 1171 ~ 1173) によって報告される文献参考値は 130 ~ 131 の mp を示している); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): 8.09 ~ 7.87 (m, 6H, H_{Aro}), 7.62 ~ 7.31 (m, 9H, H_{Aro}) 6.43 (s, 1H, H₁), 5.91 (dd, 1H, H₃, J_{3,4} 6.7 Hz; J_{3,2} 4.9 Hz), 5.79 (pd, 1H, H₂, J_{2,3} 4.9 Hz; J_{1,2} < 1), 4.78 (m, 2H, H₄ および H₅), 4.51 (dd, 1H, H₅, J_{5,5'} 13.1 Hz; J_{5',4} 5.5 Hz), 2.00 (s, 3H, CH₃CO); (市販の 1-O-アセチル-2,3,5-トリ-O-ベンゾイル-D-リボフラノースと同一)、質量分析 (FAB⁺, GT) m/z 445 (M-OAc)⁺、元素分析 C₂₈H₂₄O₉、計算値 C 66.66、H 4.79; 実測値 C、H。

【0131】

【化50】

スキーム 1:



30

【0132】

実施例 10 - L-アデノシン (145)
 スキーム 2 に示されるように、アデニン (19.6 g、144 mmol; Pharma-Waldhof; 参照番号 400134.001、ロット 45276800) をアセトニトリル (400 mL; Riedel-de Hean; 参照番号 33019; CaH₂ 上で蒸留) に 1-O-アセチル-2,3,5-トリ-O-ベンゾイル-L-リボフラノース 143 (60 g、119 mmol) とともに懸濁した。この懸濁物に発煙塩化第二スズ (22 mL、187 mmol; Fluka; 参照番号 96558) を加えた。12 時間後、反応物を小容量 (約 100 mL) に濃縮して、重炭酸ナトリウム (110 g) および水 (120 mL) を加えた。得られた白色固体 (スズ塩) を熱クロロホルムで抽出した (200 mL で 5 回; Acros; 参照番号 22706463)。抽出液を一緒にしてセライト床でろ過した。有機相を 5% NaHCO₃ 溶液および水で洗浄し、硫酸ナトリウム (Prolabo; 参照番号 28111.365) で乾燥し、ろ過し、蒸発させて、化合物 144 (60 g、無色の泡状物) を得た。泡状物を、攪拌下、室温で、密閉容器においてアンモニア飽和メタノール (220 mL) で 4 日間処理した。溶媒を減圧下で蒸発させ、得られた粉末を酢酸エチル (400 mL; Carlo erba; 参照番号 528299) に 1 時間還流しながら懸濁した。ろ過後、粉末を水 (220 mL) から再結晶化して、

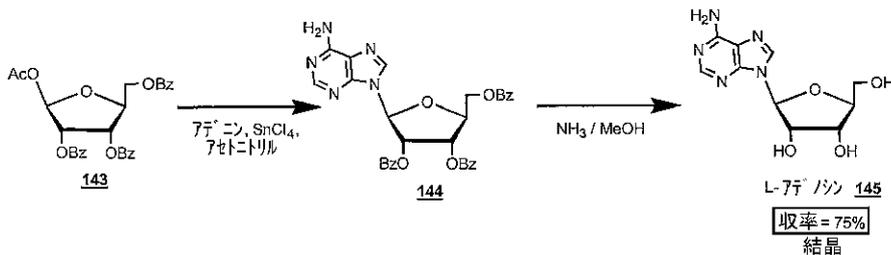
50

L-アデノシン 145 (24 g、結晶、75%) を得た: mp 233 ~ 234 (Saneyoshi, M. および Satoh, E. (「合成ヌクレオシドおよび合成ヌクレオチド. XIII. いくつかの 6-置換プリン塩化第二スズ触媒によるリボシル化」、Chem Pharm Bull、1979、27、2518 ~ 2521); Nakayama, C. および Saneyoshi, M. (「合成ヌクレオシドおよび合成ヌクレオチド. XX. 様々な 1-キシロフラノシル-5-アルキルウラシルおよび関連ヌクレオシドの合成」、Nucleosides Nucleotides、1982、1、139 ~ 146) は 235 ~ 238 の mp を報告している); $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, DMSO- D_6): 8.34 および 8.12 (2s, 2H, H_2 および H_8)、7.37 (1s, 2H, NH_2)、5.86 (d, 1H, $\text{H}_{1'}$, $J_{1',2'} = 6.2\text{ Hz}$)、5.43 (m, 2H, OH_2' および OH_5')、5.19 (d, 1H, OH_3' , $J_{3',4'} = 3.7\text{ Hz}$)、4.60 (m, H_2')、4.13 (m, 1H, H_3')、3.94 (m, 1H, H_4')、3.69 ~ 3.49 (m, 2H, $\text{H}_{5'a}$ および $\text{H}_{5'b}$)、(市販の D-アデノシンと同一); 質量分析 (FAB+, GT) m/z 268 ($\text{M} + \text{H}$)⁺、136 (BH_2)⁺。

【0133】

【化51】

スキーム 2:



【0134】

実施例 11 3', 5'-O-(1, 1, 3, 3-テトライソプロピル-1, 3-ジシロキサニル)-L-アデノシン (146)

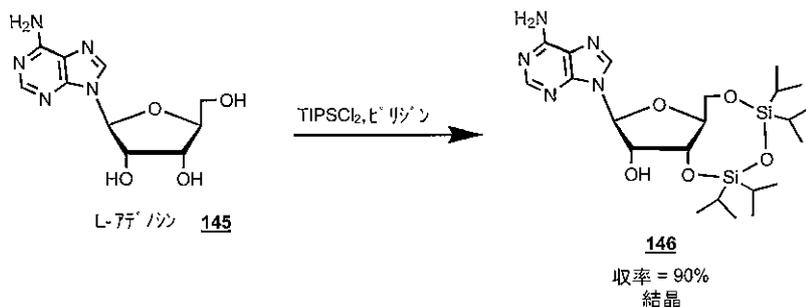
スキーム 3 に示されるように、L-アデノシン 145 (47.2 g、177 mmol) をピリジン (320 mL; 99%、Acros から入手; 参照番号 131780025) に懸濁して、1, 3-ジクロロ-1, 1, 3, 3-テトライソプロピルジシロキサン (63 mL、201 mmol; Fluka; 参照番号 36520) を加え、混合物を室温で 12 時間攪拌した。ピリジンを蒸発させ、残渣を、酢酸エチル (1 L; Carlo erba; 参照番号 528299) および 5% NaHCO_3 溶液 (600 mL) を用いて分配した。有機相を 0.5 N の HCl 溶液 (500 mL で 2 回) および水 (500 mL) で洗浄し、硫酸ナトリウム (Prolabo; 参照番号 28111.365) で乾燥し、ろ過し、濃縮乾固した。得られた固体をアセトニトリル (Riedel-de Haen; 参照番号 33019) から結晶化して、化合物 146 (81 g、90%) を得た: mp 97 ~ 98 (Robins, M. J. 他 (「核酸関連化合物. 42. 二級アルコールを効率的に脱酸素化する一般的手法. リボヌクレオシドの 2'-デオキシヌクレオシドへの位置特異的および立体選択的な変換」、J Am Chem Soc、1983、105、4059 ~ 4065) は D-エナンチオマーについて 98 の mp を報告している); $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): 8.28 および 7.95 (2s, 2H, H_2 および H_8)、5.96 (d, 1H, $J_{1',2'} = 1, 1\text{ Hz}$)、5.63 (s, 2H, NH_2)、5.10 (dd, 1H, $\text{H}_{3'}$, $J_{3',4'} = 7.6\text{ Hz}$, $J_{3',2'} = 5.5\text{ Hz}$)、4.57 (dd, 1H, $\text{H}_{2'}$, $J_{2',1'} = 1.2\text{ Hz}$; $J_{2',3'} = 7.6\text{ Hz}$)、4.15 ~ 3.99 (m, 3H, $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{5'a}$ および $\text{H}_{5'b}$) 3.31 (s, 1H, OH_2')、1.06 (m, 28H, イソプロピルのプロトン); 質量分析 (FAB-, GT) m/z 508 ($\text{M} - \text{H}$)⁻、134 (B)⁻; (FAB+ 30

, GT) m/z 510 (M+H)⁺、136 (BH₂)⁺。

【0135】

【化52】

スキーム3:



10

【0136】

実施例12 3', 5'-O-(1, 1, 3, 3-テトライソプロピル-1, 3-ジシロキサニル)-2'-デオキシ-L-アデノシン(148)

スキーム4に示されるように、化合物146(34g、67mmol)にアセトニトリル(280mL; Riedel-de Haen; 参照番号33019)、DMA P(16.5g、135mmol; 99%、Acrosから入手; 参照番号1482702050)およびフェニルクロロチオカーボナート(10.2mL、73mmol; 99%、Acrosから入手; 参照番号215490050)を加えた。溶液を室温で12時間撹拌した。溶媒を蒸発させ、残渣を、酢酸エチル(400mL; Carlo Erba; 参照番号528299)および0.5NのHCl溶液(400mL)を用いて分配した。有機相を0.5NのHCl溶液(400mL)および水(400mLで2回)で洗浄し、硫酸ナトリウム(Prolabo; 参照番号28111.365)で乾燥し、ろ過し、濃縮乾固して、中間体を淡黄色の固体として得た。この粗製物147をジオキサニル(Merck; 参照番号1.09671.1000)に溶解して、AIBN(3.3g、20mmol; , ' -アゾイソブチロニトリル、Flukaから入手、参照番号11630)およびTTMSS(33mL、107mmol; トリス(トリメチルシリル)シラン、Flukaから入手; 参照番号93411)を加えた。溶液を徐々に加熱して還流させ、2時間撹拌した。反応物を濃縮して黄色のオイルにし、これをクロマトグラフィー処理(溶出液、ジクロロメタン(Merck; 参照番号1.06050.6025):メタノール(Carlo Erba; 参照番号309002)の95:5)して、化合物148(23g、無色の泡状物、70%)を得た。一部をエタノール/石油エーテルから結晶化した: mp 110~111 (Robins, M. J., Wilson, J. S. および Hansske, F., 「核酸関連化合物. 42. 二級アルコールを効率的に脱酸素化する一般的手法. リボヌクレオシドの2'-デオキシヌクレオシドへの位置特異的および立体選択的な変換」、J Am Chem Soc, 1983, 105, 4059~4065)は113~114のmpを報告している); ¹H NMR(200MHz, CDCl₃)

20

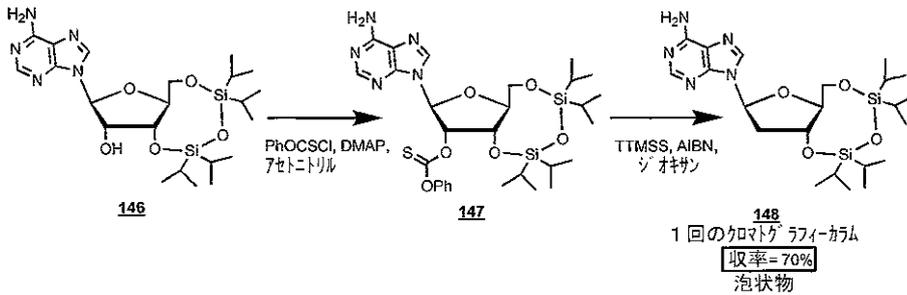
30

40

【0137】

【化53】

スキーム4 :



10

【0138】

実施例13 2'-デオキシ-L-アデノシン(149)

Zhang, W. および Robins, M. J. (「メタノール中のフッ化アンモニウムによるヒドロキシル官能基からのシリル保護基の除去」、Tetrahedron Lett、1992、33、1177~1180)により教示されるように、3',5'-O-(1,1,3,3-テトライソプロピル-1,3-ジシロキサニル)-2'-デオキシ-L-アデノシン148(32g、65mmol)およびフッ化アンモニウム(32g、mmol; Fluka; 参照番号09742)を含むメタノール(ProLabo; 参照番号20847.295)の溶液を還流下で2時間攪拌した(スキーム5)。シリカゲル(Merck; 参照番号1.07734.2500)を加えて、混合物を慎重に蒸発させ、白色の粉末を得た。この粉末をシリカカラムの上部に加え、シリカカラムをジクロロメタン(Merck; 参照番号1.06050.6025)/メタノールの9/1で溶出した。適切な画分を一緒にして蒸発させ、白色の粉末を得た。これをエタノール95(ProLabo; 参照番号20823.293)から結晶化し、12.1gの生成物(75%)を得た: mp 189~190 (EtOH 95) (市販の2'-デオキシ-D-アデノシンと同一); ¹H NMR (200MHz, DMSO-D₆): 8.35および8.14 (2s, 2H, H₂ および H₈)、7.34 (s, 2H, NH₂)、6.35 (dd, 1H, H₁, J 6.1Hz, J 7.85Hz)、5.33 (d, 1H, OH₂, J 4.0Hz)、5.28 (dd, 1H, H₃, J 4.95Hz; J 6.6Hz)、4.42 (m, 1H, OH_{5'})、3.88 (m, 1H, H₄)、3.63~3.52 (m, 2H, H_{5'a} および H_{5'b})、2.71 (m, 1H, H_{2'a})、2.28 (m, 1H, H_{2'b})。(市販の2'-デオキシ-D-アデノシンと同一); D + 26° (c 0.5 水) (市販の2'-デオキシ-D-アデノシン - 25° (c 0.5 水)); UV max 260nm (14100) (H₂O); 質量分析 (FAB+, GT) m/z 252 (M+H)⁺、136 (BH₂)⁺。

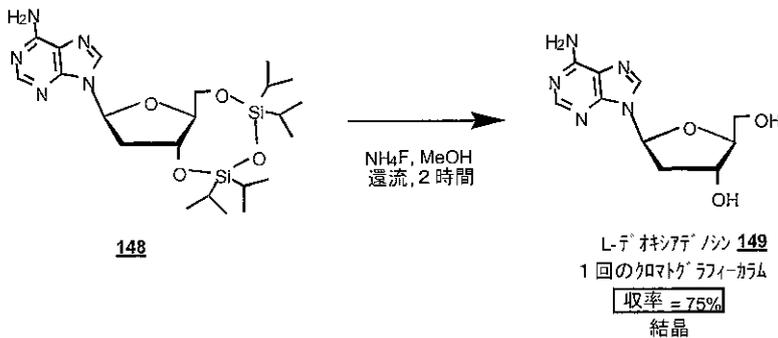
20

30

【0139】

【化54】

スキーム5 :



40

【0140】

実施例14 1-(3,5-ジ-O-ベンゾイル-L-キシロフラノシル)ウラシル

50

(11)

ヒドラジン水和物 (1.4 mL、28.7 mmol) を、1-(2-O-アセチル-3,5-ジ-O-ベンゾイル-L-キシロフラノシル)ウラシル10 [Gosselin, G., Bergogne, M.-C. および Imbach, J.-L., 「5つの天然に存在する核酸塩基の-L-キシロフラノシルヌクレオシドの合成および抗ウイルス評価」、Journal of Heterocyclic Chemistry、1993、30、1229~1233] (4.79 g、9.68 mmol) を含むピリジン (60 mL) と酢酸 (15 mL) との溶液に加えた。この溶液を室温で一晩攪拌した。アセトン (35 mL) を加えて、混合物を30分間攪拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させた。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、ジクロロメタンにおけるメタノール (0~4%) の段階的勾配] によって精製して、11 (3.0 g、68%) を得た。これをシクロヘキサン/ジクロロメタンから結晶化した: mp = 111~114 ; ¹H-NMR (DMSO-d₆): 11.35 (br s, 1H, NH)、7.9~7.4 (m, 1H, 2 C₆H₅CO, H-6)、6.38 (d, 1H, OH-2', J_{OH-2',3'} = 4.2 Hz)、5.77 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} = 1.9 Hz)、5.55 (d, 1H, H-5, J₅₋₆ = 8 Hz)、5.54 (dd, 1H, H-3', J_{3'-2'} = 3.9 Hz および J_{3'-4'} = 1.8 Hz)、4.8 (m, 1H, H-4')、4.7 (m, 2H, H-5' および H-5'')、4.3 (m, 1H, H-2'); MS: FAB > 0 (マトリックス GT) m/z 453 (M+H)⁺、105 (C₆H₅CO)⁺; FAB < 0 (マトリックス GT) m/z 451 (M-H)⁻、121 (C₆H₅CO₂)⁻、111 (B)⁻; 元素分析 C₂₃H₂₀N₂O₈ · H₂O の計算値: C, 58.09; H, 4.76; N, 5.96。実測値: C, 57.71; H, 4.42; N, 5.70。

【0141】

実施例 15 1-(3,5-ジ-O-ベンゾイル-L-アラビノフラノシル)ウラシル (12)
 1-(3,5-ジ-O-ベンゾイル-L-キシロフラノシル)ウラシル11 (8 g、17.7 mL) を含む無水ベンゼン-DMSO混合物 (265 mL、6:4、v/v) の溶液に、無水ピリジン (1.4 mL)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (10.9 g、53 mmol) およびジクロロ酢酸 (0.75 mL) を加えた。得られた混合物を室温で4時間攪拌し、その後、酢酸エチル (400 mL) で希釈して、シュウ酸 (4.8 g、53 mmol) を含むメタノール (14 mL) の溶液を加えた。1時間攪拌した後、溶液をろ過した。ろ液を飽和 NaCl 溶液 (500 mL で2回)、3% NaHCO₃ 溶液 (500 mL で2回) および水 (500 mL で2回) で洗浄した。有機相を Na₂SO₄ で乾燥して、減圧下で蒸発させた。その後、得られた残渣を無水 EtOH/ベンゼンの混合物 (140 mL、2:1、v/v) に溶解させた。この溶液に0 で NaBH₄ (0.96 g、26.5 mmol) を加えた。1時間攪拌した後、溶液を酢酸エチル (400 mL) で希釈し、ろ過した。ろ液を飽和 NaCl 溶液 (400 mL) および水 (400 mL) で洗浄した。有機相を Na₂SO₄ で乾燥して、減圧下で蒸発させた。得られた粗製物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、ジクロロメタンにおけるメタノール (0~3%) の段階的勾配] によって精製して、12 (5.3 g、66%) を得た。これをアセトニトリルから結晶化した: mp = 182~183 ; ¹H-NMR (DMSO-d₆): 11.35 (br s, 1H, NH)、8.0~7.5 (m, 1H, 2 C₆H₅CO, H-6)、6.23 (br s, 1H, OH-2')、6.15 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} = 4 Hz)、5.54 (d, 1H, H-5, J₅₋₆ = 8.1 Hz)、5.37 (t, 1H, H-3', J_{3'-2'} = J_{3'-4'} = 2.6 Hz)、4.7~4.6 (m, 2H, H-5' および H-5'')、4.5 (m, 1H, H-4')、4.4 (m, 1H, H-2'); MS: FAB > 0 (マトリックス GT) m/z 453 (M+H)⁺、341 (S)⁺、113 (BH₂)⁺、105 (C₆H₅CO)⁺; FAB < 0 (マトリックス GT) m/z 451 (M-H)⁻、121 (C₆H₅CO₂)⁻、

111 (B) ; 元素分析 $C_{23}H_{20}N_2O_8$ の計算値 : C, 61.06 ; H, 4.46 ; N, 6.19。実測値 : C, 60.83 ; H, 4.34 ; N, 6.25。

【0142】

実施例 16 1 - (3, 5 - ジ - O - ベンゾイル - 2 - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノシル) ウラシル (13)

1 - (3, 5 - ジ - O - ベンゾイル - L - アラビノフラノシル) ウラシル 12 (5.2 g、11.4 mmol) を含む無水 1, 2 - ジクロロエタン (120 mL) の溶液に、フェノキシチオカルボニル塩化物 (4.7 mL、34.3 mmol) および 4 - (ジメチルアミノ) ピリジン (DMA P、12.5 g、102.6 mmol) を加えた。得られた溶液をアルゴン雰囲気下において室温で 1 時間攪拌し、その後、減圧下で蒸発させた。残渣をジクロロメタン (300 mL) に溶解して、有機溶液を、氷冷した 0.2 N 塩酸 (200 mL で 3 回) および水 (200 mL で 2 回) で洗浄し、 Na_2SO_4 で乾燥し、その後、減圧下で蒸発させた。粗製物を、数回、無水ジオキサンの同時に蒸発させて、この溶媒 (110 mL) に溶解した。得られた溶液にアルゴン下においてトリス (トリメチルシリル) シラン水素化物 (4.2 mL、13.7 mmol) および、' - アゾイソブチロニトリル (AIBN、0.6 g、3.76 mmol) を加えた。反応混合物を加熱し、アルゴン下において 100 で 1 時間攪拌し、その後、室温に冷却し、減圧下で蒸発させた。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、メタノール (0 ~ 5 %) の段階的勾配] によって精製して、13 (2.78 g、56 %) を得た。これを EtOH から結晶化した : mp = 223 ~ 225 ; H - NMR (DMSO - d_6) : 11.4 (b r s, 1H, NH)、8.0 ~ 7.5 (m, 1H, 2 C_6H_5CO , H - 6)、6.28 (t, 1H, H - 1', J = 7 Hz)、5.5 (m, 2H, H - 1' および H - 5)、4.6 ~ 4.4 (m, 3H, H - 4', H - 5' および H - 5"), 2.6 (m, 2H, H - 2' および H - 2") ; MS : FAB > 0 (マトリックス GT) m/z 437 (M + H)⁺、3325 (S)⁺ ; FAB < 0 (マトリックス GT) m/z 435 (M - H)⁻、111 (B)⁻ ; 元素分析 $C_{23}H_{20}N_2O_7$ の計算値 : C, 63.30 ; H, 4.62 ; N, 6.42。実測値 : C, 62.98 ; H, 4.79 ; N, 6.40。

【0143】

実施例 17 2' - デオキシ - L - シチジン (- L - dC) Lawesson 試薬 (1.72 g、4.26 mmol) を、1 - (3, 5 - ジ - O - ベンゾイル - 2 - デオキシ - L - エリスロ - ペントフラノシル) ウラシル 13 (2.66 g、6.1 mmol) を含む無水 1, 2 - ジクロロエタン (120 mL) の溶液にアルゴン下で加えて、反応混合物を還流下で 2 時間攪拌した。その後、溶媒を減圧下で蒸発させて、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、ジクロロメタンにおける酢酸エチル (0 ~ 8 %) の段階的勾配] によって精製して、4 - チオ中間体を黄色の泡状物として得た。このチオ中間体 (1.5 g、3.31 mmol) を含むメタノール性アンモニア (事前に -10 で飽和させ、きつく栓をしたもの) (50 mL) の溶液をステンレススチール製ボンベにおいて 100 で 3 時間加熱し、その後、0 に冷却した。溶液を減圧下で蒸発させた。得られた粗製物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、ジクロロメタンにおけるメタノール (0 ~ 20 %) の段階的勾配] によって精製した。最後に、適切な画分をまとめて、Milllex HV - 4 ユニット (0.45 μ m、Millipore) でろ過し、減圧下で蒸発させて、所望する 2' - デオキシ - L - シチジン (- L - dC) を泡状物として得た (0.6 g、80 %)。これを無水 EtOH から結晶化した : mp = 198 ~ 199 ; ¹H - NMR (DMSO - d_6) : 7.77 (d, 1H, H - 6, J₆₋₅ = 7.4 Hz)、7.10 (b r d, 2H, NH₂)、6.13 (t, 1H, H - 1', J = 6.7 Hz)、5.69 (d, 1H, H - 5, J₅₋₆ = 7.4 Hz)、5.19 (d, 1H, OH - 3', J_{OH-3'} = 4.1 Hz)、4.96 (t, 1H, OH - 5', J_{OH-5'} = J_{OH-5"} = 5.2 Hz)、4.1 (m, 1H, H - 3')、3.75 (m, 1H, H - 4')、3.5 (m, 2H, H -

5' および H - 5")、2.0 (m, 1H, H - 2')、1.9 (m, 1H, H - 2") ; MS : FAB > 0 (マトリックス GT) m/z 228 (M + H)⁺、112 (BH₂)⁺ ; FAB < 0 (マトリックス GT) m/z 226 (M - H)⁻ ; []^{2 0}_D = -69 (c 0.52, DMSO) [市販の D - エナンチオマーの塩酸塩についての []^{2 0}_D = +76 (c 0.55, DMSO)]。元素分析 C₉ H₁₃ N₃ O₄ の計算値 : C, 47.57 ; H, 5.77 ; N, 18.49。実測値 : C, 47.35 ; H, 5.68 ; N, 18.29。

【0144】

実施例 18 2 - アミノ - - L - アラビノフラノ [1' , 2' : 4 , 5] オキサゾリン (151)

L - アラビノース (170 g、1.13 mol ; Fluka、> 99.5%、参照番号 10839)、シアナミド (100 g、2.38 mol ; Fluka、> 98%、参照番号 28330)、メタノール (300 mL) および 6 M - NH₄ OH (50 mL) の混合物を室温で 3 日間攪拌し、その後、-10 で一晩保った。生成物を吸引ろ過で集め、メタノールおよびエーテルで順に洗浄し、真空乾燥した。収量 : 130 g (66.0%) の分析的に純粋な化合物 151、m. p. 170 ~ 172 ; ¹H NMR (DMSO - d₆) ppm 6.35 (br s, 2H, NH₂)、5.15 (d, 1H, H - 1, J = 5.6 Hz)、5.45 (br s, 1H, OH - 3)、4.70 (br s, 1H, OH - 5)、4.55 (d, 1H, H - 2, J = 5.6 Hz)、4.00 (br s, 1H, H - 3)、3.65 (m, 1H, H - 4)、3.25 (m, 2H, H - 5, H - 5')

10

20

【0145】

実施例 19 O²、²' - アンヒドロ - - L - ウリジン (152)

化合物 151 (98.8 g、0.57 mol) および プロピオン酸メチル (98 mL、Fluka、> 97%、参照番号 81863) を含む 50% 水性エタノール (740 mL) の溶液を 5 時間還流して、冷却し、そして最初の容量の 1/2 に減圧下で濃縮した。アセトン (600 mL) で沈殿させた後、生成物を吸引ろ過で集め、エタノールおよびエーテルで洗浄して、乾燥した。母液を部分的に濃縮して、濃縮物をアセトン (1000 mL) で沈殿させ、固体を吸引ろ過で集め、アセトンおよびエーテルで洗浄して、生成物の二番晶を得た。全収量 : 80 g (62%) の化合物 152、m. p. 236 ~ 240 ; ¹H NMR (DMSO - d₆) ppm 7.87 (d, 1H, H - 6, J = 7.4 Hz)、6.35 (d, 1H, H - 1', J = 5.7 Hz)、5.95 (d, 1H, H - 5, J = 7.4 Hz)、5.90 (d, 1H, OH - 3')、5.20 (d, 1H, H - 2', J = 5.7 Hz)、5.00 (m, 1H, OH - 3')、4.44 (br s, 1H, H - 3')、4.05 (m, 1H, H - 4')、3.25 (m, 2H, H - 5, H - 5')

30

【0146】

実施例 20 3' , 5' - ジ - O - ベンゾイル - O²、²' - アンヒドロ - - L - ウリジン (153)

化合物 152 (71.1 g、0.31 mol) を含む無水ピリジン (1200 mL) の溶液に、アルゴン下、0 で、塩化ベンゾイル (80.4 mL ; Fluka, p. a.、参照番号 12930) を加えた。反応混合物を、雰囲気中の水分を除きながら室温で 5 時間攪拌し、そしてエタノールの添加によって停止させた。溶媒を減圧下で蒸発させ、得られた残渣をトルエンおよび無水エタノールと同時に蒸発させた。その後、粗製の混合物をエタノールで希釈して、沈殿を吸引ろ過で集め、エタノールおよびエーテルで順に洗浄し、乾燥した。収量 : 129 g (95.8%) の化合物 153、m. p. 254 ; ¹H NMR (DMSO - d₆) ppm 8.1 ~ 7.4 (m, 11H, C₆H₅CO, H - 6)、6.50 (d, 1H, H - 1', J = 5.7 Hz)、5.90 (d, 1H, H - 5, J = 7.5 Hz)、5.80 (d, 1H, H - 2', J = 5.8 Hz)、5.70 (d, 1H, H - 3')、4.90 (m, 1H, H - 4')、4.35 (m, 2H, H - 5, H -

40

50

5')。

【0147】

実施例 21 3', 5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-クロロ-2'-デオキシ-L-ウリジン(154)

化合物 153 (60.3 g、0.139 mol) を含むジメチルホルムアミド (460 mL) の溶液に、0 で、3.2 N-HCl / DMF 溶液 (208 mL、47.2 mL の塩化アセチル (Fluka, p.a., 参照番号 00990) を 0 で 27.3 mL のメタノールと 133.5 mL のジメチルホルムアミドとの溶液に加えることによってその場で調製) を加えた。反応混合物を、雰囲気中の水分を除きながら 100 で 1 時間攪拌して、冷却し、そして水 (4000 mL) に注いだ。化合物 154 の沈殿を吸引る過で集め、水で洗浄して、エタノールから再結晶した。結晶を集め、冷エタノールおよびエーテルで洗浄して、減圧下で乾燥した。収量: 60.6 g (92.6%) の化合物 154、m.p. 164~165 ; ¹H NMR (DMSO-d₆) ppm 8.7 (br s, 1 H, NH)、8.1~7.3 (m, 1 H, C₆H₅CO, H-6)、6.15 (d, 1 H, H-1', J = 4.8 Hz)、5.5 (m, 2 H, H-5, H-2'), 4.65 (m, 4 H, H-3', H-4', H-5', H-5")。

10

【0148】

実施例 22 3', 5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-デオキシ-L-ウリジン(155)

化合物 154 (60.28 g、0.128 mol)、トリ-n-ブチルスズ水素化物 (95 mL; Fluka、>98%、参照番号 90915) およびアザビスイソブチロニトリル (0.568 g; Fluka、>98%、参照番号 11630) を含む乾燥トルエン (720 mL) の混合物を攪拌下で 5 時間還流して、冷却した。固体を吸引る過で集め、冷トルエンおよび石油エーテルで洗浄した。ろ液を減圧下で濃縮し、石油エーテルで希釈して、化合物 155 の二番晶を析出させた。収量: 54.28 g (97.2%) の化合物 155、m.p. 220~221 ; ¹H NMR (CDCl₃) ppm 8.91 (br s, 1 H, NH)、8.1~7.5 (m, 1 H, C₆H₅CO および H-6)、6.43 (q, 1 H, H-1', J_{1,2} = 5.7 Hz および J_{1,2} = 8.3 Hz)、5.7~5.6 (m, 2 H, H-3' および H-5)、4.8~4.6 (m, 3 H, H-5', H-5" および H-4')、2.8~2.7 (m, 1 H, H-2')、2.4~2.3 (m, 1 H, H-2")。

20

30

【0149】

実施例 23 3', 5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-デオキシ-L-4-チオウリジン(156)

化合物 155 (69 g、0.158 mol) および Lawesson 試薬 (74 g; Fluka、>98%、参照番号 61750) を含む無水塩化メチレン (3900 mL) の溶液をアルゴン下で一晩還流した。溶媒を蒸発させた後、粗製の残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、塩化メチレンにおけるメタノール (0~2%) の勾配] によって精製して、純粋な化合物 156 (73 g) を定量的収率で得た; ¹H NMR (CDCl₃) ppm 9.5 (br s, 1 H, NH)、8.1~7.4 (m, 10 H, C₆H₅CO)、7.32 (d, 1 H, H-6, J = 7.7 Hz)、6.30 (dd, 1 H, H-1', J = 5.6 Hz および J = 8.2 Hz)、6.22 (d, 1 H, H-5, J = 7.7 Hz)、5.6 (m, 1 H, H-3')、4.7 (m, 2 H, H-5', H-5")、4.5 (m, 1 H, H-4')、2.8 (m, 1 H, H-2')、2.3 (m, 1 H, H-2")。

40

【0150】

実施例 24 2'-デオキシ-L-シトシン

化合物 156 (7.3 g、0.016 mol) を含むアンモニア飽和メタノール (73 mL) の溶液をステンレススチール製ポンベにおいて 100 で 3 時間加熱した。注意深く冷却した後、溶媒を減圧下で蒸発させた。残渣の水溶液を酢酸エチルで洗浄し、蒸発乾固

50

した。そのような手順を化合物156の9個の他のサンプル(それぞれ7.3g)について行った(2'-デオキシ-L-シトシンの収量:73g)。10個の残渣を一緒にして、無水エタノールで希釈し、冷却して、2'-デオキシ-L-シトシンを結晶として得た。微量のベンズアミドを、(酢酸エチル中で1時間の還流での)固液抽出法によって2'-デオキシ-L-シトシンの結晶から除いた。収量:28.75g(78.6%)の化合物2'-デオキシ-L-シトシン; m.p. 141~145; ¹H NMR(DMSO) ppm 8.22および8.00(2 br s, 2H, NH₂)、7.98(d, 1H, H-6, J=7.59 Hz)、6.12(t, 1H, H-1', J=6.5 Hz および J=7.6 Hz)、5.89(d, 1H, H-5, J=7.59 Hz)、5.3(br s, 1H, OH-3')、5.1(br s, 1H, OH-5')、4.2(m, 1H, H-3')、3.80(q, 1H, H-4', J=3.6 Hz および J=6.9 Hz)、3.6~3.5(m, 2H, H-5', H-5'')、2.2~2.0(m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0(GT) m/z 226(M-H)⁻、110(B)⁻; FAB>0(GT) 228(M+H)⁺、112(B+2H)⁺; [α]_D²⁰-56.48(DMSO中のc=1.08); UV(pH 7) m_{ax}=270 nm(ε=10000)。

【0151】

実施例25 3',5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-デオキシ-5-ヨード-L-ウリジン(157)
 化合物155(105.8g、0.242mol)、ヨウ素(76.8g; Fluka、99.8%、参照番号57650)、CAN(66.4g; 硝酸セリウムアンモニウム、Aldrichから入手、>98.5%、参照番号21,547-3)およびアセトニトリル(2550mL)の混合物を80℃で3時間攪拌し、その後、反応混合物を室温に冷却して、化合物157を結晶化させた(86.6g、63.5%); m.p. 192~194; ¹H NMR(DMSO) ppm: 8.34(s, 1H, NH)、8.2~7.2(m, 11H, 2 C₆H₅CO, H-6)、6.31(q, 1H, H-1', J=5.5 Hz および J=8.7 Hz)、5.5(m, 1H, H-3')、4.7(m, 2H, H-5', H-5'')、4.5(m, 1H, H-4')、2.7(m, 1H, H-2')、2.3(m, 1H, H-2''); FAB<0(GT) m/e 561(M-H)⁻、237(B)⁻; FAB>0(GT) 563(M+H)⁺; [α]_D²⁰+39.05(DMSO中のc=1.05); UV(EtOH 95) m_{ax}=281 nm(ε=9000)、m_{in}=254 nm(ε=4000)、m_{ax}=229 nm(ε=31000); 元素分析C₂₃H₁₉IN₂O₇の計算値: C, 49.13 H, 3.41 N, 4.98 I, 22.57。実測値: C, 49.31 H, 3.53 N, 5.05 I, 22.36。

【0152】

実施例26 3',5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-デオキシ-3-N-トルオイル-L-チミジン(159)
 N-エチルジイソプロピルアミン(53.6mL; Aldrich、>99.5%、参照番号38,764-9)を含有する無水ピリジン(1530mL)における化合物157(86.6g、0.154mol)の溶液に、0℃で、p-トルオイル塩化物(40.6mL、Aldrich、98%、参照番号10,663-1)を少量ずつ加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌し、その後、水を加えて反応を停止させ、反応混合物を塩化メチレンで抽出した。有機相を水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥し、蒸発乾固して、粗製の3',5'-ジ-O-ベンゾイル-2'-デオキシ-3-N-トルオイル-5'-ヨード-L-ウリジン(158)を得た。これを、さらに精製することなく次の段階で使用した。

【0153】

粗混合物158、酢酸パラジウム(3.44g、Aldrich、>99.98%、参照番号37,987-5)、トリフェニルホスフィン(8.0g; Fluka、>97%、

参照番号 93092) をトリエチルアミン (4.3 mL) とともに含む N-メチルピロリジノン (1375 mL; Aldrich、>99%、参照番号 44, 377-8) の溶液を室温で 45 分間攪拌した。その後、テトラメチルスズ (42.4 mL; Aldrich、>99%、参照番号 14, 647-1) をアルゴン下において 0 で滴下して加えた。100 ~ 110 で一晩攪拌した後、反応混合物を水に注ぎ、ジエチルエーテルで抽出した。有機溶液を硫酸ナトリウムで乾燥して、減圧下で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、トルエンにおける酢酸エチル (0~10%) の段階的勾配] によって精製して、化合物 159 を泡状物として得た (2 段階について、42.3 g、48.3%)。¹H NMR (DMSO) ppm. 8.3~7.2 (m, 15H, 2 C₆H₅CO, 1 CH₃C₆H₄CO, H-6)、6.29 (t, 1H, H-1', J=7.0 Hz)、5.7 (m, 1H, H-3'), 4.7~4.5 (m, 3H, H-5', H-5'', H-4')、2.7~2.6 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0、(GT) m/e 567 (M-H)⁻、449 (M-CH₃C₆H₄CO)⁻、243 (B)⁻、121 (C₆H₅COO)⁻; FAB>0 (GT) 1137 (2M+H)⁺、569 (M+H)⁺、325 (M-B)⁻、245 (B+2H)⁺、119 (CH₃C₆H₅CO)⁺。

10

【0154】

実施例 27 2'-デオキシ-L-チミジン

化合物 159 (42.3 g、0.074 mol) を含むアンモニア飽和メタノール (1850 mL) の溶液を室温で 2 日間攪拌した。溶媒を蒸発させた後、残渣を水で希釈して、酢酸エチルで数回洗浄した。水層を分離して減圧下で蒸発させ、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー [溶出液、塩化メチレンにおけるメタノール (0~10%) の段階的勾配] によって精製して、純粋な 2'-デオキシ-L-チミジン (11.62 g、64.8%) を得た。これをエタノールから結晶化した; m.p. 185~188; ¹H NMR (DMSO) ppm 11.3 (s, 1H, NH)、7.70 (s, 1H, H-6)、6.2 (pt, 1H, H-1')、5.24 (d, 1H, OH-3', J=4.2 Hz)、5.08 (t, 1H, OH-5', J=5.1 Hz)、4.2 (m, 1H, H-3')、3.7 (m, 1H, H-4')、3.5~3.6 (m, 2H, H-5', H-5'')、2.1~2.0 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0、(GT) m/e 483 (2M-H)⁻、349 (M+T-H)⁻、241 (M-H)⁻、125 (B)⁻; FAB>0 (GT) 243 (M+H)⁺、127 (B+2H)⁺; [α]_D²⁰ -13.0 (DMSO 中の c=1.0); UV (pH 1) m_{ax} = 267 nm (ε=9700)、m_{in} = 234 nm (ε=2000)。

20

30

【0155】

実施例 28 2'-デオキシ-L-イノシン (L-dI) の立体選択的合成

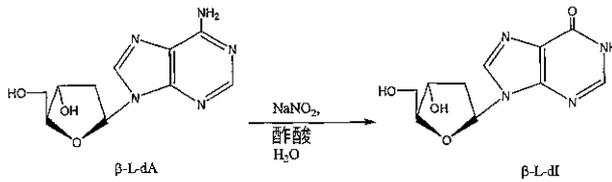
L-dI を、9-D-グルコピラノシル系列において以前に記載された手順に従った 2'-デオキシ-L-アデノシン (L-dA) の脱アミノ化によって合成した (参考文献: I. Iwai、T. Nishimura および B. Shimizu、"Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry" (W. W. Aorbach および R. S. Tipson 編)、John Wiley & Sons, Inc.、New York、1968、1、135~138)。

40

【0156】

【化55】

スキーム 6 :



【0157】

例えば、酢酸 (0.61 mL) と水 (19 mL) との混合物における β -L-dA (200 mg) の溶液を亜硝酸ナトリウム (495 mg) と一緒に加熱し、混合物を室温で一晩攪拌した。その後、溶液を減圧下で蒸発乾固した。残渣の水溶液を IR-120 (H^+) イオン交換樹脂カラムに加え、カラムを水で溶出した。適切な画分を集め、蒸発乾固して、純粋な β -L-dI を得た。これをメタノールから結晶化した (106 mg、53%、収率は最適化されていない) : m.p. = 209 ~ 211 ; UV (H_2O)、 $\lambda_{\text{max}} = 247 \text{ nm}$; $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) = 8.32 および 8.07 (2s, 各 1H, H-2 および H-8)、6.32 (pt, 1H, H-1; $J = 6.7 \text{ Hz}$)、4.4 (m, 1H, H-3'), 3.9 (m, 1H, H-4'), 3.7 ~ 3.4 (m, 2H HOD で部分的に不明確, H-5', 5''), 2.6 および 2.3 (2m, 各 1H, H-2' および H-2''); 質量分析 (マチュアー, グリセロール-チオグリセロール, 1:1, v/v)、FAB > 0 : 253 ($\text{M} + \text{H}$)⁺、137 (塩基 + 2H)⁺; FAB < 0 : 251 ($\text{m} - \text{H}$)⁻、135 (塩基)⁻; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +19.3$ (-c 0.88, H_2O)。 10

【0158】

実施例 29 化合物の毒性

毒性分析を、何らかの認められる抗ウイルス作用が細胞生存性に対する一般的な作用のためであるかどうかを評価するために行った。使用された方法は、ラムビジン (Lamivudine) と比較して、ヒト骨髄クロロゲンアッセイにおける細胞増殖に対する、 β -L-dA、 β -L-dC および β -L-dT の作用の測定である。結果を表 1 に示す。 20

【0159】

【表 1】

表 1

化合物	CFU-GM (μM)	BFU-E (μM)
β -L-dA	>10	>10
β -L-dC	>10	>10
β -L-dT	>10	>10
β -L-dU	>10	>10
ラムビジン	>10	>10

40

【0160】

実施例 30 リン酸化された化合物の生物学的活性

β -L-dA、 β -L-dC、 β -L-dU、 β -L-2'-dG、 β -L-dI および β -L-dT の各三リン酸誘導体の B 型肝炎阻害能を調べた。表 2 には、ウッドチャック肝炎ウイルス (WHV) DNA ポリメラーゼ、ヒト DNA ポリメラーゼの、 β -L-dI および β -L-dT に対する、 β -L-dT の三リン酸 (β -L-dT-TP)、 β -L-dC の三リン酸 (β -L-dC-TP)、 β -L-dU の三リン酸 (β -L-dU-TP) および β -L-dA の三リン酸 (β -L-dA-TP) の比較される阻害活性が記載される。 40

50

【 0 1 6 1 】

【 表 2 】

表2

阻害剤	WHV DNA ポリメラーゼ ^a IC ₅₀	DNA ポリメ ラーゼ ^a α K _i ^b (μM)	DNA ポリメ ラーゼ ^a β K _i ^b (μM)	DNA ポリメ ラーゼ ^a γ K _i ^b (μM)
β-L-dT-TP	0.34	>100	>100	>100
β-L-dA-TP	2.3	>100	>100	>100
β-L-dC-TP	2.0	>100	>100	>100
β-L-dU-TP	8	>100	>100	>100

^a IC₅₀ : 50%阻害濃度

^b K_i値は、ウシ胸腺活性化DNAをテンプレートプライマーとし、dATPを基質として使用して測定された。阻害剤はディクソンプロット分析によって分析された。これらの条件のもと、dATPに対するヒトDNAポリメラーゼαの計算した平均K_mは約2.6 μMであった。ヒトDNAポリメラーゼβはdATPに対して3.33 μMの定常状態K_mを示した。ヒトDNAポリメラーゼγは5.2 μMの定常状態K_mを示した。

【 0 1 6 2 】

実施例 3 1 化合物の抗ウイルス活性

- L - d A、 - L - d C、 - L - d U、 - L - 2' - d Gおよび - L - d Tの抗B型肝炎ウイルス活性を、トランスフェクションされたHepG-2(2.2.15)細胞で調べた。表3には、トランスフェクションされたHepG-2(2.2.15)細胞におけるB型肝炎ウイルスの複製に対する - L - d A、 - L - d C、 - L - d Uおよび - L - d Tの作用が例示される。

【 0 1 6 3 】

【 表 3 】

表3

化合物	HBV ヒリオゾ ^a EC ₅₀ (μM)	HBV Ri ^b EC ₅₀ (μM)	細胞毒性 IC ₅₀ (μM)	選択性指数 IC ₅₀ /EC ₅₀
β-L-dT	0.05	0.05	>200	>4000
β-L-dC	0.05	0.05	>200	>4000
β-L-dA	0.10	0.10	>200	>2000
β-L-dI	1.0	1.0	>200	>200
β-L-dU	5.0	5.0	>200	>40

^a細胞外DNA^b複製可能な中間体(細胞内DNA)

【 0 1 6 4 】

実施例 3 2 化合物の組合せ療法

- L - d A、 - L - d Cおよび - L - d Tを組み合わせたときのB型肝炎増殖に対する作用を2.2.15細胞で測定した。結果を表4に示す。

【 0 1 6 5 】

10

20

30

40

50

【表4】

表4

組合せ	比	EC ₅₀
L-dC + L-dT	1:3	.023
L-dC + L-dT	1:1	.053
L-dC + L-dT	3:1	.039
L-dC + L-dA	1:30	.022
L-dC + L-dA	1:10	.041
L-dC + L-dA	1:3	.075
L-dT + L-dA	1:30	.054
L-dT + L-dA	1:10	.077
L-dT + L-dA	1:3	.035

10

【0166】

それぞれの組合せは相乗的な抗HBV活性をもたらした。さらに、L-dA + L-dC + L-dTの組合せもまたこのモデルでは相乗的であった。

【0167】

実施例33

- L-dAおよび - L-dCの単独および組合せによる2.2.15細胞におけるB型肝炎の複製阻害を測定した。結果を表5に示す。

20

【0168】

【表5】

表5

^a β-L-2'-デオキシアデノシン アデノシン (μM)	^b β-L-2'-デオキシシチジン シチジン (μM)	阻害%	°C.I.
0.5		90	
0.05		24	
0.005		1	
	0.5	95	
	0.05	40	
	0.005	10	
0.05	0.05	80	0.34
0.05	0.005	56	0.20
0.05	0.0005	50	0.56
0.005	0.05	72	0.35
0.005	0.005	54	0.35
0.005	0.0005	30	0.16
0.0005	0.05	50	0.83
0.0005	0.005	15	0.28
0.0005	0.0005	0	N.A.

30

^aβ-L-2'-デオキシアデノシン: IC₅₀ = 0.09 μM

^bβ-L-2'-デオキシシチジン: IC₅₀ = 0.06 μM

°組合せ指数の値は、相乗作用 (<1)、相加作用 (=1) および拮抗作用 (>1) を示す。

40

【0169】

50

実施例 3 5 化合物の効力

ウッドチャック肝炎ウイルス (WHV) に慢性的に感染しているウッドチャック (Mar mota monax) におけるヘパドナウイルス感染に対する L - d A、L - d T および L - d C の効力を測定した。HBV 感染のこの動物モデルは広く受け入れられており、HBV に対する抗ウイルス剤の評価に有用であることが証明されている。

【0170】

薬物群あたり 3 匹の動物およびコントロールあたり 4 匹の動物が使用された。群 1 において、動物にはピヒクルコントロールが投与された；群 2 にはラミブジン (3TC) が投与された (10 mg / kg / 日)；群 3 ~ 6 には L - d A が投与された (それぞれ、0 . 0 1、0 . 1、1 . 0、10 mg / kg / 日)；群 7 ~ 10 には L - d T が投与された (それぞれ、0 . 0 1、0 . 1、1 . 0、10 mg / kg / 日)；群 11 ~ 14 には L - d C が投与された (それぞれ、0 . 0 1、0 . 1、1 . 0、10 mg / kg / 日)。

【0171】

薬物は、1日に1回、経口胃管によって投与され、血液サンプルが、0日目、1日目、3日目、7日目、14日目、21日目、28日目に、そして処置後の+1日目、+3日目、+7日目、+14日目、+28日目および+56日目に採取された。活性および毒性の評価は血清中のWHVのDNAの減少に基づいた：ドットプロット、定量的PCR。

【0172】

結果が図5および表6に例示される。

【0173】

【表6】

表6：ウッドチャックモデルにおけるLdA、LdT、LdCの抗ウイルス活性

日数	コントロール	LdA	LdT	LdC
	ngWHV-DNA/ml血清 ^{1,2}			
0	381	436	423	426
1	398	369	45	123
3	412	140	14	62
7	446	102	6	46
14	392	74	1	20

¹LdA、LdT、LdCは10mg/kgで1日に1回経口投与された。

²検出限界は1ng/mlのWHV-DNA/ml血清である。

【0174】

データは、L - d A、L - d T および L - d C がこのインピボモデルにおいて非常に活性であることを示している。第1に、ウイルス量が、検出できないレベルにまで低下している (L - d T) か、または検出限界に近いレベルにまで低下している (L - d A、L - d C)。第2に、L - d A、L - d T および L - d C は、このモデルでは3TC (ラミブジン) よりも活性であることを示している。第3に、ウイルスの反跳が、L - d T の中断後少なくとも2週間にわたって検出されない。第4に、用量応答曲線は、L - d A および L - d C の用量をある程度増大することにより、L - d T に類似する抗ウイルス活性が示されることを示唆している。第5に、薬物が投与された動物はすべて、体重が増大し、薬物に関連した毒性は全く検出されなかった。

【0175】

実施例 3 4 薬学的組成物の調製

10

20

30

40

50

D型肝炎に感染しているヒトまたは他の宿主は、効果的な量の 2'-デオキシ-L-エリスロ-ペントフラヌクレオシド（例えば、2'-デオキシアデノシン、2'-デオキシシチジン、2'-デオキシウリジン、2'-デオキシグアノシンまたは2'-デオキシチミジン）またはその医薬として許容されるプロドラッグもしくは塩を、医薬として許容されるキャリアまたは希釈剤の存在下で投与することによって処置することができる。活性な物質は、液体形態または固体形態において、任意の適切な経路によって、例えば、経口的、非経口的、静脈内、皮内、皮下または局所的に投与することができる。

【0176】

活性な化合物は、処置される患者において重大な毒性作用を引き起こすことなくウイルスの複製をインビボで阻害するために治療効果的な量の化合物を患者に送達するために十分な量で医薬として許容されるキャリアまたは希釈剤に含められる。「阻害的な量」により、例えば、本明細書中に記載されるアッセイなどのアッセイによって測定されるような阻害作用を示すために十分な有効成分の量が意味される。

【0177】

上記に記載された状態のすべてに対して好ましい用量は、1日あたり約1mg/kg体重～50mg/kg体重の範囲であり、好ましくは1mg/kg体重～20mg/kg体重の範囲であり、より一般的には1日あたり受容者の体重1kgについて0.1mg～約100mgである。医薬として許容されるプロドラッグの効果的な投薬量範囲は、送達される親ヌクレオシドの重量に基づいて計算することができる。プロドラッグがそれ自体、活性を示す場合、効果的な投薬量は、プロドラッグの重量を使用して上記のように推定することができる、または当業者に知られている他の手段によって推定することができる。

【0178】

本発明の化合物はユニット型の任意の好適な投薬形態で都合よく投与される。そのような形態には、ユニット投薬形態物あたり7mg～3000mg（好ましくは、70mg～1400mg）の有効成分を含有する形態が含まれるが、これに限定されない。50mg～1000mgの経口投薬量が通常の場合には好ましい。

【0179】

理想的には、有効成分は、約0.2μM～70μM（好ましくは、約1.0μM～10μM）の活性な化合物の最大血漿濃度が達成されるように投与されるべきである。これは、例えば、有効成分の0.1%～5%の溶液を場合によっては生理的食塩水において静脈内注射することによって達成することができる、または有効成分のボーラス剤として投与することができる。

【0180】

薬物組成物における活性な化合物の濃度は、薬物の吸収速度、不活性化速度および排出速度、ならびに当業者に知られている他の要因に依存する。投薬量の値はまた、緩和すべき状態の重篤度により変化することには留意しなければならない。任意の特定の対象者については、具体的な投薬法を、個々の必要性、および組成物を投与する医師または組成物の投与を監督する医師の専門的判断に従って時間とともに調節すべきであること、そして本明細書中に示されている濃度範囲は例示にすぎず、請求項に記載される組成物の範囲または実施を制限するものではないことをさらに理解しなければならない。有効成分は一度に投与ことができ、または様々な時間間隔で投与される多数の小量用量物に分割することができる。

【0181】

活性な化合物の好ましい投与経路は経口である。経口組成物は、不活性化希釈剤または食用のキャリアを一般に含む。それらはゼラチンカプセルに包むことができ、または錠剤に圧縮成形することができる。経口による治療的投与の場合、活性な化合物は賦形剤と配合され、そして錠剤、トローチ剤またはカプセル剤の形態で使用することができる。薬学的に適合し得る結合剤および/またはアジュバント物質を組成物の一部として含めることができる。

10

20

30

40

50

【0182】

錠剤、ビル剤、カプセル剤およびトローチ剤などは、下記の成分または性質が類似する化合物のいずれをも含有することができる：微結晶性セルロース、トラガカントゴムまたはゼラチンなどの結合剤；デンプンまたはラクトースなどの賦形剤；アルギン酸、プリモゲル（Primogel）またはトウモロコシデンプンなどの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムまたはステロート（Sterote）などの滑剤；コロイド状二酸化ケイ素などのグリダント；スクロースまたはサッカリンなどの甘味剤；またはペパーミント、サリチル酸メチルもしくはオレンジ風味剤などの矯味矯臭剤。投薬ユニット形態物がカプセルである場合、カプセルは、上記タイプの物質に加えて、油脂などの液体キャリアを含有することができる。さらに、投薬ユニット形態物は、投薬ユニットの物理的形態物を修飾する様々な他の物質を含有することができ、例えば、糖、セラックまたは他の腸溶剤のコーティングを含有することができる。

10

【0183】

本発明の化合物は、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、カシエ剤またはチューインガムなどの成分として投与することができる。シロップ剤は、活性な化合物に加えて、甘味剤としてのスクロース、ならびにある種の保存剤、色素および着色剤および香味剤を含有することができる。

【0184】

本発明の化合物またはその医薬として許容される誘導体もしくは塩はまた、所望する作用を損なわない他の活性な物質と、または所望する作用を補う物質と混合することができ、例えば、抗生物質、抗真菌剤、抗炎症剤、プロテアーゼ阻害剤、または他のヌクレオシド抗ウイルス剤もしくは非ヌクレオシド抗ウイルス剤と混合することができる。非経口適用、皮内適用、皮下適用または局所適用のために使用される溶液剤または懸濁剤は下記の成分を含むことができる：注射用水、生理的食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶媒などの無菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸などのキレート化剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩などの緩衝剤、および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの張性調節剤。非経口用の調製物は、ガラス製またはプラスチック製のアンプル、ディスポーザブルシリンジまたは多回用量バイアルに入れることができる。

20

30

【0185】

静脈内投与される場合、好ましいキャリアは生理学的食塩水またはリン酸塩緩衝化生理的食塩水（PBS）である。

【0186】

好ましい実施形態において、活性な化合物は、身体から迅速に除去されないようにより化合物を保護するキャリアを用いて、例えば、インプラントおよびマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出配合物などを用いて調製される。生分解性の生体適合性ポリマーを使用することができ、例えば、エチレンビニルアセタート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸を使用することができる。そのような配合物の調製方法は当業者には明らかである。これらの物質もまた、Alza Corporationから市販品を得ることができる。

40

【0187】

リポソーム懸濁物（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体で感染細胞に対して標的化されたリポソームを含む）もまた医薬として許容されるキャリアとして好ましい。これらは、例えば米国特許第4,522,811号に記載されるように、当業者に知られている方法に従って調製することができる。例えば、リポソーム配合物を、適切な脂質（1つまたは複数）（ステアロイルホスファチジルエタノールアミン、ステアロイルホスファチジルコリン、アラカドイルホスファチジルコリンおよびコレステロール）を無機溶媒に溶解し、その後、無機溶媒を蒸発させて、乾燥した脂質の薄い膜を容器表面に残すことによって調製することができる。その後、活性な化合物あるいはその一リン酸誘導体および/ま

50

たは二リン酸誘導体および/または三リン酸誘導体の水溶液が容器内に導入される。その後、容器を手で回して、容器の側面から脂質物質を遊離させ、脂質凝集体を分散させ、それにより、リポソーム懸濁物が形成される。

【0188】

本発明がその好ましい実施形態を参照して記載されている。本発明の様々な変化および改変が、本発明の前記の詳細な説明から当業者には明らかである。これらの変化および改変はすべて本発明の範囲内に含まれるものとする。

【図面の簡単な説明】

【図1】

出発物質としてL-リボースまたはL-キシロースを使用して - L - エリスロ - ペンタフラヌクレオシド (- L - d N) を得るための一般的なプロセスを例示する図である。

【図2】

出発物質としてL-リボースを使用してL-デオキシアデノシンを合成する非限定的な例を例示する図である。

【図3a】

出発物質としてL-アラビノースを使用して - L - d C を合成する非限定的な例を例示する図である。

【図3b】

出発物質としてL-アラビノースを使用して - L - d T を合成する非限定的な例を例示する図である。

【図4】

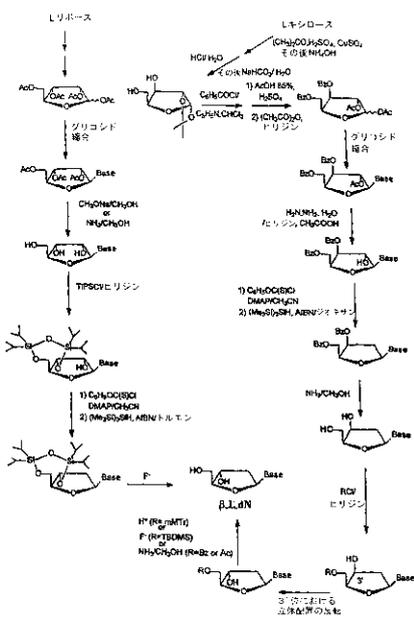
蓄積および減少に関してヒトHepG2細胞におけるL-dA、L-dCおよびL-dTの代謝を例示するグラフである。細胞は10 μMの化合物とともにインキュベーションされた。

【図5】

ウッドチャック慢性肝炎モデルにおける - L - d A、 - L - d T および - L - d C の抗ウイルス作用を例示するグラフである。

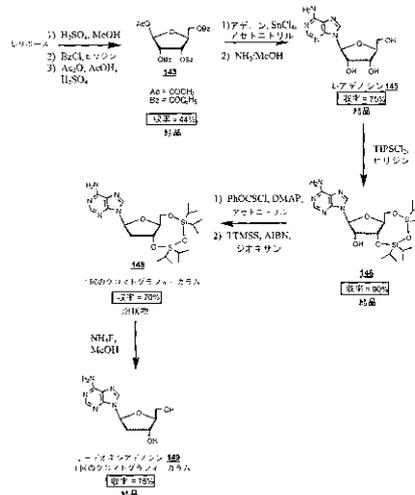
【 図 1 】

FIGURE 1
β-L-デオキシレオシドの合成方法



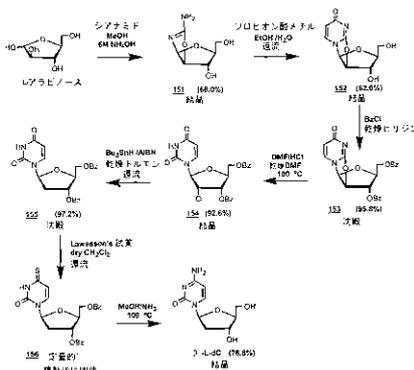
【 図 2 】

Figure 2



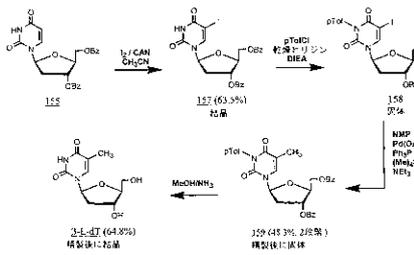
【 図 3 a 】

Figure 3a



【 図 3 b 】

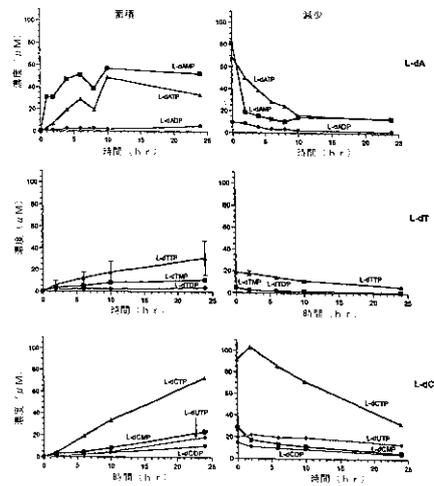
Figure 3b



【 図 4 】

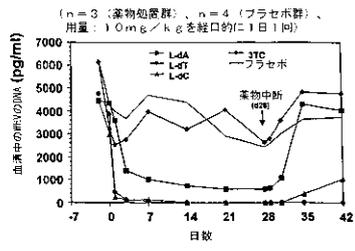
FIGURE 4

L-dA、L-dTおよびL-dCのHep G2細胞における蓄積および減少



【 図 5 】

FIGURE 5
ウッドチャック慢性肝炎モデルにおけるβ-L-d A、
β-L-d Tおよびβ-L-d Cの抗ウイルス作用



【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
6 December 2001 (06.12.2001)

PCT

(10) International Publication Number
WO 01/91737 A2

- (51) International Patent Classification: **A61K 31/00**
- (21) International Application Number: PCT/US01/17301
- (22) International Filing Date: 29 May 2001 (29.05.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 00/207,536 26 May 2000 (26.05.2000) US
- (71) Applicant (for all Designated States except US):
NOVIRIO PHARMACEUTICALS LIMITED [—];
Walker Secretaries, Walker House, Grand Cayman (KY).
- (72) Inventors; and
(75) Inventors/Applicants (for US only): **SOMMADOSSIL**
Jean-Pierre [FR/US]; 5075 Greystone Way, Birmingham,
AL 3524 (US); **BRYANT, Marrón, L.** [US/US]; 65 Hick-
ory Lane, Carlisle, MA 01741 (US).
- (74) Agent: **KNOWLES, Sherry, M.** King & Spalding, 191
Peachtree St., Atlanta, GA 30303-1768 (US).
- (81) Designated States (national): AP, AG, AI, AM, AU, AZ,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GG, GU,
GW, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KH, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,
SL, TL, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA,
ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, 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, 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 "Guide-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette



WO 01/91737 A2

(54) Title: METHODS OF TREATING HEPATITIS DELTA VIRUS INFECTION WITH β -L-2'-DEOXYNUCLEOSIDES(57) Abstract: A method and composition for treating a host infected with hepatitis D comprising administering an effective hepatis-
is D treatment amount of a described 2'-deoxy β -L-erythro-pentofuranonucleoside or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug
thereof.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

**METHODS OF TREATING HEPATITIS DELTA VIRUS INFECTION
WITH β -L-2'-DEOXY-NUCLEOSIDES**

This application claims priority to U.S. provisional application 60/207,538, filed on May 26, 2000.

5 **FIELD OF THE INVENTION**

This invention is in the area of methods and compositions for the treatment of a host infected with hepatitis delta virus (also referred to as "HDV") that includes administering an effective amount of a defined β -L-2'-deoxy-nucleoside or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof.

10 **BACKGROUND OF THE INVENTION**

Type D hepatitis, the most severe form of viral hepatitis, is caused by infection with hepatitis D (delta) virus (HDV), a sub-viral satellite of hepatitis B virus (HBV) (Smedile, A. et al. Prog Liver Dis 1994, 12, 157-75). Compared with other agents of viral hepatitis, acute HDV infection is more often associated with fulminant hepatitis, a rapidly progressive, often fatal form of the disease in which massive amounts of the liver are destroyed. Chronic type D hepatitis is typically characterized by necroinflammatory lesions, similar to chronic HBV infection, but is more severe, and frequently progresses rapidly to cirrhosis and liver failure, accounting for the disproportionate association of chronic HDV infection with terminal liver disease (Smedile, A. et al. Prog Liver Dis 1994, 12, 157-75; Rizzetto, M. et al. Ann Intern Med 1983, 98, 437-41). Although HDV infection affects fewer individuals than HBV alone, the resulting acute or chronic liver failure is a common indication for liver transplantation in Europe as well as North America (Smedile, A. and Rizzetto, M. Int J Clin Lab Res 1992, 22, 211-215; Wright, T. L. and Pereira, B. Liver Transplant Surgery 1995, 1, 30-42). Chronic disease affects 15 million persons worldwide, about 70,000 of whom are in the U.S. The Center for Disease Control estimates 1,000 deaths annually in the U.S. due to HDV infection (Alter, M. J. and Hadler, S. C. Prog Clin Biol Res 1993, 382, 243-50; Alter, M. J. and Mast, E. F. Gastroenterol Clin North Am 1994, 23, 437-55).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

There is currently no generally accepted effective therapy for type D hepatitis, and liver transplantation is the only option for the associated end-stage liver disease. Although interferon alpha has been moderately successful in treating some cases of type D hepatitis, the need for better treatment options is indicated by the very high doses required, variable responses, frequent relapse after cessation of treatment, and difficulties in drug administration (Thomas, H. C. et al. *Prog Clin Biol Res* 1987, 234, 277-90; Hooftmaele, J. et al. *Prog Clin Biol Res* 1987, 234, 291-8; Rosina, F. et al. *Prog Clin Biol Res* 1987, 234, 299-303; Rosina, F. et al. *Hepatology* 1991, 13, 1052-6; Farci, P. et al. *N Engl J Med* 1994, 330, 88-94; Hadziyannis, S. J. *J Hepatol* 1991, 13(Suppl 1), S21-6; Di Marco, V. et al. *J Viral Hepat* 1996, 3, 123-8; Porres, J. C. et al. *J Hepatol* 1989, 9, 338-44).

The HDV virion is composed of a ribonucleoprotein core and an envelope. The core contains HDV-RNA, and hepatitis delta antigen (HDAG), which is the only protein encoded by this virus (Wang, K. S. et al. *Nature* 1986, 323, 508-14). The envelope is formed by the surface antigen protein (hepatitis B surface antigen, or HBsAg) of the helper virus, hepatitis B (Bonino, F. *Infect Immun* 1984, 43, 1000-5; Bonino, F. et al. *Hepatology* 1981, 1, 127-31; Bonino, F. et al. *J Virol* 1986, 58, 945-50). The envelope is the sole helper function provided by HBV. HDV is able to replicate its RNA within cells in the absence of HBV (Kuo, M. Y. et al. *J Virol* 1989, 63, 1945-50), but requires HBsAg for packaging and release of HDV virions (Wu, J. C. et al. *J Virol* 1991, 65, 1099-104; Ryn, W. S. et al. *J Virol* 1992, 66, 2310-2315.), as well as for infectivity (Sureau, C., et al. *J Virol*, 1992, 66, 1241-5). As a result of the dependence of HDV on HBV, HDV infects individuals only in association with HBV.

Lamivudine (β -L-2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine, 3TC) is a synthetic nucleoside shown to be effective in treating HIV and HBV infection. See U.S. Patent No. 5,539,116 to Liotta et al. Lamivudine is known to cause sustained suppression of HBV replication during treatment (Nevens, F. et al. *Gastroenterology* 1997, 113, 1258-1263). However, lamivudine does not improve disease activity or lower HDV-RNA levels in patients with chronic delta hepatitis (Lau, D. T. et al. *Hepatology* 1999, 30, 546-9). Lamivudine was recently approved in the U.S. and several other countries for treatment of chronic HBV infection. Prolonged treatment of chronic HBV carriers with lamivudine leads to decreased levels of HBV in serum and improved liver histology (Lai, C. L. et al. *N Engl J Med* 1998, 339, 61-8; Tyrrell, D. et al. *Hepatology* 1993, 18, 112A; Nevens, F. et al. *Gastroenterology* 1997, 113, 1258-63;

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Dienstag, J. L. et al. N Engl J Med 1995, 333, 1657-61). Despite the dramatic effects on HBV, lamivudine treatment of patients chronically infected with both HBV and HDV has little effect on circulating levels of HDV; more importantly, there is no improvement in disease activity even though HBV levels are suppressed (Honkoop, P. et al. Hepatology 1997, 24(Suppl), 1219 (Abstract); Lau, D. T. et al. Hepatology 1999, 30, 546-9).

Additional forms of treatment have been tried. For example, suramin in vitro blocks the entry of the virion into hepatocytes, but it is too toxic to be acceptable for long term use in humans (Smedile, A. et al. Prog Liver Dis 1994, 12, 157-75). Acyclovir enhances HDV replication in vitro (Smedile, A. et al. Prog Liver Dis 1994, 12, 157-75). Ribavirin did not significantly affect virological or biochemical parameters and had severe side-effects (Smedile, A. et al. Prog Liver Dis 1994, 12, 157-75). Synthetic analogs of thymosin have also been ineffective in the treatment of HDV infection (Smedile, A. et al. Prog Liver Dis 1994, 12, 157-75).

None of the described treatments for HDV infection are generally accepted as effective.

Because the woodchuck hepatitis virus (WHV) is closely related to HBV (ca. 85% nucleic acid homology), it has been widely used as a model for HBV infection and disease in its natural host, the eastern woodchuck (*M. monax*) (Gerin, J. L. Gastroenterol Jpn 1990, 25 Supp, 38-42; Tennant, B. C. et al. Viral Hepatitis and Liver Disease 1988, 462-464). Experimentally infected woodchucks have also been used extensively for analysis and development of anti-HBV therapeutics (Zahn, F. E. et al. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998, 30, 510-6; Tennant, B. C. et al. Hepatology 1998, 28, 179-91; Mason, W. S. et al. Virology 1998, 245, 18-32; Korba, B. E. et al. Hepatology 1996, 23, 958-63; Hurwitz, S. et al. Antimicrob Agents Chemother 1998, 42, 2804-2809; Block, T. M. et al. Nat Med 1998, 4, 610-4; Cullen, J. M. et al. Antimicrob Agents Chemother 1997, 41, 2076-82; Fourcl, G. et al. Nature 1990, 347, 294-8; Gangemi, J. et al. Antivir Therap 1997, 1, 64-70; Genovesi, E. V. et al. Antimicrob Agents Chemother 1998, 42, 3209-17; Korba, B. E. et al. Antiviral Res 2000, 45, 19-32; Cote, P. J. et al. Hepatology 2000, 31, 190-200; Korba, B. E. et al. Antiviral Therapy 2000, 5(2), 95-104; Korba, B. E. et al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2000, 44(6), 1757-60; Korba, B. E. et al. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 2000, 44(7), 1964-1969). The efficacy of several anti-HBV agents used to

WO 01/91737

PCT/US01/17301

experimentally treat chronic WHV infection in woodchucks (araAMP, ribavirin, AZT, ACV, JTC, famciclovir, FTC) has accurately paralleled the efficacy of these agents administered to HBV patients treated in the course of clinical trials. The similar efficacy observed in WHV infected woodchucks and HBV infected persons treated with anti-HBV agents demonstrates that the woodchuck animal model can be predictive for anti-HBV therapies in man (Zahn, F. E. et al. Ital J Gastroenterol Hepatol 1998, 30, 510-6; Tennant, B. C. et al. Hepatology 1998, 28, 179-91; Mason, W. S. et al. Virology 1998, 245, 18-32; Hurwitz, S. J. et al. Antimicrob Agents Chemother 1998, 42(11), 2804-2809; Fourel, G. et al. Nature 1990, 347, 294-8; Gangemi, J. et al. Antivir Therap 1997, 1, 64-70; Genovesi, E. V. et al. Antimicrob Agents Chemother 1998, 42, 3209-17; Korba, B. E. et al. Antiviral Res 2000, 45(1), 19-32; Korba, B. E. et al. Hepatology 2000, 32(4 Pt 1), 807-817; Korba, B. E. et al. Hepatology 2000, 31(5), 1165-1175; Korba, B. E. et al. Antiviral Therapy 2000, 5(2), 95-104). Like HBV, WHV can support HDV particle formation and infection, and the eastern woodchuck has been a useful model for HDV infection (Negro, F. et al. J Virol 1989, 63, 1612-8; Parana, R., Gerard, F., Lesbordes, J. L., Pichoud, C., Vitvitski, L., Lyrn, L. G. & Trepo, C. J Hepatol 1995, 22, 468-73; Ciccaglione, A. R. et al. Arch Virol 1993, Suppl 8, 15-21; Bergmann, K. F. et al. J Immunol 1989, 143, 3714-21; Ponzetto, A. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1984, 81, 2208-12; Ponzetto, A. et al. Prog Clin Biol Res 1987, 234, 37-46).

The dependence of HDV on its helper virus, HBV, could suggest that successful treatment of HDV infection would follow successful treatment of the supporting HBV infection, although, this does not appear to be the case, as illustrated by recent results obtained with the drug lamivudine (Glaxo-Wellcome, Inc.) (Honkoop, P. et al. Hepatology 1997, 24(Suppl), 1219 (Abstract); Lau, D. T. et al. Hepatology 1999, 30, 546-9). The lack of an effect of lamivudine on disease in HBV-HDV infected patients underscores the direct role of HDV in disease severity in such patients. Although lamivudine inhibits HBV and WHV replication, it does not affect the production of viral surface antigen (Lau, D. T. et al. Hepatology 1999, 30, 546-9; Doong, S. L. et al. Proc Natl Acad Sci USA 1991, 88, 8495-9; Korba, B. E. et al. Hepatology 2000, 32(4 Pt 1), 807-817; Korba, B. E. et al. Hepatology 2000, 31(5), 1165-1175). The life cycle of HBV and other representatives of this family of viruses (for example, WHV) is unique in that the process of replicating genomic copies of the virus and the production of viral proteins (for example, HBV or WHV surface antigens)

WO 01/91737

PCT/US01/17301

are differentially regulated (Ganem, D. *Hepadnaviridae* In "Fields Virology", Fields BN, Knipe DM, Howley P, ed. Lippincott-Raven 1996 Philadelphia, 2703-2737). Therefore, antiviral agents, such as synthetic nucleosides (for example, lamivudine) which target viral polymerases, may significantly inhibit HBV replication (for example, as measured by a reduction in viremia), but not affect the level of viral mRNA or viral protein production (for example, as measured by the levels of HBV surface antigen in plasma or serum). Because formation of the viral envelope by the surface antigen protein is the only HBV and WHV function important for HDV, the failure to inhibit HBsAg production might play a role in the failure of lamivudine to affect HDV replication and disease.

U.S. Patent No. 5,747,044 discloses recombinantly produced immunogenic HDV polypeptides useful as vaccines.

U.S. Patent No. 5,932,219 to Chiron discloses the entire genome of the hepatitis D virus, a family of cDNA replicas of the entire HDV genome, and teaches that portions of these cDNA sequences are useful as probes to diagnose the presence of virus in clinical samples. The patent also discloses proteins encoded by the cDNA that are useful in the production of vaccines. In particular, the '219 patent discloses a vaccine for hepatitis D which incorporates the p24 and p27 viral polypeptides. U.S. Patent No. 5,750,350 to Chiron claims a kit useful in the analysis of hepatitis D virus which includes a peptide encoded by ORF 5 of the HDV genome. U.S. Patent No. 5,747,044 claims a recombinantly produced immunogenic particle which raises antibodies against HDV, wherein the particle includes an immunogenic polypeptide encoded within ORF 5 of the HDV nucleotide sequence or its complement.

U.S. Patent No. 6,020,167 assigned to Medeva Holdings B.V. discloses a method for treating chronic hepatitis, and in particular, hepatitis B, that includes administering a composition containing HBsAg.

U.S. Patent No. 5,770,584 discloses a method for treating hepatitis virus infection by administering alkyl lipids or alkyl lipid derivatives.

U.S. Patent No. 4,619,896 discloses a process for unmasking delta antigen in the blood of an animal, that includes treating serum with a surfactant and optionally with an antibody-antigen dissociating agent. The blood derived delta antigen is used as a diagnostic

WO 01/91737

PCT/US01/17301

agent in the detection and determination of different classes of antibodies to hepatitis D virus.

United States statutory invention registration H1,345 discloses a method for preventing or treating hepatitis virus by administering a protein-prenyl transferase inhibitor.

5 Surcau, et al. "Production of Infectious Hepatitis Delta Virus In Vitro and Neutralization with Antibodies Directed against Hepatitis B Virus Pre-S Antigens" Journal of Virology 1992, 1241-1245 discloses that HDV particles produced in vitro are infectious and that (i) infectious particles are coated with HBV envelope proteins that contain the pre-S1 and pre-S2 regions, (ii) epitopes of the pre-S1 and pre-S2 domains of HBV envelope
10 proteins are exposed at the surface of HDV particles, and (iii) that antibodies directed against those epitopes have neutralizing activity against HDV.

Recently, it has been reported that L-FMAU is a potent inhibitor of HDV in chronically infected animals. (Casey, J. L. et al., Antiviral Therapy 2000, 5(Suppl. 1), 32, Abstract 057).

15 The synthetic nucleosides β -L-2'-deoxycytidine (β -L-2'-dC), β -L-2'-deoxythymidine (β -L-dT) and β -L-2'-deoxyadenosine (β -L-2'-dA), are also known in the art. Antonin Holy first disclosed β -L-dC and β -L-dT in 1972, "Nucleic Acid Components and Their Analogs. CLIII. Preparation of 2'-deoxy-L-Ribonucleosides of the Pyrimidine Series" Collect Czech Chem Commun 1972, 37(12), 4072-87. Monis S. Zedeck et al. first disclosed β -L-dA for
20 the inhibition of the synthesis of induced enzymes in *Pseudomonas testosteroni* (Mol Phys 1967, 3(4), 386-95).

Certain 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides are known to have anti-neoplastic and selected antiviral activities. Verri et al. disclose the use of 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides as antineoplastic agents and as anti-herpetic agents (Mol
25 Pharmacol 1997, 51(1), 132-138 and Biochem J 1997, 328(1), 317-20). Saneyoshi et al. demonstrate the use of 2'-deoxy-L-ribonucleosides as reverse transcriptase (I) inhibitors for the control of retroviruses and for the treatment of AIDS, Japanese Kokai Tokyo Koho JP 06293645 (1994).

Giovanni et al. tested 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides against partially
30 pseudorabies virus (PRV) (Biochem J 1993, 294(2), 381-5).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Chemotherapeutic uses of 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides were studied by Tyrsted et al. Biochem Biophys Acta 1968, 155(2), 619-22 and Bloch, et al. J Med Chem 1967, 10(5), 908-12.

5 β -L-2'-deoxythymidine (β -L-dT) is known in the art to inhibit herpes simplex virus type 1 (HSV-1) thymidine kinase (TK). Iotti et al., WO 92/08727, teaches that β -L-dT selectively inhibits the phosphorylation of D-thymidine by HSV-1 TK, but not by human TK. Spaldari et al. reported that L-thymidine is phosphorylated by herpes simplex virus type 1 thymidine kinase and inhibits viral growth, J Med Chem 1992, 35(22), 4214-20.

10 The synthetic nucleosides β -L-2'-deoxycytidine (β -L-2'-dC), β -L-2'-deoxythymidine (β -L-dT), β -L-2'-deoxyinosine (β -L-dI) and β -L-2'-deoxyadenosine (β -L-2'-dA) have recently been disclosed in the art for the treatment of hepatitis B virus. Gilles Gosselin et al. disclosed the use of β -L-dI, β -L-dA, β -L-dC and β -L-dT, and pharmaceutically acceptable salts and prodrugs thereof for the treatment of hepatitis B virus in WO 00/09531 (PCT/US99/18149).

15 PCT/US01/09987 filed by Georgetown University, Cornell University and the University of Georgia Research Foundation, Inc. describes that the administration of a nucleoside or nucleoside analog that substantially reduces the level of hepatitis B surface antigen (referred to therein as HBsAg) in a host is useful in the treatment of hepatitis delta viral infection in that host. In one embodiment PCT/US01/09987 describes that 2'-fluoro-5-methyl-beta-L-arabinofuranosyluridine (L-FMAU) significantly reduces the level of hepatitis B surface antigen, and thus is useful in the treatment of hepatitis delta infections.

20 Because of the large number of persons infected with hepatitis delta virus, the devastating effects of hepatitis delta virus infection on the individual, and the lack of effective treatments, there is a critical need for new and effective for the treatment of hepatitis delta virus infection.

25 Therefore, it is an object of the present invention to provide methods for the treatment of a host, including a human, infected with hepatitis delta virus.

WO 01/91737

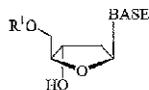
PCT/US01/17301

SUMMARY OF THE INVENTION

A method for the treatment of hepatitis delta infection in humans and other hosts is disclosed that includes administering an effective amount of a biologically active 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside (referred to alternatively herein as a β -L-d-nucleoside or a β -L-2'-d-nucleoside) or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, administered either alone or in combination or alternation, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier. The term 2'-deoxy, as used in this specification, refers to a nucleoside that has no substituent in the 2'-position.

The disclosed 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides, or pharmaceutically acceptable prodrugs or salts or pharmaceutically acceptable formulations containing these compounds are useful in the prevention and treatment of hepatitis D infections and other related conditions such as chronic liver inflammation caused by HDV, cirrhosis, acute hepatitis, fulminant hepatitis, chronic persistent hepatitis, and fatigue. These compounds or formulations can also be used prophylactically to prevent or retard the progression of clinical illness in individuals who are infected with HDV or who have been exposed to HDV.

In one embodiment of the present invention, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is a compound of the formula:



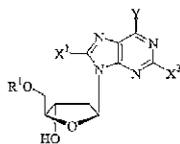
wherein R^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

In another embodiment of the present invention, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxypurine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, of the formula:



5 wherein R¹ is selected from the group consisting of H, 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;

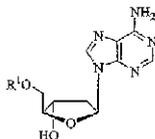
Y is OR³, NR²R⁴ or SR²; and

10 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, OR⁵, NR⁵NR⁶ or SR⁵; and

R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are independently H, 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.

15

In a particular embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxyadenosine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, of the formula:



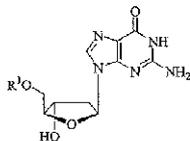
20 wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleoside prodrug).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

In a preferred embodiment, R¹ is H.

In another particular embodiment, the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β-L-2'-deoxyguanosine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:

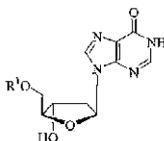


5

wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In another particular embodiment, the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β-L-2'-deoxyinosine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:

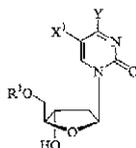
10



wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In another embodiment of the present invention, the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β-L-2'-deoxypyrimidine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, of the formula:

15



10

WO 01/91737

PCT/US01/17301

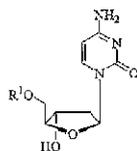
wherein R^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

5 Y is OR^3 , NR^3R^4 or SR^3 ; and

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen, OR^5 , NR^5NR^6 or SR^5 ; and

10 R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are independently H, 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.

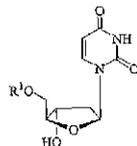
In one particular embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxycytidine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:



15 wherein R^1 is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In a preferred embodiment, R^1 is H.

20 In another embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxyuridine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:

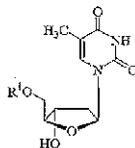


WO 01/91737

PCT/US01/17301

wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In another embodiment, the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β-L-thymidine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:



5

wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In a preferred embodiment, R¹ is H.

In another embodiment, the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside, its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, is administered in alternation or combination with one or more other 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleosides, its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, or one or more other compounds which exhibit activity against hepatitis D virus. In general, during alternation therapy, an effective dosage of each agent is administered serially, whereas in combination therapy, an effective dosage of two or more agents is administered together. 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 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.

In another embodiment, the invention includes a method for the treatment of humans infected with HDV that includes administering an HDV treatment amount of a prodrug of the disclosed 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside derivatives. A prodrug, as used herein, refers to a compound that is converted into the nucleoside on administration *in vivo*. Nonlimiting examples include pharmaceutically acceptable salt (alternatively referred to as

WO 01/91737

PCT/US01/17301

"physiologically acceptable salts"), the 5', N⁴ (cytidine) and/or N⁶ (adenosine) acylated or alkylated derivatives of the active compound, the 5'-phospholipid, and/or the 5'-ether lipids of the active compound.

5 In a preferred embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is in the form of a pharmaceutically acceptable prodrug, in that the 5'-hydroxyl is acylated with an amino acid. In an even more preferred embodiment, the amino acid is valine.

BRIEF DESCRIPTION OF THE FIGURES

Figure 1 illustrates a general process for obtaining β -L-erythro-pentafuranonucleosides (β -L-dN) using L-ribose or L-xylose as a starting material.

10 **Figure 2** illustrates a non-limiting example of the synthesis of L-deoxyadenosine using L-ribose as a starting material.

Figure 3 illustrates a non-limiting example of the synthesis of β -L-dC (3a) and β -L-dT (3b) using L-arabinose as a starting material.

15 **Figure 4** is a graph that illustrates the metabolism of L-dA, L-dC and L-dT in human HepG2 cells in terms of accumulation and decay. The cells were incubated with 10 μ M of compound.

Figure 5 is a graph that illustrates the antiviral effect of β -L-dA, β -L-dT and β -L-dC in the woodchuck chronic hepatitis model.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

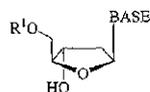
20 A method for the treatment of hepatitis delta infection in humans and other hosts is disclosed that includes administering an effective amount of a biologically active 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside (referred to alternatively herein as a β -L-d-nucleoside or a β -L-2'-d-nucleoside) or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, administered either alone or in combination, optionally in a pharmaceutically acceptable
25 carrier. The term 2'-deoxy, as used in this specification, refers to a nucleoside that has no substituent in the 2'-position.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

The disclosed 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides, or pharmaceutically acceptable prodrugs or salts or pharmaceutically acceptable formulations containing these compounds are useful in the prevention and treatment of hepatitis D infections and other related conditions such as chronic liver inflammation caused by HDV, cirrhosis, acute hepatitis, fulminant hepatitis, chronic persistent hepatitis and fatigue. These compounds or formulations can also be used prophylactically to prevent or retard the progression of clinical illness in individuals who are infected with HDV or who have been exposed to HDV.

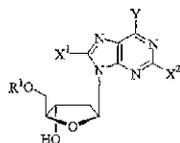
In one embodiment of the present invention, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is a compound of the formula:



wherein R^1 is selected from the group consisting of H, 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; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

In another embodiment of the present invention, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxypurine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, of the formula:



wherein R^1 is selected from the group consisting of H, 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;

WO 01/91737

PCT/US01/17301

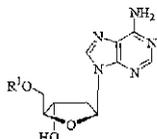
Y is OR^3 , NR^3R^4 or SR^3 ; and

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^5 , NR^5NR^6 or SR^5 ; and

- 5 R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are independently H, 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.

In a particular embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxyadenosine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, of the formula:

10

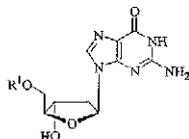


wherein R^1 is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In a preferred embodiment, R^1 is H.

15

In another particular embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxyguanosine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:



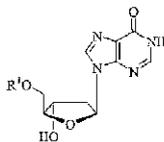
wherein R^1 is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

20

WO 01/91737

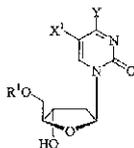
PCT/US01/17301

In another particular embodiment, the 2'-deoxy- β -L-crythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxyinosine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:



- 5 wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In another embodiment of the present invention, the 2'-deoxy- β -L-crythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxypyrimidine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, of the formula:



- 10 wherein R¹ is selected from the group consisting of H, 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;

- 15 Y is OR³, NR³R⁴ or SR³; and

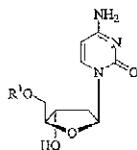
X¹ is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen, OR⁵, NR⁵NR⁶ or SR⁵; and

- 20 R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are independently H, 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.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

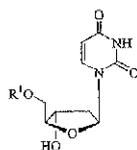
In one particular embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxycytidine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:



5 wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

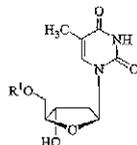
In a preferred embodiment, R¹ is H.

In another embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-2'-deoxyuridine or pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:



10 wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In another embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative is β -L-thymidine or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof of the formula:



WO 01/91737

PCT/US01/17301

wherein R¹ is H, mono, di or tri phosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative (to form a stabilized nucleotide prodrug).

In a preferred embodiment, R¹ is H.

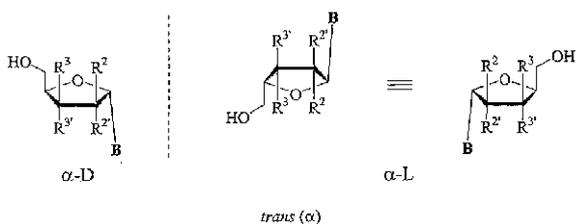
5 In another embodiment, the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside, its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, is administered in alternation or combination with one or more other 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleosides, its pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, or one or more other compounds which exhibit activity against hepatitis D virus. In general, during alternation therapy, an effective dosage of each agent is administered serially, whereas in combination therapy, an effective dosage of two or more agents is administered together. 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 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.

15 In another embodiment, the invention includes a method for the treatment of humans infected with HDV that includes administering an HDV treatment amount of a prodrug of the disclosed 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside derivatives. A prodrug, as used herein, refers to a compound that is converted into the nucleoside on administration *in vivo*. Nonlimiting examples include pharmaceutically acceptable salt (alternatively referred to as "physiologically acceptable salts"), the 5', N⁴ (cytidine) and/or N⁶ (adenosine) acylated or alkylated derivatives of the active compound, the 5'-phospholipid, and/or the 5'-ether lipids of the active compound.

25 In a preferred embodiment, the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside of the present invention is in the form of a pharmaceutically acceptable prodrug, in that the 5'-hydroxyl is acylated with an amino acid. In an even more preferred embodiment, the amino acid is valine.

WO 01/91737

PCT/US01/17301



Definitions

As used herein, the term "substantially in the form of a single isomer" or "in isolated form" refers to a 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside that is at least approximately 95%, and preferably, at least 98% or 99%, in the designated stereoconfiguration. In a preferred embodiment, the active compound is administered in at least this level of purity to the host in need of therapy.

As used herein, the term hepatitis D and related conditions refers to hepatitis D infection, chronic liver inflammation associated with HDV, cirrhosis, acute hepatitis, fulminant hepatitis, chronic persistent hepatitis, and fatigue. The method of the present invention includes the use of 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivatives, their pharmaceutically acceptable salts or prodrugs thereof, prophylactically to prevent or retard the progression of clinical illness in individuals who are infected with or who have been exposed to HBV.

As used herein, the term alkyl, unless otherwise specified, refers to a saturated straight, branched, or cyclic, primary, secondary, or tertiary hydrocarbon, typically of C₁ to C₁₂, preferably C₁ to C₆ and specifically includes but is not limited to methyl, trifluoromethyl, ethyl, propyl, butyl, pentyl, hexyl, isopropyl, isobutyl, sec-butyl, t-butyl, isopentyl, amyl, t-pentyl, cyclopentyl, and cyclohexyl. 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

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Groups in Organic Synthesis," John Wiley and Sons, Second Edition, 1991, hereby incorporated by reference.

As used herein, the term acyl refers to moiety of the formula -C(O)R', wherein R' is alkyl, aryl, alkaryl, aralkyl, heteroaromatic, alkoxyalkyl (including methoxymethyl), arylalkyl (including benzyl), aryloxyalkyl (such as phenoxymethyl) or aryl (including phenyl) optionally substituted with halogen, C₁ to C₄ alkyl or C₁ to C₄ alkoxy, or the residue of an amino acid. The term acyl specifically includes but is not limited to acetyl, propionyl, butyryl, pentanoyl, 3-methylbutyryl, hydrogen succinate, 3-chlorobenzoate, benzoyl, acetyl, pivaloyl, mesylate, propionyl, valeryl, caproic, caprylic, capric, lauric, myristic, palmitic, stearic, and oleic, and can also be the residue of an amino acid.

As used herein, 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-azauracil, triazolopyridinyl, imidazolopyridinyl, pyrrolo-pyrimidinyl, and pyrazolopyrimidinyl.

Examples of bases include cytosine, 5-fluorocytosine, 5-bromocytosine, 5-iodocytosine, 5-chlorocytosine, uracil, 5-fluorouracil, 5-bromouracil, 5-iodouracil, 5-methyluracil, thymine, adenine, guanine, inosine, xanthine, 2,6-diaminopurine, 6-aminopurine, 6-chloro-purine and 2,6-dichloropurine, 6-bromopurine, 2,6-dibromopurine, 6-iodopurine, 2,6-di-iodopurine, hypoxanthine, 2-(Br, F, Cl or I)-purine optionally with a substituent including an amino or carbonyl group in the 6-position, and 6-(Br, Cl, or I)-purine optionally with a substituent including an amino or carbonyl group in the 2-position, 5-bromovinylcytosine, 5-bromovinyluracil, 5-bromoethenylcytosine, 5-bromoethenyluracil, 5-trifluoromethylcytosine, and 5-trifluoromethyluracil.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

The term prodrug, as used herein, refers to a compound that is converted into the nucleoside on administration *in vivo*. Nonlimiting examples are pharmaceutically acceptable salts (alternatively referred to as "physiologically acceptable salts"), the 5'-and/or the N⁴ or N⁶ acylated or alkylated derivatives of the active compound, and the 5'-phospholipid and the 5'-ether lipid derivatives of the active compound.

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. Alternatively, the host can be carrying a part of the hepatitis delta 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 HDV genome and animals, in particular, primates (including chimpanzees) and 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).

Pharmaceutically Acceptable Salts and Prodrugs

As used herein, the term pharmaceutically acceptable salts or complexes refers to salts or complexes of the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides that retain the desired biological activity of the parent compound and exhibit minimal, if any, undesired toxicological effects. Nonlimiting examples of such salts are (a) acid addition salts formed with inorganic acids (for example, hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, phosphoric acid, nitric acid, and the like), and salts formed with organic acids such as acetic acid, oxalic acid, tartaric acid, succinic acid, malic acid, ascorbic acid, benzoic acid, tannic acid, palmoic acid, alginic acid, polyglutamic acid, naphthalenesulfonic acids, naphthalenedisulfonic acids, and polygalacturonic acid; (b) base addition salts formed with cations such as sodium, potassium, zinc, calcium, bismuth, barium, magnesium, aluminum, copper, cobalt, nickel, cadmium, sodium, potassium, and the like, or with an organic cation formed from *N,N*-dibenzylethylene-diamine, ammonium, or ethylenediamine; or (c) combinations of (a) and (b); e.g., a zinc tannate salt or the like.

The 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside can be provided as a 5'-phospholipid or a 5'-ether lipid, as disclosed in the following references: Kucera, L. S.; Lyer, N;

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Leake, E.; Raben, A.; Modest, E. J.; D. L. W.; and Piantadosi, C. "Novel membrane-interactive ether lipid analogs that inhibit infectious HIV-1 production and induce defective virus formation" *AIDS Res Hum Retroviruses*, **1990**, *6*, 491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C. J., S. L. Morris-Natschke, K. L. Meyer, F. Gumm, J. R. Surles, K. S. Ishaq, L. S. Kucera, N. Lyer, C.A. Wallen, S. Piantadosi, and E. J. Modest "Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV activity" *J Med Chem*, **1991**, *34*, 1408-1414; Hostetler, K. Y.; Richman, D. D.; Carson, D. A.; Stuhmiller, L. M.; van Wijk, G. M. T.; and van den Bosch, H. "Greatly enhanced inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication in CEM and HT4-6C cells by 31-deoxythymidine diphosphate dimyristoylglycerol, a lipid prodrug of 31-deoxythymidine" *Antimicrob Agents Chemother* **1992**, *36*, 2025-2029; Hostetler, K. Y., Stuhmiller, L. M.; Lenting, H. B.; van den Bosch, H.; and Richman, D. D. "Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides" *J Biol Chem*, **1990**, *265*, 6112-7.

The 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside can be converted into a pharmaceutically acceptable ester by reaction with an appropriate esterifying agent, for example, an acid halide or anhydride. The nucleoside or its pharmaceutically acceptable prodrug can be converted into a pharmaceutically acceptable salt thereof in a conventional manner, for example, by treatment with an appropriate base or acid. The ester or salt can be converted into the parent nucleoside, for example, by hydrolysis.

Modifications of the active compounds, specifically at the N⁴, N⁶ and 5'-O positions, can affect the bioavailability and rate of metabolism of the active species, thus providing control over the delivery of the active species.

A preferred embodiment of the present invention is a method for the treatment of HDV infections in humans or other host animals, that includes administering an effective amount of one or more of a 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative selected from the group consisting of β -L-2'-deoxyadenosine, β -L-2'-deoxycytidine, β -L-2'-deoxyuridine, β -L-2'-guanosine, β -L-2'-deoxyinosine, and β -L-2'-deoxythymidine, or a physiologically acceptable prodrug thereof, including a phosphate, 5' and/ or N⁴ or N⁶ alkylated or acylated derivative, or a physiologically acceptable salt thereof, optionally in a pharmaceutically acceptable carrier. The compounds of this invention either possess direct anti-HDV activity, or are metabolized to a compound or compounds that exhibit anti-HDV activity. In a preferred embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is

WO 01/91737

PCT/US01/17301

administered substantially in the form of a single isomer, i.e., at least approximately 95% in the designated stereoconfiguration.

Any of the nucleosides described herein can be administered as a stabilized prodrug to increase the activity, bioavailability, stability or other properties that alter 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*, 1995, 27, 1-17. Any of these can be used in combination with the disclosed nucleosides to achieve a desired effect.

In one embodiment, the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is provided as 5'-hydroxyl lipophilic prodrug. 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.).

Foreign patent applications that disclose lipophilic substituents that can be attached to the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivative 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.

Additional nonlimiting examples of 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides are those that contain substituents as described in the following publications. These derivatized 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides can be used for the indications described in the text or otherwise as antiviral agents, including as anti-HBV agents (Ho, D. H. W. "Distribution of kinase and deaminase of 1 β -D-arabinofuranosylcytosine in tissues of man and mouse" *Cancer Res* 1973, 33, 2816-2820; Holy, A. "Isopolar phosphorous-

WO 01/1737

PCT/US01/17301

- modified nucleotide analogues" In: *Advances in Antiviral Drug Design*, De Clercq (Ed.), JAI Press: 1993, Vol. I, 179-231; Hong, C.I., Nechaev, A., and West, C. R. "Synthesis and antitumor activity of 1 β -D-arabinofuranosylcytosine conjugates of cortisol and cortisone" *Biochem Biophys Res Commun.* 1979a, 88, 1223-1229; Hong, C.I., Nechaev, A., Kirsits, A.
- 5 J. Buchheit, D. J. and West, C. R. "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.* 1980, 23, 171-177; Hostetler, K. Y., Stuhmiller, L. M., Lenting, H. B. M. van den Bosch, H. and Richman, D. D. "Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other
- 10 antiviral nucleosides" *J Biol Chem.* 1990, 265, 6112-6117; Hostetler, K. Y., Carson, D. A. and Richman, D. D. "Phosphatidylazidothymidine: mechanism of antiretroviral action in CEM cells" *J Biol Chem.* 1991, 266, 11714-11717; Hostetler, K. Y., Korba, B. Sridhar, C., Gardener, M. "Antiviral activity of phosphatidyl-dideoxycytidine in hepatitis B-infected cells and enhanced hepatic uptake in mice" *Antiviral Res.* 1994a, 24, 59-67; Hostetler, K.
- 15 Y., Richman, D. D., Sridhar, C. N. Feigner, P. L., Feigner, J., Ricci, J., Gardener, M. F. Selleseth, D. W. and Ellis, M. N. "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* 1994b, 38, 2792-2797; Hunston, R.N., Jones, A. A.
- 20 McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J., and De Clercq, E. "Synthesis and biological properties of some cyclic phosphotriesters derived from 2'-deoxy-5-fluorouridine" *J Med Chem.* 1984, 27, 440-444; Ji, Y. H., Moog, C., Schmitt, G., Bischoff, P. and Luu, B. "Monophosphoric acid diesters of 7 β -hydroxy-cholesterol and of pyrimidine nucleosides as potential antitumor agents: synthesis and preliminary evaluation of antitumor activity" *J*
- 25 *Med Chem.* 1990, 33, 2264-2270; Jones, A. S., McGuigan, C., Walker, R. T., Balzarini, J. and DeClercq, E. "Synthesis, properties, and biological activity of some nucleoside cyclic phosphoramidates" *J Chem Soc Perkin Trans I*, 1984, 1471-1474; Juodka, B. A. and Smart, J. "Synthesis of di-ribonucleoside a(P \rightarrow N) amino acid derivatives" *Coll Czech Chem Commun.* 1974, 39, 363-368; Kataoka, S., Imai, J., Yamaji, N., Kato, M., Saito, M., Kawada, T. and Imai, S. "Alkylated cAMP derivatives; selective synthesis and biological activities"
- 30 *Nucleic Acids Res Sym Ser.* 1989, 21, 1-2; Kataoka, S., Uchida, R. and Yamaji, N. "A convenient synthesis of adenosine 3',5' cyclic phosphate (cAMP) benzyl and methyl

WO 01/1737

PCT/US01/17301

- triesters" Heterocycles, 1991, 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. "Comparison of antiviral effects of zidovudine phosphoramidate and phosphorodiamidate derivatives against HIV and MuLV *in vitro*" Antiviral Chem Chemother, 1992, 3, 107-112;
- 5 Kodama, K., Morozumi, M., Saitoh, K. I., Kuninaka, H., Yoshino, H. and Saneyoshi, M. "Antitumor activity and pharmacology of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-5'-stearylphosphate; an orally active derivative of 1- β -D-arabinofuranosylcytosine" Jpn J Cancer Res, 1989, 80, 679-685; Korty, M. and Engels, J. "The effects of adenosine- and guanosine 3',5'-phosphoric and acid benzyl esters on guinea-pig ventricular myocardium" Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 1979, 310, 103-111; Kumar, A., Goc, P. L.,
- 10 Jones, A. S. Walker, R. T. Balzarini, J. and De Clercq, E. "Synthesis and biological evaluation of some cyclic phosphoramidate nucleoside derivatives" J Med Chem, 1990, 33, 2368-2375; LeBeo, C., and Huynh-Dinh, T. "Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs" Tetrahedron Lett,
- 15 1991, 32, 6553-6556; Lichtenstein, J., Barner, H. D. and Cohen, S. S. "The metabolism of exogenously supplied nucleotides by *Escherichia coli*" J Biol Chem 1960, 235, 457-465; Luehly, J., Von Daeniken, A., Friederich, J. Manthey, B., Zweifel, J., Schlatter, C. and Benn, M. H. "Synthesis and toxicological properties of three naturally occurring cyanoepithioalkanes" Mitt Ges Lebensmittelunters Hyg 1981, 72, 131-133 (Chem Abstr,
- 20 95, 127093); McGuigan, C. Tollerfield, S. M. and Riley, P.A. "Synthesis and biological evaluation of some phosphate triester derivatives of the anti-viral drug Ara" Nucleic Acids Res, 1989, 17, 6065-6075; McGuigan, C., Devine, K. G., O'Connor, T. J., Galpin, S.A., Jeffries, D. J. and Kinchington, D. "Synthesis and evaluation of some novel phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) as anti-HIV
- 25 compounds" Antiviral Chem Chemother, 1990a, 1, 107-113; McGuigan, C., O'Connor, T. J., Nicholls, S.R. Nickson, C. and Kinchington, D. "Synthesis and anti-HIV activity of some novel substituted dialkyl phosphate derivatives of AZT and ddCyd" Antiviral Chem Chemother, 1990b, 1, 355-360; McGuigan, C., Nicholls, S.R., O'Connor, T. J., and Kinchington, D. "Synthesis of some novel dialkyl phosphate derivative of 3'-modified
- 30 nucleosides as potential anti-AIDS drugs" Antiviral Chem Chemother, 1990c, 1, 25-33; McGuigan, C., Devine, K. G., O'Connor, T. J., and Kinchington, D. "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,

WO 01/91737

PCT/US01/17301

1991, 15, 255-263; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Mahmood, N., Devine, K. G. and Hay, A. J. "Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV-1 in cell lines which are resistant to the action of AZT" *Antiviral Res.* 1992, 17, 311-321; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Choi, S. M., Kinchington, D. and O'Connor, T. J. "Phosphoramidate derivatives of AZT as inhibitors of HIV; studies on the carboxyl terminus" *Antiviral Chem Chemother.* 1993a, 4, 97-101; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Balzarini, J. and De Clercq, E. "Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT" *J Med Chem.* 1993b, 36, 1048-1052.

The question of chair-twist equilibria for the phosphate rings of nucleoside cyclic 3',5'-monophosphates is analyzed by ¹HNMR and x-ray crystallographic studies 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. "New photoactivatable cyclic nucleotides produce intracellular jumps in cyclic AMP and cyclic GMP concentrations" *Nature* 1984, 301, 74-76; Neumann, J. M., Hervé, M., Debouzy, J.C., Gueira, F. I., Gouyette, C., Dupraz, B. and Huynh-Dinh, T. "Synthesis and transmembrane transport studies by NMR of a glucosyl phospholipid of thymidine" *J Am Chem Soc.* 1989, 111, 4270-4277; Ohno, R., Tatsumi, N., Hirano, M., Imai, K., Mizoguchi, H., Nakamura, T., Kosaka, M., Takatsuki, K., Yamaya, T., Toyama, K., Yoshida, T., Masaoka, T., Hashimoto, S., Ohshima, T., Kimura, I., Yamada, K. and Kimura, J. "Treatment of myelodysplastic syndromes with orally administered 1-β-D-rabinofuranosylcytosine -5'-stearylphosphate" *Oncology*, 1991, 48, 451-455.

Palomino, E., Kessle, D. and Horwitz, J.P. "A dihydropyridine carrier system for sustained delivery of 2',3'-dideoxynucleosides to the brain" *J Med Chem.* 1989, 32, 622-625; Perkins, R. M., Barney, S., Witrock, 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. "Activity of BRL47923 and its oral prodrug, SB203657A against a rauscher murine leukemia virus infection in mice" *Antiviral Res.* 1993, 20(Suppl. D), 84; Piantadosi, C., Marasco, C. J., Jr., Morris-Natschke, S. L., Meyer, K. L., Gumus, F., Surles, J. R., Ishaq, K. S., Kucera, L. S. Iyer, N., Wallen, C.A., Piantadosi, S. and Modest, E. J. "Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV-1 activity" *J Med Chem.* 1991, 34, 1408-1414; Pompon, A., Lefebvre, I., Imbach, J. L., Kahn, S. and Farquhar, D. "Decomposition pathways of the mono- and

WO 01/1737

PCT/US01/17301

- bis(pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidino-5'-monophosphate in cell extract and in tissue culture medium; an application of the 'on-line ISRP-cleaning' HPLC technique" Antiviral Chem Chemother, 1994, 5, 91-98; Postemark, T. "Cyclic AMP and cyclic GMP" Annu Rev Pharmacol, 1974, 14, 23-33; Prisbe, E. J., Marín, J. C. M., McGee, D. P. C.,
- 5 Barker, M. F., Smee, D. F. Duke, A. E., Matthews, T. R. and Verheyden, J. P. J. "Synthesis and anti-herpes virus activity of phosphate and phosphonate derivatives of 9-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)methyl] guanine" J Med Chem, 1986, 29, 671-675; Puech, F., Gosselin, G., Lefebvre, I., Pompon, A., Auberlin, A.M. Dirn, A. and Imbach, J. L. "Intracellular delivery of nucleoside monophosphate through a reductase-mediated
- 10 activation process" Antiviral Res, 1993, 22, 155-174; Pugaeva, V.P.; Klochkeva, S. I., Mashbits, F. D. and Eizengart, R. S. (1969) Robins, R. K. "The potential of nucleotide analogs as inhibitors of retroviruses and tumors" Pharm Res, 1984, 11-18; Rosowsky, A., Kim, S. H., Ross and J. Wick, M. M. "Lipophilic 5'-(alkylphosphate) esters of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine and its N⁴-acyl and 2.2'-anhydro-3'-O-acyl derivatives as potential
- 15 prodrugs" J Med Chem, 1982, 25, 171-178; Ross, W. "Increased sensitivity of the walker turnout towards aromatic nitrogen mustards carrying basic side chains following glucose pretreatment" Biochem Pharm, 1961, 8, 235-240; Ryu, E. K., Ross, R. J. Matsushita, T., MacCosas, M., Hong, C.I. and West, C. R. "Phospholipid-nucleoside conjugates. 3. Synthesis and preliminary biological evaluation of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine
- 20 5'diphosphate[-], 2-diacylglycerols" J Med Chem, 1982, 25, 1322-1329; Saffhill, R. and Hume, W. J. "The degradation of 5-iododeoxyuridine and 5-bromodeoxyuridine by serum from different sources and its consequences for the use of these compounds for incorporation into DNA" Chem Biol Interact, 1986, 57, 347-355; Saneyoshi, M., Morozumi, M., Kodama, K., Machida, J., Kuninaka, A. and Yoshino, H. "Synthetic nucleosides and
- 25 nucleotides. XVI. Synthesis and biological evaluations of a series of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine 5'-alkyl or arylphosphates" Chem Pharm Bull, 1980, 28, 2915-2923; Sastry, J. K., Nehete, P. N., Khan, S., Nowak, B. J., Plunkett, W., Arlinghaus, R. B. and Farquhar, D. "Membrane-permeable dideoxyuridine 5'-monophosphate analogue inhibits human immunodeficiency virus infection" Mol Pharmacol, 1992, 41, 441-445;
- 30 Shaw, J.P., Jones, R. J. Arimilli, M. N., Louie, M. S., Lee, W. A. and Cundy, K. C. "Oral bioavailability of PMEA from PMEA prodrugs in male Sprague-Dawley rats" 9th Annual AAPS Meeting, San Diego, CA, 1994 (Abstract). Shuto, S., Ueda, S., Imamura, S., Fukukawa, K. Matsuda, A. and Ueda, T. "A facile one-step synthesis of 5'-

WO 01/91737

PCT/US01/17301

phosphatidyl nucleosides by an enzymatic two-phase reaction" Tetrahedron Lett., 1987, 28, 199-202; Shuto, S., Itoh, H., Ueda, S., Imamura, S., Kikukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. and Ueda, T. "A facile enzymatic synthesis of 5'-(3-sn-phosphatidyl)-nucleosides and their antileukemic activities" Chem Pharm Bull., 1988, 36, 209-217. One preferred phosphate prodrug group is the S-acyl-2-thioethyl group, also referred to as "SATE."

Pharmaceutical Compositions

Pharmaceutical compositions based upon 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivatives of the present invention can be prepared that include the above-described compound or its salt or prodrug in a therapeutically effective amount for treating a hepatitis D infection, optionally in combination with a pharmaceutically acceptable additive, carrier or excipient. The therapeutically effective amount may vary with the infection or condition to be treated, its severity, the treatment regimen to be employed, the pharmacokinetics of the agent used, as well as the patient treated.

In one aspect according to the present invention, the compound according to the present invention is formulated preferably in admixture with a pharmaceutically acceptable carrier. In general, it is preferable to administer the pharmaceutical composition in orally administrable form, but formulations may be administered via parenteral, intravenous, intramuscular, transdermal, buccal, subcutaneous, suppository or other route. Intravenous and intramuscular formulations are preferably administered in sterile saline. One of ordinary skill in the art may modify the formulation within the teachings of the specification to provide numerous formulations for a particular route of administration without rendering the compositions of the present invention unstable or compromising its therapeutic activity. In particular, a modification of a desired compound to render it more soluble in water or other vehicle, for example, may be easily accomplished by routine modification (salt formulation, esterification, etc.).

In certain pharmaceutical dosage forms, the prodrug form of the compound, especially including acylated (acetylated or other) and ether derivatives, phosphate esters and various salt forms of the present compounds, is preferred. One of ordinary skill in the art will recognize how to readily modify the present compound to a prodrug form to facilitate delivery of active compound to a targeted site within the host organism or patient.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

The artisan also will take advantage of favorable pharmacokinetic parameters of the prodrug form, where applicable, in delivering the desired compound to a targeted site within the host organism or patient to maximize the intended effect of the compound in the treatment of hepatitis D infection.

5 The amount of compound included within therapeutically active formulations, according to the present invention, is an effective amount for treating the infection or condition, in preferred embodiments, a hepatitis D infection. In general, a therapeutically effective amount of the present compound in pharmaceutical dosage form usually ranges from about 0.1 mg/kg to about 100 mg/kg or more, depending upon the compound used, the condition or infection treated and the route of administration. For purposes of the present invention, a prophylactically or preventively effective amount of the compositions, according to the present invention, falls within the same concentration range as set forth above for therapeutically effective amount and is usually the same as a therapeutically effective amount.

15 Administration of the active compound may range from continuous (intravenous drip) to several oral administrations per day (for example, Q.I.D., B.I.D., etc.) and may include oral, topical, parenteral, intramuscular, intravenous, subcutaneous, transdermal (which may include a penetration enhancement agent), buccal and suppository administration, among other routes of administration. Enteric-coated oral tablets may also be used to enhance bioavailability and stability of the compounds from an oral route of administration. The most effective dosage form will depend upon the pharmacokinetics of the particular agent chosen, as well as the severity of disease in the patient. Oral dosage forms are particularly preferred, because of ease of administration and prospective favorable patient compliance.

25 To prepare the pharmaceutical compositions according to the present invention, a therapeutically effective amount of one or more of the compounds according to the present invention is preferably mixed with a pharmaceutically acceptable carrier according to conventional pharmaceutical compounding techniques to produce a dose. A carrier may take a wide variety of forms depending on the form of preparation desired for administration, e.g., oral or parenteral. In preparing pharmaceutical compositions in oral dosage form, any of the usual pharmaceutical media may be used. Thus, for liquid oral preparations such as suspensions, elixirs and solutions, suitable carriers and additives

WO 01/91737

PCT/US01/17301

including water, glycols, oils, alcohols, flavoring agents, preservatives, coloring agents and the like may be used. For solid oral preparations such as powders, tablets, capsules, and for solid preparations such as suppositories, suitable carriers and additives including starches, sugar carriers, such as dextrose, mannitol, lactose and related carriers, diluents, granulating agents, lubricants, binders, disintegrating agents and the like may be used. If desired, the tablets or capsules may be enteric-coated for sustained release by standard techniques. The use of these dosage forms may significantly impact the bioavailability of the compounds in the patient.

For parenteral formulations, the carrier will usually comprise sterile water or aqueous sodium chloride solution, though other ingredients, including those that aid dispersion, also may be included. Where sterile water is to be used and maintained as sterile, the compositions and carriers must also be sterilized. Injectable suspensions may also be prepared, in which case appropriate liquid carriers, suspending agents and the like may be employed.

Liposomal suspensions (including liposomes targeted to viral antigens) may also be prepared by conventional methods to produce pharmaceutically acceptable carriers. This may be appropriate for the delivery of free nucleosides, acyl nucleosides or phosphate ester prodrug forms of the nucleoside compounds according to the present invention.

In particularly preferred embodiments according to the present invention, the compounds and compositions are used to treat, prevent or delay the onset of hepatitis D infections. Preferably, to treat, prevent or delay the onset of infection, the compositions will be administered in oral dosage form in amounts ranging from about 250 micrograms up to about 1 gram or more at least once a day, preferably, or up to four times a day. The present compounds are preferably administered orally, but may be administered parenterally, topically or in suppository form.

The compounds according to the present invention, because of their low toxicity to host cells in certain instances, may be advantageously employed prophylactically to prevent hepatitis D infection or to prevent the occurrence of clinical symptoms associated with the viral infection. Thus, the present invention also encompasses methods for the prophylactic treatment of viral infection, and in particular hepatitis D infection. In this aspect, according to the present invention, the present compositions are used to prevent or delay the onset of a

WO 01/91737

PCT/US01/17301

hepatitis D infection. This prophylactic method comprises administration to a patient in need of such treatment, or who is at risk for the development of HDV disease, an amount of a compound according to the present invention effective for alleviating, preventing or delaying the onset of the viral infection. In the prophylactic treatment according to the present invention, it is preferred that the antiviral compound utilized should be low in toxicity and preferably non-toxic to the patient. It is particularly preferred in this aspect of the present invention that the compound that is used should be maximally effective against the virus and should exhibit a minimum of toxicity to the patient. Compounds according to the present invention, which may be used to treat these disease states, may be administered within the same dosage range for therapeutic treatment (i.e., about 250 micrograms up to 1 gram or more from one to four times per day for an oral dosage form) as a prophylactic agent to prevent the proliferation of a hepatitis D infection, or alternatively, to prolong the onset of a hepatitis D infection, which manifests itself in clinical symptoms.

In addition, compounds according to the present invention can be administered in combination or alternation with one or more antiviral, anti-HBV, anti-HCV, anti-HDV or anti-herpetic agent or interferon, anti-cancer or antibacterial agents, including other compounds of the present invention. Certain compounds according to the present invention may be effective for enhancing the biological activity of certain agents according to the present invention by reducing the metabolism, catabolism or inactivation of other compounds and as such, are co-administered for this intended effect.

Combination or Alternation Therapy

It has been recognized that drug-resistant variants of hepatitis viruses can emerge after prolonged treatment with an antiviral agent. Because of the essential role of hepatitis B virus in the lifecycle of the hepatitis D virus, compounds with anti-hepatitis B virus activity may be administered in combination or alternation with the disclosed β -2'-L-deoxynucleosides, their pharmaceutically acceptable salts or prodrugs. Drug resistance most typically occurs by mutation of a gene that encodes for an enzyme used in the viral life cycle, and most typically in the case of HBV, DNA polymerase. Recently, it has been demonstrated that the efficacy of a drug against HBV 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

WO 01/91737

PCT/US01/17301

caused by the principle drug. Alternatively, the pharmacokinetics, biodistribution, or other parameter 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.

5 The anti-hepatitis D viral activity of β -L-2'-dA, β -L-2'-dC, β -L-2'-dU, β -L-2'-dG, β -L-2'-dT, β -L-dI, or other β -L-2'-nucleosides provided herein, or the prodrugs, phosphates, or salts of these compounds, can be enhanced by administering two or more of these nucleosides in combination or alternation. Alternatively, for example, one or more of β -L-2'-dA, β -L-2'-dC, β -L-2'-dU, β -L-2'-dG, β -L-2'-dT, β -L-dI, or other β -L-2'-nucleosides
10 provided herein can be administered in combination or alternation with 3TC, FTC, L-FMAU, DAPD, famciclovir, penciclovir, BMS-200475, bis pom PME Λ (adefovir, dipivoxil), lobucavir, ganciclovir, or ribavirin.

In any of the embodiments described herein, if the β -L-2'-nucleoside of the present invention is administered in combination or alternation with a second nucleoside or non-nucleoside polymerase inhibitor that is phosphorylated to an active form, it is preferred that
15 a second compound be phosphorylated by an enzyme that is different from that which phosphorylates the selected β -L-2'-nucleoside of the present invention *in vivo*. Examples of kinase enzymes are thymidine kinase, cytosine kinase, guanosine kinase, adenosine kinase, deoxycytidine kinase, 5'-nucleotidase, and deoxyguanosine kinase.

20 Preparation of the Active Compounds

The 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside derivatives of the present invention are known in the art and can be prepared according to the method disclosed by Holy, Collect Czech Chem Commun, 1972, 37(12), 4072-87 and Mol Phys, 1967, 3(4), 386-95.

25 A general process for obtaining β -L-erythro-pentafuranonucleosides (β -L-dN) is shown in Figure 1, using L-ribose or L-xylose as a starting material.

Mono, di, and triphosphate derivatives of the active nucleosides can be prepared as described according to published methods. The monophosphate can be prepared according to the procedure of Imai et al., J Org Chem, 1969, 34(6), 1547-1550. The diphosphate can
30 be prepared according to the procedure of Davisson et al., J Org Chem, 1987, 52(9), 1794-

WO 01/91737

PCT/US01/17301

1801. The triphosphate can be prepared according to the procedure of Hoard et al., J Am Chem Soc. 1965, 87(3), 1785-1788.

EXAMPLES

Experimental Protocols

5 Melting points were determined in open capillary tubes on a Gallenkamp MFB-595-010 M apparatus and are uncorrected. The UV absorption spectra were recorded on an Uvikon 931 (KONTRON) spectrophotometer in ethanol. ¹H-NMR spectra were run at room temperature in DMSO-*d*₆ with a Bruker AC 250 or 400 spectrometer. Chemical shifts are given in ppm, DMSO-*d*₆ being set at 2.49 ppm as reference. Deuterium exchange, decoupling experiments or 2D-COSY were performed in order to confirm proton assignments. Signal multiplicities are represented by s (singlet), d (doublet), dd (doublet of doublets), t (triplet), q (quadruplet), br (broad), m (multiplet). All J-values are in Hz. FAB mass spectra were recorded in the positive- (FAB>0) or negative- (FAB<0) ion mode on a JEOL DX 300 mass spectrometer. The matrix was 3-mitrobenzyl alcohol (NBA) or a mixture 15 (50:50, v/v) of glycerol and thioglycerol (GT). Specific rotations were measured on a Perkin-Elmer 241 spectropolarimeter (path length 1 cm) and are given in units of 10⁻¹ deg cm² g⁻¹. Elemental analysis were carried out by the "Service de Microanalyses du CNRS, Division de Vernaison" (France). Analyses indicated by the symbols of the elements or functions were within ± 0.4% of theoretical values. Thin layer chromatography was performed on precoated aluminum sheets of Silica Gel 60 F₂₅₄ (Merck, Art. 5554), visualization of products being accomplished by UV absorbency followed by charring with 10% ethanolic sulfuric acid and heating. Column chromatography was carried out on Silica Gel 60 (Merck, Art. 9385) at atmospheric pressure.

Example 1 9-(3,5-Di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)adenine (3)

25 A solution of 9-(2-O-acetyl-3,5-di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)adenine **2** [Ref.: Gosselin, G.; Bergogne, M.-C.; Imbach, J.-L. "Synthesis and Antiviral Evaluation of β-L-Xylofuranosyl Nucleosides of the Five Naturally Occurring Nucleic Acid Bases" Journal of Heterocyclic Chemistry, 1993, 30, 1229-1233] (8.30 g, 16.05 mmol) and hydrazine hydrate 98% (234 mL, 48.5 mmol) in a mixture of pyridine/glacial acetic acid (4/1, v/v, 170 mL) 30 was stirred at room temperature for 22 h. The reaction was quenched by adding acetone (40

WO 01/1737

PCT/US01/17301

mL) and stirring was continued for one additional hour. The reaction mixture was reduced to one half of its volume, diluted with water (250 mL) and extracted with chloroform (2 x 150 mL). The organic layer was washed successively with an aqueous saturated solution of NaHCO₃ (3 x 100 mL) and water (3 x 100 mL), dried, filtered, concentrated and co-
 5 evaporated with toluene and methanol. The residue was purified by silica gel column chromatography (0-3% MeOH in dichloromethane) to give **3** (5.2 g, 68%) precipitated from diisopropyl ether: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 4.5-4.9 (m, 4H, H-2', H-4', H-5' and H-5''), 5.64 (t, 1H, H-3', J_{2',3'} = J_{3',4'} = 3.5 Hz), 6.3 (br s, 1H, OH-2'), 6.45 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} = 4.6 Hz), 7.3 (br s, 2H, NH₂-6), 7.4-7.9 (m, 10H, 2 benzoyls), 8.07 and 8.34 (2s, 2H, H-2 and H-
 10 8); ms : matrix G/T, (FAB⁺) m/z 476 [M+H]⁺, 136 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 474 [M-H]⁻, 134 [B]⁻; UV (95% ethanol) : λ_{max} 257 nm (ε 16400), 230 nm (ε 29300), λ_{min} 246 nm (ε 14800); [α]_D²⁰ = -64 (c 1.07, CHCl₃). Anal. Calcd for C₂₄H₂₁N₅O₄ (M = 475.45) : C, 60.43; H, 4.45; N, 14.73. Found : C, 60.41; H, 4.68; N, 14.27.

Example 2 9-(3,5-Di-O-benzoyl-2-deoxy-β-L-threo-pentofuranosyl)adenine (4)

To a solution of compound **3** (1.00 g, 2.11 mmol) in dry acetonitrile (65 mL) were added 4-(dimethylamino)pyridine (0.77 g, 6.32 mmol) and phenoxythiocarbonyl chloride (0.44 mL, 3.16 mmol). The mixture was stirred at room temperature for 2 h. After concentration, the residue was dissolved in dichloromethane (50 mL) and washed successively with water (2 x 30 mL), aqueous solution of hydrochloric acid 0.5 N (30 mL) and water (3 x 30 mL). The organic layer was dried, filtered and concentrated to dryness.
 20 The crude thiocarbonylated intermediate was directly treated with tris-(trimethylsilyl)silane hydride (0.78 mL, 5.23 mmol) and *o,o'*-azoisobutyronitrile (AIBN, 0.112 g, 0.69 mmol) in dry dioxane (17 mL) at reflux for 2 h. The solvent was removed under vacuum and the residue was purified by silica gel column chromatography (0-5% MeOH in
 25 dichloromethane) to give pure **4** (0.93 g, 96%) as a foam: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.9-3.1 (m, 2H, H-2'' and H-2'''), 4.6 - 4.7 (m, 3H, H-4', H-5' and H-5''), 5.8 (br s, 1H, H-3'), 6.43 (dd, 1H, H-1', J_{1',2'} = 3.1 Hz, J_{1',2''} = 7.6 Hz), 7.3 (br s, 2H, NH₂-6), 7.4-7.9 (m, 10H, 2 benzoyls), 8.05 and 8.33 (2s, 2H, H-2 and H-8); ms : matrix G/T, (FAB⁺) m/z 460 [M+H]⁺, 325 [S]⁺, 136 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 458 [M-H]⁻, 134 [B]⁻; UV (95% ethanol) : λ_{max} 261 nm (ε 14400), 231 nm (ε 26300), λ_{min} 249 nm (ε 12000); [α]_D²⁰ = -38 (c 1.04, DMSO).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Example 3 6-N-(4-Monomethoxytrityl)-9-(3,5-di-O-benzoyl-2-deoxy- β -L-threo-pento-furanosyl)adenine (5)

To a solution of compound **4** (0.88 g, 1.92 mmol) in dry pyridine (40 mL) was added 4-monomethoxytrityl chloride (1.18 g, 3.84 mmol). The mixture was stirred at 60°C for 24 h. After addition of methanol (5 mL), the solution was concentrated to dryness, the residue was dissolved in dichloromethane (50 mL) and washed successively with water (30 mL), aqueous saturated NaHCO₃ (30 mL) and water (30 mL). The organic layer was dried, filtered, concentrated and co-evaporated with toluene to give pure **5** (1.01 g, 72%) as a foam: ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.9-3.0 (m, 2H, H-2' and H-2''), 3.62 (s, 3H, OCH₃), 4.6-4.8 (m, 3H, H-4', H-5' and H-5''), 5.85 (pt, 1H, H-3'), 6.44 (dd, 1H, H-1', J_{1,2'} = 3.1 Hz, J_{1,2''} = 7.3 Hz), 6.9 (br s, 1H, NH-6), 6.7-6.8 and 7.2-7.4 (2m, 24H, 2 benzoyls and MMTTr), 7.97 and 8.13 (2s, 2H, H-2 and H-8); ms: matrix G/T, (FAB⁺) m/z 732 [M+H]⁺, (FAB⁻) m/z 730 [M-H]⁻; UV (95% ethanol): λ_{max} 274 nm (ϵ 12100), 225 nm (ϵ 24200), λ_{min} 250 nm (ϵ 5900); $[\alpha]_D^{20}$ = -16 (c 1.12, DMSO).

Example 4 6-N-(4-Monomethoxytrityl)-9-(2-deoxy- β -L-threo-pentofuranosyl)-adenine (6)

Compound **5** (0.95 g, 1.30 mmol) was treated with a solution (saturated at -10°C) of methanolic ammonia (40 mL), at room temperature overnight. After concentration, the residue was dissolved in dichloromethane (60 mL) and washed with water (30 mL). The aqueous layer was extracted twice with dichloromethane (10 mL). The combined organic layer was dried, filtered and concentrated. The residue was purified by silica gel column chromatography (0.5% MeOH in dichloromethane) to give pure **6** (0.67 g, 98%) as a foam: ¹H NMR (CDCl₃): δ 2.6-2.9 (m, 2H, H-2' and H-2''), 3.5 (br s, 1H, OH-5'), 3.55 (s, 3H, OCH₃), 3.9-4.0 (m, 3H, H-4', H-5' and H-5''), 4.5-4.6 (m, 1H, H-3'), 6.03 (dd, 1H, H-1', J_{1,2'} = 4.0 Hz, J_{1,2''} = 8.8 Hz), 7.0 (br s, 1H, NH-6), 6.7-6.8 and 7.1-7.4 (2m, 14H, MMTTr), 7.40 (d, 1H, OH-3', J_{H,OH} = 10.6 Hz), 7.80 and 7.99 (2s, 2H, H-2 and H-8); ms: matrix G/T, (FAB⁺) m/z 524 [M+H]⁺, 408 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 1045 [2M-H]⁻, 522 [M-H]⁻, 406 [B]⁻; UV (95% ethanol): λ_{max} 275 nm (ϵ 12300), λ_{min} 247 nm (ϵ 3600); $[\alpha]_D^{20}$ = +28 (c 0.94, DMSO).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Example 5 6-N-(4-Monomethoxytrityl)-9-(2-deoxy-5-O-(4-monomethoxytrityl)- β -L-xylo-pento-furanosyl)adenine (7)

Compound **6** (0.62 g, 1.24 mmol) in dry pyridine (25 mL) was treated with 4-monomethoxytrityl chloride (0.46 g, 1.49 mmol) at room temperature for 16 h. After addition of methanol (5 mL), the mixture was concentrated to dryness. The residue was dissolved in dichloromethane (60 mL) and washed successively with water (40 mL), a saturated aqueous solution of NaHCO₃ (40 mL) and water (3 x 40 mL). The organic layer was dried, filtered, concentrated and co-evaporated with toluene and methanol. The residue was purified by silica gel column chromatography (0-10% MeOH in dichloromethane) to give **7** (0.71 g, 72%) as a foam: ¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.21 (d, 1H, H-2' J_{2',2''} = 14.3 Hz), 2.6-2.7 (m, 1H, H-2''), 3.1-3.3 (2m, 2H, H-5' and H-5''), 3.64 and 3.65 (2s, 6H, 2 x OCH₃), 4.1-4.2 (m, 1H, H-4'), 4.2-4.3 (m, 1H, H-3'), 5.68 (d, 1H, OH-3', J_{H,OH} = 5.2 Hz), 6.24 (d, 1H, H-1', J_{1',2'} = 7.0 Hz), 6.7-6.8 and 7.1-7.3 (2m, 29H, 2 MMTf and NH-6), 7.83 and 8.21 (2s, 2H, H-2 and H-8); ms : matrix G/T, (FAB⁺) m/z 796 [M+H]⁺, 408 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 794 [M-H]⁻, 406 [B]⁻; UV (95% ethanol) : λ_{max} 275 nm (ϵ 30900), λ_{min} 246 nm (ϵ 12800); $[\alpha]_D^{20} = +14$ (c 1.03, DMSO).

Example 6 6-N-(4-Monomethoxytrityl)-9-(3-O-benzoyl-2-deoxy-5-O-(4-monomethoxytrityl)- β -L-xylo-pentofuranosyl)adenine (8)

A solution of diethylazodicarboxylate (0.33 mL, 2.49 mmol) in dry tetrahydrofuran (20 mL) was added dropwise to a cooled solution (0°C) of nucleoside **7** (0.66 g, 0.83 mmol), triphenylphosphine (0.66 g, 2.49 mmol) and benzoic acid (0.30 g, 2.49 mmol) in dry THF (20 mL). The mixture was stirred at room temperature for 18 h and methanol (1 mL) was added. The solvents were removed under reduced pressure and the crude material was purified by silica gel column chromatography (0-5% ethyl acetate in dichloromethane) to give compound **8** slightly contaminated by triphenylphosphine oxide.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Example 7 6-N-(4-Monomethoxytrityl)-9-(2-deoxy-5-O-(4-monomethoxytrityl)- β -L-erythro-pentofuranosyl)adenine (9)

Compound **8** was treated by a solution (saturated at -10°C) of methanolic ammonia (20 mL), at room temperature for 24 h, then the reaction mixture was concentrated to dryness. The residue was dissolved in dichloromethane (30 mL) and washed with water (20 mL). The aqueous layer was extracted by dichloromethane (2 x 20 mL) and the combined organic phase was dried, filtered and concentrated. Pure compound **9** (0.50 g, 76% from **7**) was obtained as a foam after purification by silica gel column chromatography (0-2% MeOH in dichloromethane): $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.2-2.3 (m, 1H, H-2'), 2.8-2.9 (m, 1H, H-2''), 3.1-3.2 (m, 2H, H-5' and H-5''), 3.64 and 3.65 (2s, 6H, 2 x OCH₃), 3.97 (pq, 1H, H-4'), 4.4-4.5 (m, 1H, H-3'), 5.36 (d, 1H, OH-3', $J_{\text{H,OH}} = 4.5$ Hz), 6.34 (t, 1H, H-1', $J_{1,2'} = J_{1,2''} = 6.4$ Hz), 6.8-6.9 and 7.1-7.4 (2m, 29H, 2 MMTf and NH-6), 7.81 and 8.32 (2s, 2H, H-2 and H-8); ms : matrix G/T, (FAB⁺) m/z 796 [M+H]⁺, 408 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 794 [M-H]⁻, 406 [B]⁻; UV (95% ethanol) : λ_{max} 276 nm (ϵ 42600), λ_{min} 248 nm (ϵ 23300); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +29$ (c 1.05, DMSO).

Example 8 2'-Deoxy- β -L-adenosine (β -L-dA)

Compound **9** (0.44 g, 0.56 mmol) was treated with an aqueous solution of acetic acid 80% (17 mL) at room temperature for 5 h. The mixture was concentrated to dryness, the residue was dissolved in water (20 mL) and washed with diethyl ether (2 x 15 mL). The aqueous layer was concentrated and co-evaporated with toluene and methanol. The desired 2'-deoxy- β -L-adenosine (β -L-dA) (0.12 g, 83%) was obtained after purification by silica gel column chromatography (0-12% MeOH in dichloromethane) and filtration through a Millex HV-4 unit (0.45 μ , Millipore): mp 193-194 $^{\circ}\text{C}$ (crystallized from water) (Lit. 184-185 $^{\circ}\text{C}$ for L-enantiomer [Ref.: Robins, M. J.; Khwaja, T. A.; Robins, R. K. *J Org Chem* 1970, 35, 636-639] and 187-189 $^{\circ}\text{C}$ for D-enantiomer [Ref.: Ness, R. K. in *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry*; Zorbach, W.W., Tipson, R. S., Eds.; J. Wiley and sons: New York, 1968; Vol 1, 183-187]; $^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.2-2.3 and 2.6-2.7 (2m, 2H, H-2' and H-2''), 3.4-3.6 (2m, 2H, H-5' and H-5''), 3.86 (pq, 1H, H-4'), 4.3-4.4 (m, 1H, H-3'), 5.24 (t, 1H, OH-5', $J_{\text{H,OH}} = 5.8$ Hz), 5.30 (d, 1H, OH-3', $J_{\text{H,OH}} = 4.0$ Hz), 6.32 (dd, 1H, H-1', $J_{1,2'} = 6.2$ Hz, $J_{1,2''} = 7.8$ Hz), 7.3 (br s, 2H, NH₂-6), 8.11 and 8.32 (2s, 2H, H-2 and H-8); ms :

WO 01/91737

PCT/US01/17301

matrix G/L, (FAB⁺) m/z 252 [M+H]⁺, 136 [BH₂]⁺, (FAB⁻) m/z 250 [M-H]⁻, 134 [B]⁻; UV (95% ethanol) : λ_{max} 258 nm (ϵ 14300), λ_{min} 226 nm (ϵ 2100); $[\alpha]_D^{20} = +25$ (c 1.03, H₂O), (Lit. $[\alpha]_D^{20} = +23$ (c 1.0, H₂O) for L-enantiomer [Ref.: Robins, M. J.; Khwaja, T. A.; Robins, R. K. *J. Org. Chem.*, 1970, 35, 636-639] and $[\alpha]_D^{20} = -25$ (c 0.47, H₂O) for D-enantiomer [Ref.: Ness, R. K. in *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry*; Zorbach, W.W., Tipson, R. S., Eds.; J. Wiley and sons : New York, 1968; Vol 1, 183-187]). Anal. Calcd for C₁₀H₁₃N₅O₃ + 1.5 H₂O (M = 278.28) : C, 43.16; H, 5.80; N, 25.17. Found : C, 43.63; H, 5.45; N, 25.33.

Example 9 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- β -L-ribofuranose (143)

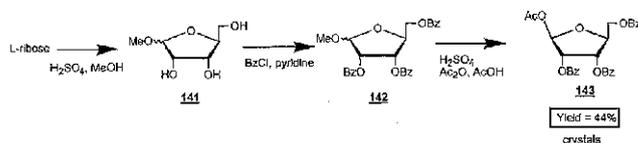
As depicted in **Scheme 1**, a solution of L-ribose **140** (150 g, 1 mol; Cultior Science Food, CAS [24259-59-4], batch RIB9711013) in methanol (2 liters; P.A. Prolabo; ref 20847.295) was treated with sulphuric acid 95-97% (12mL; Merck; ref 1.00731.1000) and left at +4°C for 12hrs, and then neutralised with pyridine (180 mL; 99% Acros; ref 131780025). Evaporation gave an α,β mixture of methyl ribofuranosides **141** as a syrup. A solution of this anomeric mixture in pyridine (1.3 liters) was treated with benzoyl chloride (580 mL, 5 mol; Fluka; ref 12930) with cooling and mechanical stirring. The solution was left at room temperature for 12 h. and then poured on ice (about 10 liters) with continued stirring. The mixture (an oil in water) was filtered on a Cellite bed. The resulting oil on the cellite bed was washed with water (3x3 liters) and then dissolved with ethyl acetate (3 liters). The organic phase was washed with a 5% NaHCO₃ solution (2 liters) and water (2 liters), dried over sodium sulfate (Prolabo; ref 28111.365), filtered and evaporated to give 1-O-methyl-2,3,5-tri-O-benzoyl- α/β -L-ribofuranose **142** as a thick syrup. The oil was dissolved in acetic anhydride (560 mL; Fluka; ref 45830) and acetic acid (240 mL; P.A. Carlo Erba; ref 20104298). The solution was, after the dropwise addition of concentrated sulphuric acid (80 mL), kept in the cold (+4°C) under mechanical stirring for 10 h. The solution was then poured on ice (about 10 liters) under continued stirring. The mixture (oily compound in water) was filtered on a Cellite bed. The resulting gummy solid on the cellite bed was washed with water (3x3 liters) and then dissolved in dichloromethane (2.5 liters; P.A. Merck; ref 1.06050.6025). The organic phase was washed with 5% NaHCO₃ (1 liter) and water (2x2 liters), dried over sodium sulfate, filtered and evaporated to give a gummy solid **143**, which was crystallized from ethanol 95 (Prolabo; ref 20823.293) to yield 225 g of

WO 01/91737

PCT/US01/17301

product (44%): mp 129-130°C (EtOH 95) (literature reference reported by Recondo, B. F., and Rindertnecht, H. "Eine neue, Einfache Synthese des 1-O-Acetyl-2,3,5-Tri-O-β-D-Ribofuranosides" *Helv. Chim. Acta*, 1959, 1171-1173 indicate a mp 130-131°C); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 8.09-7.87 (m, 6H, H_{Arom}), 7.62-7.31 (m, 9H, H_{Arom}) 6.43 (s, 1H, H₁), 5.91 (dd, 1H, H₃, J_{3,4} 6.7 Hz; J_{3,2} 4.9 Hz), 5.79 (pd, 1H, H₂, J_{2,3} 4.9 Hz; J_{1,2} <1), 4.78 (m, 2H, H₄ and H₅), 4.51 (dd, 1H, H₅, J_{5,5'} 13.1 Hz, J_{5,4} 5.5 Hz), 2.00 (s, 3H, CH₃CO); (identical to commercial 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-D-ribofuranose), Mass analysis (FAB⁺, GT) m/z 445 (M-OAc)⁺, Elemental analysis C₂₈H₂₄O₉ Calculated C 66.66 H 4.79; found C H.

Scheme 1:



10

Example 10 β-L-adenosine (145)

As depicted in Scheme 2, adenine (19.6 g, 144 mmol; Pharma-Waldhof, ref 400134.001 lot 45276800) was suspended in acetonitrile (400 mL; Riedel-de Haan; ref 33019; distilled over CaH₂) with 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-β-L-ribofuranose **143** (60 g, 119 mmol). To this suspension was added fuming stannic chloride (22 mL, 187 mmol; Fluka; ref 96558). After 12 hrs, the reaction was concentrated to a small volume (about 100 mL); sodium bicarbonate (110 g) and water (120 mL) were added. The resulting white solid (tin salts) was extracted with hot chloroform (5x200 mL; Acros; ref 22706463). The combined extracts were filtered on a celite bed. The organic phase was washed with a NaHCO₃ 5% solution and water, dried over sodium sulfate (Prolabo; ref 28111.365), filtered and evaporated to give compound **144** (60 g, colorless foam). The foam was treated with methanol saturated with ammonia (220 mL) in sealed vessel at room temperature under stirring for 4 days. The solvent was evaporated off under reduced pressure and the resulting powder was suspended in ethyl acetate (400 mL; Carlo erba; ref 528299) at reflux for 1 hr. After filtration, the powder was recrystallized from water (220 mL) to give L-adenosine **145** (24 g, crystals, 75%): mp 233-234°C (Saneyoshi, M., and Satoh, E. "Synthetic Nucleosides

25

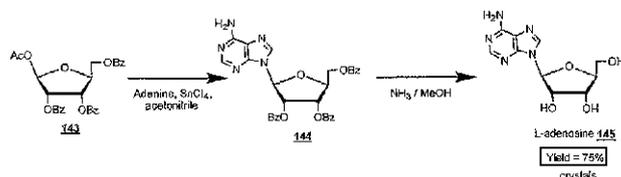
WO 01/91737

PCT/US01/17301

and Nucleotides. XIII. Stannic Chloride Catalyzed Ribosylation of Several 6-Substituted Purines" *Chem Pharm Bull*, 1979, 27, 2518-2521; Nakayama, C., and Saneyoshi, M. "Synthetic Nucleosides and Nucleotides. XX. Synthesis of Various 1- β -Xylofuranosyl-5-Alkyluracils and Related Nucleosides" *Nucleosides Nucleotides*, 1982, 1, 139-146 report mp of 235°-238°C); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-*d*₆): δ 8.34 and 8.12 (2s, 2H, H₂ and H₈), 7.37 (ls, 2H, NH₂), 5.86 (d, 1H, H_{1'}, J_{1'2'} 6.2 Hz), 5.43 (m, 2H, OH_{2'} and OH_{3'}), 5.19 (d, 1H, OH_{3'}, J 3.7 Hz), 4.60 (m, H_{2'}), 4.13 (m, 1H, H_{3'}), 3.94 (m, 1H, H_{4'}), 3.69-3.49 (m, 2H, H_{5'a} and H_{5'b}), (identical to commercial D-adenosine); Mass analysis (FAB+, GT) m/z 268 (M+H)⁺, 136(BH₂)⁺.

10

Scheme 2:

**Example 11 3',5'-O-(1,1,3,3-tetraisopropyl-1,3-dioxanvl)- β -L-adenosine (146)**

As shown in Scheme 3, L-adenosine 145 (47.2 g, 177 mmol) is suspended in pyridine (320 mL, 99% from Acros; ref 131780025) was added 1,3-dichloro-1,1,3,3-tetraisopropyl-dioxane (63 mL, 201 mmol; Fluka; ref 36520), and the mixture was stirred at room temperature for 12 hrs. Pyridine was evaporated and the residue was partitioned with ethyl acetate (1 L; Carlo erba; ref 528299) and a NaHCO₃ 5 % solution (600 mL). The organic phase was washed with a HCl 0.5N solution (2x500 mL) and water (500 mL), dried over sodium sulfate (Prolabo; ref 28111.365), filtered and evaporated to dryness. The resulting solid was crystallized from acetonitrile (Riedel-de Haen; ref 33019) to give compound 146 (81 g, 90%): mp 97-98°C (Robins, M.J., et al. "Nucleic Acid Related Compounds. 42. A General Procedure for the Efficient Deoxygenation of Secondary Alcohols. Regiospecific and Stereoselective Conversion of Ribonucleosides to 2'-Deoxynucleosides" *J Am Chem Soc*, 1983, 105, 4059-4065 reports for the D enantiomer a mp of 98°C); ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 8.28 and 7.95 (2s, 2H, H₂ and H₈), 5.96 (d,

25

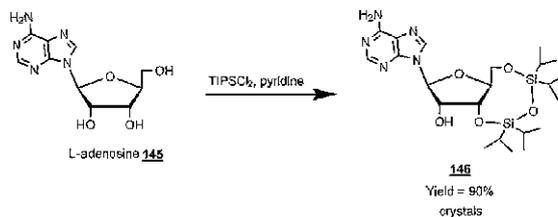
WO 01/91737

PCT/US01/17301

1H, $J_{1,2}$ 1.1 Hz), 5.63 (s, 2H, NH₂), 5.10 (dd, 1H, H_{3'}, $J_{3,4'}$ 7.6 Hz, $J_{3,2'}$ 5.5 Hz), 4.57 (dd, 1H, H_{2'}, $J_{2,3'}$ 1.2 Hz; $J_{2,3'}$ 7.6 Hz), 4.15-3.99 (m, 3H, H_{4'}, H_{5'}, and H_{5''}), 3.31 (sl, 1H, OH_{2'}), 1.06 (m, 28H, isopropyl protons); Mass analysis (FAB-, GT) m/z 508 (M-H)⁻, 134 (B)⁻; (FAB+, GT) m/z 510 (M+H)⁺, 136 (BH₂)⁺.

5

Scheme 3:



Example 12 3'-5'-O-(1,1,3,3-tetraisopropyl-1,3-disiloxan-2-yl)-2'-deoxy-β-L-adenosine (148)

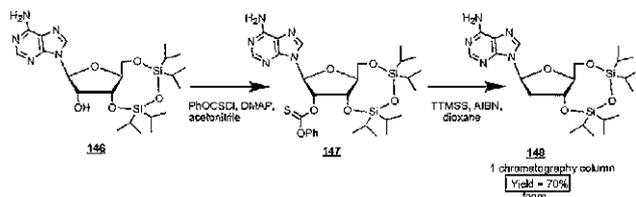
To compound **146** (34 g, 67 mmol) was added acetonitrile (280 mL; Riedel-de Haen; ref 33019), DMAP (16.5 g, 135 mmol; 99% from Acros; ref 1482702050) and phenyl chlorothiocarbonate (10.2 mL, 73 mmol; 99% from Acros; ref 215490050), as shown in **Scheme 4**. The solution was stirred at room temperature for 12 hrs. Solvent was evaporated and the residue was partitioned between ethyl acetate (400 mL; Carlo Erba; ref 528299) and a HCl 0.5N solution (400 mL). The organic layer was washed with a HCl 0.5N solution (400 mL) and water (2x400 mL), dried over sodium sulfate (Prolabo; ref 28111.365), filtered and evaporated to dryness to give the intermediate as a pale yellow solid. The crude **147** was dissolved in dioxan (Merck; ref 1.09671.1000) and AIBN (3.3 g, 20 mmol; α,α'-azoisobutyronitrile from Fluka; ref 11630) and TTMSS (33 mL, 107 mmol; tris(trimethylsilyl)silane from Fluka; ref 93411) were added. The solution was progressively heated until reflux and stirred for 2 hrs. The reaction was concentrated to a yellow oil which was chromatographed (eluent dichloromethane (Merck; ref 1.06050.6025) : methanol (Carlo Erba; ref 309002) 95:5) to give compound **148** (23 g, colorless foam, 70%). An aliquot was crystallized from ethanol/petroleum ether: mp 110-111°C (Robins, M. J., Wilson, J. S., and

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Hanske, F. "Nucleic Acid Related Compounds. 42. A General Procedure for the Efficient Deoxygenation of Secondary Alcohols. Regiospecific and Stereoselective Conversion of Ribonucleosides to 2'-Deoxynucleosides" *J Am Chem Soc*, 1983, 105, 4059-4065 report mp 113-114°C; ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃): δ 8.33 and 8.03 (2s, 2H, H₂ and H₈), 6.30 (dd, 1H, H₁), J 2.85 Hz, J 7.06 Hz), 5.63 (sl, 2H, NH₂), 4.96 (m, 1H, H₃), 4.50 (m, 2H, H_{5a} and H_{5b}), 2.68 (m, 2H, H_{2'a} and H_{2'b}), 1.08 (m, 28H, isopropyl protons); Mass analysis (FAB⁺, GI) m/z 494 (M+H)⁺, 136 (BH₂)⁺.

Scheme 4:



10 Example 13 2'-Deoxy-β-L-adenosine (149)

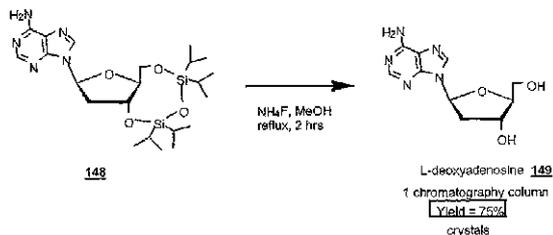
As taught by Zhang, W., and Robins, M. J. "Removal of Silyl Protecting Groups from Hydroxyl Functions with Ammonium Fluoride in Methanol" *Tetrahedron Lett*, 1992, 33, 1177-1180, a solution of 3',5'-O-(1,1,3,3-tetraisopropyl-1,3-disiloxanyl)-2'-deoxy-L-adenosine 148 (32 g, 65 mmol) and ammonium fluoride (32 g, mmol; Fluka; ref 09742) in methanol (Prolabo; ref 20847.295) was stirred at reflux for 2 hrs (Scheme 5). Silica gel (Merck; ref 1.07734.2500) was added and the mixture was carefully evaporated to give a white powder. This powder was added on the top of a silica column, which was eluted with dichloromethane (Merck; ref 1.06050.6025)/methanol 9/1. The appropriate fractions were combined and evaporated to give a white powder, which was crystallized from ethanol 95 (Prolabo; ref 20823.293) to yield 12.1 g of product (75%); mp 189-190°C (EtOH 95) (identical to commercial 2'-deoxy-D-adenosine); ¹H NMR (200 MHz, DMSO-D₆): δ 8.35 and 8.14 (2s, 2H, H₂ and H₈), 7.34 (sl, 2H, NH₂), 6.35 (dd, 1H, H₁, J 6.1 Hz, J 7.85 Hz), 5.33 (d, 1H, OH₂, J 4.0 Hz), 5.28 (dd, 1H, H₃, J 4.95 Hz; J 6.6 Hz), 4.42 (m, 1H, OH⁵), 3.88 (m, 1H, H₄), 3.63-3.52 (m, 2H, H_{5a} and H_{5b}), 2.71 (m, 1H, H_{2'a}), 2.28 (m, 1H, H_{2'b}).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

(identical to commercial 2'-deoxy-D-adenosine); $\alpha_D +26^\circ$ (c 0.5 water) (commercial 2'-deoxy-D-adenosine -25° (c 0.5 water)); UV λ_{max} 260 nm (ϵ 14100) (H₂O); Mass analysis (FAB+, GI) m/z 252 (M+H)⁺, 136 (BH₂)⁺.

Scheme 5:



5

Example 14 1-(3,5-Di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)uracil (11)

Hydrazine hydrate (1.4 mL, 28.7 mmol) was added to a solution of 1-(2-O-acetyl-3,5-di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)uracil **10** [Gosselin, G.; Bergogne, M.-C. and Imbach, J.-L. "Synthesis and Antiviral Evaluation of β-L-Xylofuranosyl Nucleosides of the Five Naturally Occurring Nucleic Acid Bases" *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1993, 30, 1229-1233] (4.79 g, 9.68 mmol) in pyridine (60 mL) and acetic acid (15 mL). The solution was stirred overnight at room temperature. Acetone was added (35 mL) and the mixture was stirred for 30 min. The reaction mixture was evaporated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica gel column chromatography [eluent: stepwise gradient of methanol (0-4%) in dichloromethane to give **11** (3.0 g, 68%) which was crystallized from cyclohexane/dichloromethane: mp = 111-114°C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 11.35 (br s, 1H, NH), 7.9-7.4 (m, 11H, 2 C₆H₅CO, H-6), 6.38 (d, 1H, OH-2', J_{OH-2'} = 4.2 Hz), 5.77 (d, 1H, H-1', J_{1'-2'} = 1.9 Hz), 5.55 (d, 1H, H-5, J_{5,6} = 8 Hz), 5.54 (dd, 1H, H-3', J_{3'-2'} = 3.9 Hz and J_{3'-4'} = 1.8 Hz), 4.8 (m, 1H, H-4'), 4.7 (m, 2H, H-5' and H-5''), 4.3 (m, 1H, H-2'); MS: FAB>0 (matrix GI) m/z 453 (M+H)⁺, 105 (C₆H₅CO)⁺; FAB<0 (matrix GT) m/z 451 (M-H)⁻, 121 (C₆H₅CO)₂⁻, 111 (B); Anal. Calcd for C₂₃H₂₉N₂O₈·H₂O: C, 58.09; H, 4.76; N, 5.96. Found: C, 57.71; H, 4.42; N, 5.70.

20

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Example 15 1-(3,5-Di-O-benzoyl- β -L-arabinofuranosyl)uracil (12)

To a solution of 1-(3,5-di-O-benzoyl- β -L-xylofuranosyl)uracil **11** (8 g, 17.7 mL) in an anhydrous benzene-DMSO mixture (265 mL, 6:4, v/v) were added anhydrous pyridine (1.4 mL), dicyclohexylcarbodiimide (10.9 g, 53 mmol) and dichloroacetic acid (0.75 mL). The resulting mixture was stirred at room temperature for 4h, then diluted with ethyl acetate (400 mL) and a solution of oxalic acid (4.8 g, 53 mmol) in methanol (14 mL) was added. After being stirred for 1h, the solution was filtered. The filtrate was washed with a saturated NaCl solution (2x500mL), 3% NaHCO₃ solution (2x500mL) and water (2x500mL). The organic phase was dried over Na₂SO₄, then evaporated under reduced pressure. The resulting residue was then solubilized in an absolute EtOH/benzene mixture (140 mL, 2:1, v/v). To this solution at 0°C was added NaBH₄ (0.96 g, 26.5 mmol). After being stirred for 1h, the solution was diluted with ethyl acetate (400 mL), then filtered. The filtrate was washed with a saturated NaCl solution (400 mL) and water (400 mL). The organic phase was dried over Na₂SO₄, then evaporated under reduced pressure. The resulting crude material was purified by silica gel column chromatography [eluent: stepwise gradient of methanol (0-3%) in dichloromethane to give **12** (5.3 g, 66%) which was crystallized from acetonitrile: mp = 182-183°C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 11.35 (br s, 1H, NH), 8.0-7.5 (m, 11H, 2 C₆H₅CO, H-6), 6.23 (br s, 1H, OH-2'), 6.15 (d, 1H, H-1', J_{1,2'} = 4 Hz), 5.54 (d, 1H, H-5, J_{5,4'} = 8.1 Hz), 5.37 (t, 1H, H-3', J_{3,2'} = J_{3,4'} = 2.6 Hz), 4.7-4.6 (m, 2H, H-5' and H-5''), 4.5 (m, 1H, H-4'), 4.4 (m, 1H, H-2'); MS: FAB>0 (matrix GT) m/z 453 (M+H)⁺, 341 (S)⁺, 113 (BH₂)⁺, 105 (C₆H₅CO)⁺; FAB<0 (matrix GT) m/z 451 (M-H)⁻, 121 (C₆H₅CO₂)⁻, 111 (B)⁻; Anal. Calcd for C₂₃H₂₀N₂O₈: C, 61.06; H, 4.46; N, 6.19. Found: C, 60.83; H, 4.34; N, 6.25.

Example 16 1-(3,5-Di-O-benzoyl-2-deoxy- β -L-erythro-pentofuranosyl)uracil (13)

To a solution of 1-(3,5-di-O-benzoyl- β -L-arabinofuranosyl)uracil **12** (5.2 g, 11.4 mmol) in anhydrous 1,2-dichloroethane (120 mL) were added phenoxythiocarbonyl chloride (4.7 mL, 34.3 mL) and 4-(dimethylamino)pyridine (DMAP, 12.5 g, 102.6 mmol). The resulting solution was stirred at room temperature under argon atmosphere for 1h and then evaporated under reduced pressure. The residue was dissolved in dichloromethane (300 mL) and the organic solution was successively washed with an ice-cold 0.2 N

WO 01/91737

PCT/US01/17301

hydrochloric acid solution (3x 200 mL) and water (2x200 mL), dried over Na₂SO₄ then evaporated under reduced pressure. The crude material was co-evaporated several times with anhydrous dioxane and dissolved in this solvent (110 mL). To the resulting solution were added under argon tris-(trimethylsilyl)silane hydride (4.2 mL, 13.7 mmol) and α,α' -azoisobutyronitrile (AIBN, 0.6 g, 3.76 mmol). The reaction mixture was heated and stirred at 100°C for 1h under argon, then cooled to room temperature and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by silica gel column chromatography [eluent: stepwise gradient of methanol (0-5%)] to give **13** (2.78 g, 56%) which was crystallized from EtOH: mp = 223-225°C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 11.4 (br s, 1H, NH), 8.0-7.5 (m, 11H, 2 C₆H₅CO, II-6), 6.28 (t, 1H, H-1', J = 7 Hz), 5.5 (m, 2H, H-1' and H-5), 4.6-4.4 (m, 3H, H-4', H-5' and H-5''), 2.6 (m, 2H, H-2' and H-2''); MS: FAB>0 (matrix GT) m/z 437 (M+H)⁺, 3325 (S)⁺; FAB<0 (matrix GT) m/z 435 (M-H), 111 (B); Anal. Calcd for C₂₅H₂₀N₂O₇: C, 63.30; H, 4.62; N, 6.42. Found : C, 62.98; H, 4.79; N, 6.40.

Example 17 2'-Deoxy- β -L-cytidine (β -L-dC)

Lawesson's reagent (1.72 g, 4.26 mmol) was added under argon to a solution of 1-(3,5-di-*O*-benzoyl-2-deoxy- β -L-*erythro*-pentofuranosyl)uracil **13** (2.66 g, 6.1 mmol) in anhydrous 1,2-dichloroethane (120mL) and the reaction mixture was stirred under reflux for 2h. The solvent was then evaporated under reduced pressure and the residue was purified by silica gel column chromatography [eluent: stepwise gradient of ethyl acetate (0-8%) in dichloromethane] to give the 4-thio intermediate as a yellow foam. A solution of this thio-intermediate (1.5 g, 3.31 mmol) in methanolic ammonia (previously saturated at -10°C and tightly stopped) (50 mL) was heated at 100°C in a stainless-steel bomb for 3h and then cooled to 0°C. The solution was evaporated under reduced pressure. The resulting crude material was purified by silica gel column chromatography [eluent: stepwise gradient of methanol(0-20%) in dichloromethane]. Finally, the appropriate fractions were pooled, filtered through a unit Millex HV-4 (0.45 μ m, Millipore) and evaporated under reduced pressure to provide the desired 2'-deoxy- β -L-cytidine (β -L-dC) as a foam (0.6 g, 80%) which was crystallized from absolute EtOH: mp=198-199°C; ¹H-NMR (DMSO-*d*₆): δ 7.77 (d, 1H, H-6, J_{6,5} = 7.4 Hz), 7.10 (br d, 2H, NH-2), 6.13 (t, 1H, H-1', J = 6.7 Hz), 5.69 (d, 1H, H-5, J_{5,6} = 7.4 Hz), 5.19 (d, 1H, OH-3', J_{OH-3'} = 4.1 Hz), 4.96 (t, 1H, OH-5', J_{OH-5'} = J_{OH-5''} = 5.2 Hz), 4.1 (m, 1H, H-3'), 3.75 (m, 1H, H-4'), 3.5 (m, 2H, H-5' and H-5''), 2.0 (m, 1H, H-

WO 01/91737

PCT/US01/17301

2'), 1.9 (m, 1H, H-2'); MS: FAB>0 (matrix GT) m/z 228 (M+H)⁺, 112 (BH₂)⁺; FAB<0 (matrix GT) m/z 226(M-H)⁻; $[\alpha]_D^{20} = -69$ (c 0.52, DMSO) $[\alpha]_D^{20} = +76$ (c 0.55, DMSO) for a commercially available hydrochloride salt of the D-enantiomer]. Anal. Calcd for C₈H₁₃N₃O₄: C, 47.57; H, 5.77; N, 18.49. Found: C, 47.35; H, 5.68; N, 18.29.

5 **Example 18 2-Amino-β-L-arabinofurano[1',2':4,5]oxazoline (151)**

A mixture of L-arabinose (170 g, 1.13 mol; Fluka, >99.5%, ref 10839), cyanamide (100g, 2.38 mol; Fluka, >98%, ref 28330), methanol (300 mL), and 6M-NH₄OH (50 mL) was stirred at room temperature for 3 days and then kept at -10°C overnight. The product was collected with suction, washed successively with methanol and ether, and dried *in vacuo*. Yield, 130 g (66.0%) of the analytically pure compound **151**, m.p. 170-172°C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ ppm 6.35 (br s, 2H, NH₂), 5.15 (d, 1H, H-1, J = 5.6 Hz), 5.45 (br s, 1H, OH-3), 4.70 (br s, 1H, OH-5), 4.55 (d, 1H, H-2, J = 5.6 Hz), 4.00 (br s, 1H, H-3), 3.65 (m, 1H, H-4), 3.25 (m, 2H, H-5, H-5').

10

Example 19 O^{2',3'}-anhydro-β-L-uridine (152)

A solution of compound **151** (98.8 g, 0.57 mol) and methyl propiolate (98 mL; Fluka, >97%, ref 81863) in 50% aqueous ethanol (740 mL) was refluxed for 5h, then cooled and concentrated under diminished pressure to the half of the original volume. After precipitation with acetone (600 mL), the product was collected with suction, washed with ethanol and ether, and dried. The mother liquor was partially concentrated, the concentrate precipitated with acetone (1000 mL), the solid collected with suction, and washed with acetone and ether to afford another crop of the product. Overall yield, 80 g (62%) of compound **152**, m.p. 236-240°C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ ppm 7.87 (d, 1H, H-6, J = 7.4 Hz), 6.35 (d, 1H, H-1', J = 5.7 Hz), 5.95 (d, 1H, H-5, J = 7.4 Hz), 5.90 (d, 1H, OH-3'), 5.20 (d, 1H, H-2', J = 5.7 Hz), 5.00 (m, 1H, OH-3'), 4.44 (br s, 1H, H-3'), 4.05 (m, 1H, H-4'), 3.25 (m, 2H, H-5, H-5').

15

20

25

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Example 20 3',5'-Di-O-benzoyl-O^{2',3'}-anhydro-β-L-uridine (153)

To a solution of compound 152 (71.1 g, 0.31 mol) in anhydrous pyridine (1200 mL) was added benzoyl chloride (80.4 mL; Fluka, p.a., ref 12930) at 0°C and under argon. The reaction mixture was stirred at room temperature for 5 h under exclusion of atmospheric moisture and stopped by addition of ethanol. The solvents were evaporated under reduced pressure and the resulting residue was co-evaporated with toluene and absolute ethanol. The crude mixture was then diluted with ethanol and the precipitate collected with suction, washed successively with ethanol and ether, and dried. Yield, 129 g (95.8%) of compound 153, m.p. 254 °C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ ppm 8.1-7.4 (m, 11H, C₆H₅CO, *H*-6), 6.50 (d, 1H, *H*-1', *J* = 5.7 Hz), 5.90 (d, 1H, *H*-5, *J* = 7.5 Hz), 5.80 (d, 1H, *H*-2', *J* = 5.8 Hz), 5.70 (d, 1H, *H*-3') 4.90 (m, 1H, *H*-4'), 4.35 (m, 2H, *H*-5, *H*-5').

Example 21 3',5'-Di-O-benzoyl-2'-chloro-2'-deoxy-β-L-uridine (154)

To a solution of compound 153 (60.3 g, 0.139 mol) in dimethylformamide (460 mL) was added at 0°C a 3.2 N-HCl/DMF solution (208 mL, prepared *in situ* by adding 47.2 mL of acetyl chloride (Fluka, p.a., ref 00990) at 0°C to a solution of 27.3 mL of methanol and 133.5 mL of dimethylformamide). The reaction mixture was stirred at 100°C for 1h under exclusion of atmospheric moisture, cooled down, and poured into water (4000 mL). The precipitate of compound 154 was collected with suction, washed with water, and recrystallized from ethanol. The crystals were collected, washed with cold ethanol and ether, and dried under diminished pressure. Yield, 60.6 g (92.6%) of compound 154, m.p. 164-165°C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ ppm 8.7 (br s, 1H, NH), 8.1-7.3 (m, 11H, C₆H₅CO, *H*-6), 6.15 (d, 1H, *H*-1', *J* = 4.8 Hz), 5.5 (m, 2H, *H*-5, *H*-2'), 4.65 (m, 4H, *H*-3', *H*-4', *H*-5', *H*-5'').

Example 22 3',5'-Di-O-benzoyl-2'-deoxy-β-L-uridine (155)

A mixture of compound 154 (60.28 g, 0.128 mol), tri-*n*-butyltin hydride (95 mL; Fluka, >98%, ref 90915) and azobisisobutyronitrile (0.568 g; Fluka, >98%, ref 11630) in dry toluene (720 mL) was refluxed under stirring for 5 h and cooled down. The solid was collected with suction and washed with cold toluene and petroleum ether. The filtrate was

WO 01/91737

PCT/US01/17301

concentrated under reduced pressure and diluted with petroleum ether to deposit an additional crop of compound **155**. Yield, 54.28 g (97.2%) of compound **155**; m.p. 220-221°C; ¹H NMR (CDCl₃) δ ppm 8.91 (br s, 1H, NH), 8.1-7.5 (m, 11H, C₆H₅CO and H-6), 6.43 (q, 1H, H-1', J_{1',2'}} = 5.7 Hz and J_{1',2''}} = 8.3 Hz), 5.7-5.6 (m, 2H, H-3' and H-5'), 4.8-4.6 (m, 3H, H-5', H-5'' and H-4'), 2.8-2.7 (m, 1H, H-2'), 2.4-2.3 (m, 1H, H-2'').

Example 23 3',5'-Di-O-benzoyl-2'-deoxy-β-L-4-thio-uridine (156)

A solution of compound **155** (69 g, 0.158 mol) and Lawesson's reagent (74 g, Fluka, >98%, ref 61750) in anhydrous methylene chloride (3900 mL) was refluxed under argon overnight. After evaporation of the solvent, the crude residue was purified by a silica gel column chromatography [eluent: gradient of methanol (0-2%) in methylene chloride] to afford pure compound **156** (73 g) in quantitative yield; ¹H NMR (CDCl₃) δ ppm 9.5 (br s, 1H, NH), 8.1-7.4 (m, 10H, C₆H₅CO), 7.32 (d, 1H, H-6, J = 7.7 Hz), 6.30 (dd, 1H, H-1', J = 5.6 Hz and J = 8.2 Hz), 6.22 (d, 1H, H-5, J = 7.7 Hz), 5.6 (m, 1H, H-3'), 4.7 (m, 2H, H-5', H-5''), 4.5 (m, 1H, H-4'), 2.8 (m, 1H, H-2'), 2.3 (m, 1H, H-2'').

Example 24 2'-Deoxy-β-L-cytosine

A solution of compound **156** (7.3 g, 0.016 mol) in methanol saturated with ammonia (73 mL) was heated at 100°C in a stainless steel cylinder for 3h. After cooling carefully, the solvent was evaporated under reduced pressure. An aqueous solution of the residue was washed with ethyl acetate and evaporated to dryness. Such a procedure was carried out on 9 other samples (each 7.3 g) of compound **156** (yield of 2'-deoxy-β-L-cytosine: 73 g). The 10 residues were combined, diluted with absolute ethanol and cooled to give 2'-deoxy-β-L-cytosine as crystals. Traces of benzamide were eliminated from the crystals of 2'-deoxy-β-L-cytosine by a solid-liquid extraction procedure (at reflux in ethyl acetate for 1h). Yield, 28.75 g (78.6%) of compound 2'-deoxy-β-L-cytosine; m. p. 141-145°C; ¹H NMR (DMSO) δ ppm 8.22 and 8.00 (2 br s, 2H, NH₂), 7.98 (d, 1H, H-6, J = 7.59 Hz), 6.12 (t, 1H, H-1', J = 6.5 Hz and J = 7.6 Hz), 5.89 (d, 1H, H-5, J = 7.59 Hz), 5.3 (br s, 1H, OH-3'), 5.1 (br s, 1H, OH-5'), 4.2 (m, 1H, H-3'), 3.80 (q, 1H, H-4', J = 3.6 Hz and J = 6.9 Hz), 3.6-3.5 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.2-2.0 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0, (GT) m/e 226 (M-H)⁺, 110 (B); FAB>0

WO 01/91737

PCT/US01/17301

(GT) 228 (M+H)⁺, 112 (B+2H)⁺; $[\alpha]_D^{20} - 56.48$ (c = 1.08 in DMSO); UV (pH 7) $\lambda_{max} = 270$ nm ($\epsilon = 10000$).

Example 25 3',5'-Di-O-benzoyl-2'-deoxy-5-iodo- β -L-uridine (157)

5 A mixture of compound **155** (105.8 g, 0.242 mol), iodine (76.8 g; Fluka, 99.8%, ref 57650), CAN (66.4 g; cerium ammonium nitrate from Aldrich, >98.5%, ref 21,547-3) and acetonitrile (2550 mL) was stirred at 80°C for 3h then the reaction mixture was cooled at room temperature leading to crystallization of compound **157** (86.6 g, 63.5%); m. p. 192-194°C; ¹H NMR (DMSO) δ ppm: 8.34 (s, 1H, NH), 8.2-7.2 (m, 11H, 2 C₆H₅CO, H-6), 6.31 (q, 1H, H-1', J = 5.5 Hz and J = 8.7 Hz), 5.5 (m, 1H, H-3'), 4.7 (m, 2H, H-5', H-5''), 4.5 (m, 1H, H-4'), 2.7 (m, 1H, H-2'), 2.3 (m, 1H, H-2''); FAB<0, (GT) m/e 561 (M-H), 237 (B); FAB>0 (GT) 563 (M+H)⁺; $[\alpha]_D^{20} + 39.05$ (c = 1.05 in DMSO); UV (EtOH 95) $\nu_{max} = 281$ nm ($\epsilon = 9000$), $\nu_{min} = 254$ nm ($\epsilon = 4000$), $\nu_{max} = 229$ nm ($\epsilon = 31000$); Anal. Calcd for C₂₃H₁₆N₂O₇: C, 49.13 H, 3.41 N, 4.98 I, 22.57. Found: C, 49.31 H, 3.53 N, 5.05 I, 22.36.

10

Example 26 3',5'-Di-O-benzoyl-2'-deoxy-3-N-toluoyl- β -L-thymidine (159)

15 To a solution of compound **157** (86.6g, 0.154 mol) in anhydrous pyridine (1530 mL) containing N-ethyl-diisopropylamine (53.6 mL; Aldrich, >99.5%, ref 38,764-9) was added, portionwise at 0°C, *p*-toluoyl chloride (40.6 mL, Aldrich, 98%, ref 10,663-1). The reaction mixture was stirred for 2 h at room temperature, then water was added to stop the reaction and the reaction mixture was extracted with methylene chloride. The organic phase was washed with water, dried over sodium sulfate and evaporated to dryness to give crude 3',5'-di-O-benzoyl-2'-deoxy-3-N-toluoyl-5-iodo- β -L-uridine (**158**) which can be used for the next step without further purification.

20

A solution of the crude mixture **158**, palladium acetate (3.44 g; Aldrich, >99.98%, ref 37,987-5), triphenylphosphine (8.0 g; Fluka, >97%, ref 93092) in *N*-methylpyrrolidinone (1375 mL; Aldrich, >99%, ref 44,377-8) with triethylamine (4.3 mL) was stirred at room temperature for 45 min. Then, tetramethyltin (42.4 mL; Aldrich, >99%, ref 14,647-1) was added dropwise at 0°C under argon. After stirring at 100-110°C overnight, the reaction mixture was poured into water and extracted with diethyl ether. The organic solution was

25

WO 01/91737

PCT/US01/17301

dried over sodium sulfate and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by a silica gel column chromatography [eluent: stepwise gradient of ethyl acetate (0-10%) in toluene] to give compound **159** as a foam (42.3 g, 48.3% for the 2 steps). ¹H NMR (DMSO) δ ppm: 8.3-7.2 (m, 15H, 2 C₅H₅CO, 1 CH₃C₆H₄CO, H-6), 6.29 (t, 1H, H-1', J = 7.0 Hz), 5.7 (m, 1H, H-3'), 4.7-4.5 (m, 3H, H-5', H-5'', H-4'), 2.7-2.6 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0, (GT) m/e 567 (M-H)⁺, 449 (M-CH₃C₆H₄CO)⁺, 243 (B), 121 (C₆H₅COO)⁺; FAB>0 (GT) 1137 (2M+H)⁺, 569 (M+H)⁺, 325 (M-B)⁺, 245 (B+2H)⁺, 119 (CH₃C₆H₅CO)⁺.

Example 27 2'-Deoxy-β-L-thymidine

A solution of compound **159** (42.3 g, 0.074 mol) in methanol saturated with ammonia (1850 mL) was stirred at room temperature for two days. After evaporation of the solvent, the residue was diluted with water and washed several times with ethyl acetate. The aqueous layer was separated, evaporated under reduced pressure and the residue was purified by a silica gel column chromatography [eluent: stepwise gradient of methanol (0-10%) in methylene chloride] to give pure 2'-deoxy-β-L-thymidine (11.62 g, 64.8%) which was crystallized from ethanol; m.p. 185-188°C; ¹H NMR (DMSO) δ ppm 11.3 (s, 1H, NH), 7.70 (s, 1H, H-6), 6.2 (pt, 1H, H-1'), 5.24 (d, 1H, OH-3', J = 4.2 Hz), 5.08 (t, 1H, OH-5', J = 5.1 Hz), 4.2 (m, 1H, H-3'), 3.7 (m, 1H, H-4'), 3.5-3.6 (m, 2H, H-5', H-5''), 2.1-2.0 (m, 2H, H-2', H-2''); FAB<0, (GT) m/e 483 (2M-H)⁺, 349 (M+T-H)⁺, 241 (M-H), 125 (B); FAB>0 (GT) 243 (M+H)⁺, 127 (B+2H)⁺; ⁺; [α]_D²⁰ - 13.0 (c = 1.0 in DMSO); UV (pH 1) *v*_{max} = 267 nm (ε = 9700), *v*_{min} = 234 nm (ε = 2000).

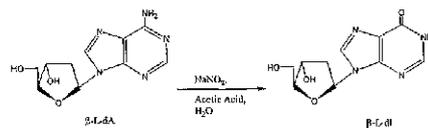
Example 28 Stereoselective Synthesis of 2'-deoxy-β-L-inosine (β-L-dI)

β-L-dI was synthesized by deamination of 2'-deoxy-β-L-adenosine (β-L-dA) following a procedure previously described in the 9-D-glucopyranosyl series (Ref: I. Iwai, T. Nishitaura and B. Shimizu "Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry" W. W. Aurbach and R. S. Tipson, eds., John Wiley & Sons, Inc. New York, 1968, I, 135-138).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Scheme 6:



Thus, a solution of $\beta\text{-L-dA}$ (200 mg) in a mixture of acetic acid (0.61 mL) and water (19 mL) was heated with sodium nitrite (495 mg), and the mixture was stirred at room temperature overnight. The solution was then evaporated to dryness under diminished pressure. An aqueous solution of the residue was applied to a column of IR-120 (H⁺) ion-exchange resin, and the column was eluted with water. Appropriate fractions were collected and evaporated to dryness to afford pure $\beta\text{-L-dI}$ which was crystallized from methanol (106 mg, 53% yield not optimized): m.p.=209°-211°C; UV (H₂O), $\lambda_{\text{max}}=247$ nm; ¹H-NMR (DMSO-d₆)= 8.32 and 8.07 (2s, 1H each, H-2 and H-8), 6.32 (pt, 1H, H-1; J=6.7 Hz), 4.4 (m, 1H, H-3'), 3.9 (m, 1H, H-4'), 3.7-3.4 (m, 2H partially obscured by HOD, H-5',5''), 2.6 and 2.3 (2m, 1H each, H-2' and H-2''); mass spectra (mature, glycerol-thioglycerol, 1:1, v/v), FAB>0: 253 (M+H)⁺, 137 (base + 2H)⁺; FAB<0: 251 (m-H)⁻, 135 (base)⁻; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}=+19.3$ (-c 0.88, H₂O).

Example 29 Toxicity of Compounds

Toxicity analyses were performed to assess whether any observed antiviral effects are due to a general effect on cell viability. The method used is the measurement of the effect of $\beta\text{-L-dA}$, $\beta\text{-L-dC}$ and $\beta\text{-L-dI}$ on cell growth in human bone marrow clonogenic assays, as compared to Lamivudine. The results are provided in Table 1.

Table 1

Compound	CFU-GM (μM)	BFU-E (μM)
$\beta\text{-L-dA}$	>10	>10
$\beta\text{-L-dC}$	>10	>10
$\beta\text{-L-dI}$	>10	>10
$\beta\text{-L-dU}$	>10	>10
Lamivudine	>10	>10

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Example 30 Biological Activity of Phosphorylated Compounds

The ability of the triphosphate derivatives of β -L-dA, β -L-dC, β -L-dU, β -L-2'-dG, β -L-dI, and β -L-dT to inhibit hepatitis B was tested. **Table 2** describes the comparative inhibitory activities of triphosphates of β -L-dT (β -L-dT-TP), β -L-dC (β -L-dC-TP), β -L-dU (β -L-dU-TP) and β -L-dA (β -L-dA-TP) on woodchuck hepatitis virus (WHV) DNA polymerase, human DNA polymerases α , β , and γ .

Table 2

Inhibitor	WHV DNA pol IC ₅₀	DNA pol α K _m ^b (μ M)	DNA pol β K _m ^b (μ M)	DNA pol γ K _m ^b (μ M)
β -L-dT-TP	0.34	>100	>100	>100
β -L-dA-TP	2.3	>100	>100	>100
β -L-dC-TP	2.0	>100	>100	>100
β -L-dU-TP	8	>100	>100	>100

^aIC₅₀: 50% inhibitory concentration

^bK_m value was determined using calf thymus activated DNA as template-primer and dATP as substrate. Inhibitors were analyzed by Dixon plot analysis. Under these conditions, the calculated mean K_m of human DNA polymerase α for dATP as approximately 2.6 μ M. Human DNA polymerase β exhibited a steady state K_m of 3.33 μ M for dATP. Human DNA polymerase γ exhibited a steady K_m of 5.2 μ M.

Example 31 Antiviral Activity of Compounds

The anti-hepatitis B virus activity of β -L-dA, β -L-dC, β -L-dU, β -L-2'-dG and β -L-dT was tested in transfected Hep G-2 (2.2.15) cells. **Table 3** illustrates the effect of β -L-dA, β -L-dC, β -L-dU, and β -L-dT against hepatitis B virus replication in transfected Hep G-2 (2.2.15) cells.

Table 3

Compound	HBV virions ^a EC ₅₀ (μ M)	HBV R3 ^b EC ₅₀ (μ M)	Cytotoxicity IC ₅₀ (μ M)	Selectivity Index IC ₅₀ /EC ₅₀
β -L-dT	0.05	0.05	>200	>4000
β -L-dC	0.05	0.05	>200	>4000
β -L-dA	0.10	0.10	>200	>2000
β -L-dI	1.0	1.0	>200	>200
β -L-dU	5.0	5.0	>200	>40

^aExtracellular DNA^bReplicative intermediates (intracellular DNA)

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Example 32. Combination Therapy of Compounds

The effect of β -L-dA, β -L-dC and β -L-dT in combination on the growth of hepatitis B was measured in 2.2.15 cells. The results are provided in Table 4.

Table 4

Combination	Ratio	EC ₅₀
L-dC + L-dT	1:3	.023
L-dC + L-dT	1:1	.053
L-dC + L-dT	3:1	.039
L-dC + L-dA	1:30	.022
L-dC + L-dA	1:10	.041
L-dC + L-dA	1:3	.075
L-dT + L-dA	1:30	.054
L-dT + L-dA	1:10	.077
L-dT + L-dA	1:3	.035

5

Each combination produced anti-HBV activity that was synergistic. In addition, the combination of L-dA + L-dC + L-dT was also synergistic in this model.

Example 33

The inhibition of hepatitis B replication in 2.2.15 cells by β -L-dA and β -L-dC, alone and in combination was measured. The results are shown in Table 5.

10

Table 5

^a β -L-2'-deoxy-adenosine (μ M)	^b β -L-2'-deoxy-cytidine (μ M)	% Inhibition	%C.I.
0.5		90	
0.05		24	
0.005		1	
	0.5	95	
	0.05	40	
	0.005	10	
0.05	0.05	80	0.34
0.05	0.005	56	0.20
0.05	0.0005	50	0.56

WO 01/91737

PCT/US01/17301

^a β -L-2'-deoxy-adenosine (μ M)	^b β -L-2'-deoxy-cytidine (μ M)	% Inhibition	^c C.I.
0.005	0.05	72	0.35
0.005	0.005	54	0.35
0.005	0.0005	30	0.16
0.0005	0.05	50	0.83
0.0005	0.005	15	0.28
0.0005	0.0005	0	N.A.

^a β -L-2'-deoxy-adenosine: $IC_{50}=0.09 \mu$ M^b β -L-2'-deoxy-cytidine: $IC_{50}=0.06 \mu$ M^cCombination indices values indicate synergism effect (<1), additive effect (=1), and antagonism effect (>1)

5

Example 35 Efficacy of Compounds

The efficacy of L-dA, L-dT and L-dC against hepadnavirus infection in woodchucks (*Marmota monax*) chronically infected with woodchuck hepatitis virus (WHV) was determined. This animal model of HBV infection is widely accepted and has proven to be useful for the evaluation of antiviral agents directed against HBV.

10

There were 3 animals per drug group, and 4 animals per control. In group 1, the animals received a vehicle control; group 2 received lamivudine (3TC) (10 mg/kg/day); groups 3-6 received L-dA (0.01, 0.1, 1.0, 10 mg/kg/day, respectively); groups 7-10 received L-dT (0.01, 0.1, 1.0, 10 mg/kg/day, respectively); and groups 11-14 received L-dC (0.01, 0.1, 1.0, 10 mg/kg/day).

15

Drugs were administered by oral gavage once daily, and blood samples taken on days 0, 1, 3, 7, 14, 21, 28, and on post-treatment days +1, +3, +7, +14, +28 and +56. Assessment of the activity and toxicity was based on the reduction of WHV DNA in serum: dot-blot, quantitative PCR.

20

The results are illustrated in Figure 5 and Table 6.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

Table 6: Antiviral Activity of LdA, LdT, LdC in Woodchuck Model

day	Control	LdA	LdT	LdC
	ng WHV-DNA per ml serum ^{1,2}			
0	381	436	423	426
1	398	369	45	123
3	412	140	14	62
7	446	102	6	46
14	392	74	1	20

¹ LdA, LdT, LdC administered orally once a day at 10mg/kg² limit of detection is 1 ng/ml WHV-DNA per ml serum

5 The data show that L-dA, L-dT and L-dC are highly active in this *in vivo* model. First, viral load is reduced to undetectable (L-dT) or nearly undetectable (L-dA, L-dC) levels. Second, L-dA, L-dT and L-dC are shown to be more active than 3TC (lamivudine) in this model. Third, viral rebound is not detected for at least two weeks after withdrawal of L-dT. Fourth, dose response curves suggest that a modest increase in the dose of L-dA and L-dC would show antiviral activity similar to L-dT. Fifth, all animals receiving the drugs gained weight and no drug-related toxicity was detected.

Example 34 Preparation of Pharmaceutical Compositions

15 Humans or other hosts infected with hepatitis D can be treated by administering an effective amount of a β -2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside, for example, β -L-2'-deoxyadenosine, β -L-2'-deoxycytidine, β -L-2'-deoxyuridine, β -L-2'-deoxyguanosine or β -L-2'-deoxythymidine or a pharmaceutically acceptable prodrug or salt thereof in the presence of a pharmaceutically acceptable carrier or diluent. The active materials can be administered by any appropriate route, for example, orally, parenterally, intravenously, intradermally, subcutaneously, or topically, in liquid or solid form.

20 The active compound is included in the pharmaceutically acceptable carrier or diluent in an amount sufficient to deliver to a patient a therapeutically effective amount of compound to inhibit viral replication *in vivo*, without causing serious toxic effects in the

WO 01/91737

PCT/US01/17301

patient treated. By "inhibitory amount" is meant an amount of active ingredient sufficient to exert an inhibitory effect as measured by, for example, an assay such as the ones described herein.

5 A preferred dose of the compound for all of the above mentioned conditions will be in the range from about 1 to 50 mg/kg, preferably 1 to 20 mg/kg, of body weight per day, more generally 0.1 to about 100 mg per kilogram body weight of the recipient per day. The effective dosage range of the pharmaceutically acceptable prodrug can be calculated based on the weight of the parent nucleoside to be delivered. If the prodrug exhibits activity in itself, the effective dosage can be estimated as above using the weight of the prodrug, or by
10 other means known to those skilled in the art.

The compound is conveniently administered in unit any suitable dosage form, including but not limited to one containing 7 to 3000 mg, preferably 70 to 1400 mg of active ingredient per unit dosage form. A oral dosage of 50-1000 mg is usually convenient.

15 Ideally the active ingredient should be administered to achieve peak plasma concentrations of the active compound of from about 0.2 to 70 μ M, preferably about 1.0 to 10 μ M. This may be achieved, for example, by the intravenous injection of a 0.1 to 5% solution of the active ingredient, optionally in saline, or administered as a bolus of the active ingredient.

20 The concentration of active compound in the drug composition 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 the severity of the condition to be alleviated. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens should be adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person administering or supervising the
25 administration of the compositions, and that the concentration ranges set forth herein are exemplary only and are not intended to limit the scope or practice of the claimed composition. The active ingredient may be administered at once, or may be divided into a number of smaller doses to be administered at varying intervals of time.

30 A preferred mode of administration of the active compound is oral. Oral compositions will generally include an inert diluent or an edible carrier. They may be enclosed in gelatin capsules or compressed into tablets. For the purpose of oral therapeutic

WO 01/91737

PCT/US01/17301

administration, the active compound can be incorporated with excipients and used in the form of tablets, troches, or capsules. Pharmaceutically compatible binding agents, and/or adjuvant materials can be included as part of the composition.

5 The tablets, pills, capsules, troches and the like can contain any of the following ingredients, or compounds of a similar nature: a binder such as microcrystalline cellulose, gum tragacanth or gelatin; an excipient such as starch or lactose, a disintegrating agent such as alginic acid, Primogel, or corn starch; a lubricant such as magnesium stearate or Sterotes; a glidant such as colloidal silicon dioxide; a sweetening agent such as sucrose or saccharin; 10 or a flavoring agent such as peppermint, methyl salicylate, or orange flavoring. When the dosage unit form is a capsule, it can contain, in addition to material of the above type, a liquid carrier such as a fatty oil. In addition, dosage unit forms can contain various other materials which modify the physical form of the dosage unit, for example, coatings of sugar, shellac, or other enteric agents.

15 The compound can be administered as a component of an elixir, suspension, syrup, wafer, chewing gum or the like. A syrup may contain, in addition to the active compounds, sucrose as a sweetening agent and certain preservatives, dyes and colorings and flavors.

The compound or a pharmaceutically acceptable derivative or salts thereof can also be mixed with other active materials that do not impair the desired action, or with materials that supplement the desired action, such as antibiotics, antifungals, antiinflammatories, 20 protease inhibitors, or other nucleoside or non-nucleoside antiviral agents. Solutions or suspensions used for parenteral, intradermal, subcutaneous, or topical application can include the following components: a sterile diluent such as water for injection, saline solution, fixed oils, polyethylene glycols, glycerine, propylene glycol or other synthetic solvents; antibacterial agents such as benzyl alcohol or methyl parabens; antioxidants such as ascorbic acid or sodium bisulfite; chelating agents such as ethylenediaminetetraacetic 25 acid; buffers such as acetates, citrates or phosphates and agents for the adjustment of tonicity such as sodium chloride or dextrose. The parental preparation can be enclosed in ampoules, disposable syringes or multiple dose vials made of glass or plastic.

30 If administered intravenously, preferred carriers are physiological saline or phosphate buffered saline (PBS).

WO 01/91737

PCT/US01/17301

In a preferred embodiment, the active compounds are prepared with carriers that will protect the compound against rapid elimination from the body, such as a controlled release formulation, including implants and microencapsulated delivery systems. Biodegradable, biocompatible polymers can be used, such as ethylene vinyl acetate, polyanhydrides, polyglycolic acid, collagen, polyorthoesters, and polyacetic acid. Methods for preparation of such formulations will be apparent to those skilled in the art. The materials can also be obtained commercially from Alza Corporation.

Liposomal suspensions (including liposomes targeted to infected cells with monoclonal antibodies to viral antigens) are also preferred as pharmaceutically acceptable carriers. These may be prepared according to methods known to those skilled in the art, for example, as described in U.S. Patent No. 4,522,811. For example, liposome formulations may be prepared by dissolving appropriate lipid(s) (such as stearyl phosphatidyl ethanolamine, stearyl phosphatidyl choline, arachadyl phosphatidyl choline, and cholesterol) in an inorganic solvent that is then evaporated, leaving behind a thin film of dried lipid on the surface of the container. An aqueous solution of the active compound or its monophosphate, diphosphate, and/or triphosphate derivatives is then introduced into the container. The container is then swirled by hand to free lipid material from the sides of the container and to disperse lipid aggregates, thereby forming the liposomal suspension.

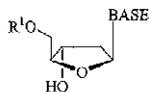
This invention has been described with reference to its preferred embodiments. Variations and modifications of the invention, will be obvious to those skilled in the art from the foregoing detailed description of the invention. It is intended that all of these variations and modifications be included within the scope of the this invention.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

We claim:

1. A method for treating a host infected with hepatitis D virus comprising administering an effective treatment amount of 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside of the formula:

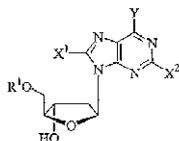


or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

R¹ is selected from the group consisting of H, 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; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

2. The method of claim 1, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -D-2'-deoxypurine of the formula:



or a pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

R¹ is selected from the group consisting of H, 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;

Y is OR³, NR²R⁴ or SR⁵; and

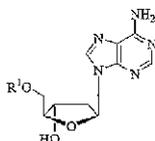
WO 01/91737

PCT/US01/17301

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, CR^5 , NR^5NR^6 or SR^5 ; and

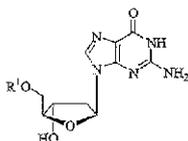
R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

3. The method of claim 2, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyadenosine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

4. The method of claim 3, wherein R^1 is hydrogen.
 5. The method of claim 3, wherein R^1 is acyl.
 6. The method of claim 5, wherein the acyl is derived from an amino acid.
 7. The method of claim 6, wherein the amino acid is valine.
 8. The method of claim 2, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyguanosine of the formula:

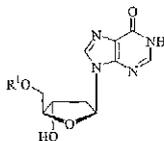


or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

WO 01/91737

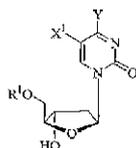
PCT/US01/17301

9. The method of claim 2, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyinosine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

10. The method of claim 1, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxypyrimidine of the formula:



or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof, wherein

R^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, acylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

Y is OR^3 , NR^3R^4 or SR^3 ; and

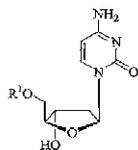
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen, OR^5 , NR^5NR^6 or SR^5 ; and

R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are independently H, 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.

WO 01/91737

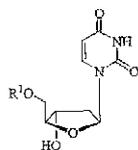
PCT/US01/17301

11. The method of claim 10, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxycytidine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

12. The method of claim 11, wherein R^1 is hydrogen.
 13. The method of claim 11, wherein R^1 is acyl.
 14. The method of claim 13, wherein the acyl is derived from an amino acid.
 15. The method of claim 14, wherein the amino acid is valine.
 16. The method of claim 10, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyuridine of the formula:

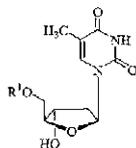


or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

WO 01/91737

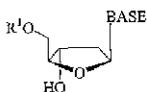
PCT/US01/17301

17. The method of claim 10, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-thymidine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

18. The method of claim 17, wherein R^1 is hydrogen.
 19. The method of claim 17, wherein R^1 is acyl.
 20. The method of claim 19, wherein the acyl is derived from an amino acid.
 21. The method of claim 20, wherein the amino acid is valine.
 22. A method for treating a host infected with hepatitis D virus comprising administering an effective hepatitis D treatment amount of at least two 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleosides in combination or alternation, wherein each 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is independently of the formula:



or its pharmaceutically acceptable salt thereof,

wherein R^1 is selected from the group consisting of H, 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; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

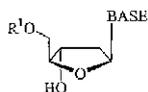
23. A method for treating a host infected with hepatitis D virus comprising administering an effective hepatitis D treatment amount of a biologically active 2'-deoxy- β -L-

WO 01/91737

PCT/US01/17301

erythro-pentofuranonucleoside or a pharmaceutically acceptable salt thereof in combination or alternation with an anti-hepatitis B agent, wherein the additional anti-hepatitis B agent is selected from the group consisting of FTC, L-FMAU, DAPD, famciclovir, penciclovir, BMS-200475, bis pom PME A (adefovir, dipivoxil), lobucavir, ganciclovir or ribavirin.

24. Use of a 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside of the formula:

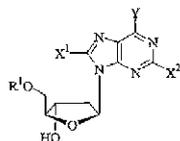


or its pharmaceutically acceptable salt thereof, for the treatment or prophylaxis of a host infected with hepatitis D virus, wherein

R^1 is selected from the group consisting of H, 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; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

25. The use of claim 24, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyuridine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

R^1 is selected from the group consisting of H, 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;

WO 01/91737

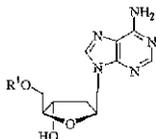
PCT/US01/17301

Y is OR^3 , NR^2R^4 or SR^3 ; and

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^5 , NR^5NR^6 or SR^5 ; and

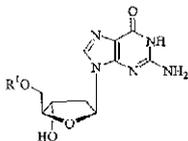
R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are independently H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative.

26. The use of claim 25, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyadenosine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

27. The use of claim 26, wherein R^1 is hydrogen.
28. The use of claim 26, wherein R^1 is acyl.
29. The use of claim 28, wherein the acyl is derived from an amino acid.
30. The use of claim 29, wherein the amino acid is valine.
31. The use of claim 25, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyguanosine of the formula:

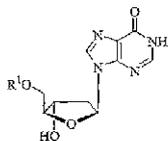


or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

WO 01/91737

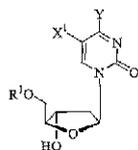
PCT/US01/17301

32. The use of claim 25, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyinosine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

33. The use of claim 24, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxypyrimidine of the formula:



or its pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

R^1 is selected from the group consisting of H, 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;

Y is OR^3 , NR^3R^4 or SR^3 ; and

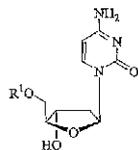
X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen, OR^5 , NR^5NR^6 or SR^5 ; and

R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are independently H, 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.

WO 01/91737

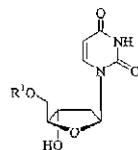
PCT/US01/17301

34. The use of claim 33, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxytyridine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

35. The use of claim 34, wherein R^1 is hydrogen.
36. The use of claim 34, wherein R^1 is acyl.
37. The use of claim 36, wherein the acyl is derived from an amino acid.
38. The use of claim 37, wherein the amino acid is valine.
39. The use of claim 33, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyuridine of the formula:

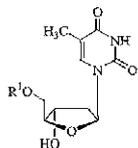


or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

WO 01/91737

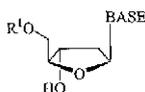
PCT/US01/17301

40. The use of claim 33, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-thymidine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

41. The use of claim 40, wherein R^1 is hydrogen.
 42. The use of claim 40, wherein R^1 is acyl.
 43. The use of claim 42, wherein the acyl is derived from an amino acid.
 44. The use of claim 43, wherein the amino acid is valine.
 45. Use of a 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside of the formula:



or its pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for the treatment or prophylaxis of a host infected with hepatitis D virus, wherein

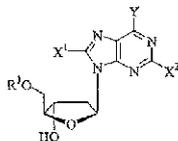
R^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative; and

BASE is a purine or pyrimidine base that may optionally be substituted.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

46. The use of claim 45, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyuridine of the formula:



or its pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

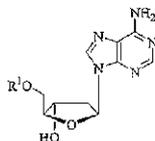
R¹ is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

Y is OR³, NR⁴R⁵ or SR⁶; and

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, OR⁵, NR⁵NR⁶ or SR⁵; and

R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are independently H, 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.

47. The use of claim 46, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyadenosine of the formula:

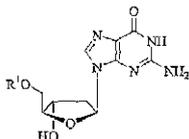


or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R¹ is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

WO 01/91737

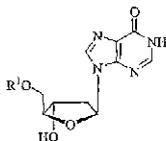
PCT/US01/17301

48. The use of claim 47, wherein R¹ is hydrogen.
49. The use of claim 47, wherein R¹ is acyl.
50. The use of claim 49, wherein the acyl is derived from an amino acid.
51. The use of claim 50, wherein the amino acid is valine.
52. The use of claim 46, wherein the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranucleoside is a β-L-2'-deoxyguanosine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R¹ is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

53. The use of claim 46, wherein the 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranucleoside is a β-L-2'-deoxyinosine of the formula:

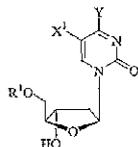


or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R¹ is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

WO 01/91737

PCT/US01/17301

54. The use of claim 45, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyuridine of the formula:



or its pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein

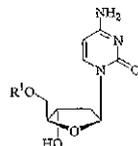
R^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, CO-aryloxyalkyl, CO-substituted aryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, aralkylsulfonyl, amino acid residue, mono, di, or triphosphate, or a phosphate derivative;

Y is OR^3 , NR^3R^4 or SR^3 ; and

X^1 is selected from the group consisting of H, straight chained, branched or cyclic alkyl, CO-alkyl, CO-aryl, CO-alkoxyalkyl, halogen, OR^5 , NR^5NR^6 or SR^5 ; and

R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are independently H, 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.

55. The use of claim 54, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxycytidine of the formula:

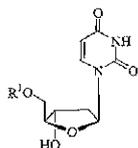


or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

WO 01/91737

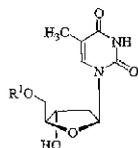
PCT/US01/17301

56. The use of claim 55, wherein R^1 is hydrogen.
57. The use of claim 55, wherein R^1 is acyl.
58. The use of claim 57, wherein the acyl is derived from an amino acid.
59. The use of claim 58, wherein the amino acid is valine.
60. The use of claim 54, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-2'-deoxyuridine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

61. The use of claim 54, wherein the 2'-deoxy- β -L-erythro-pentofuranonucleoside is a β -L-thymidine of the formula:



or pharmaceutically acceptable salt thereof, wherein R^1 is H, mono, di or triphosphate, acyl, alkyl, or a stabilized phosphate derivative.

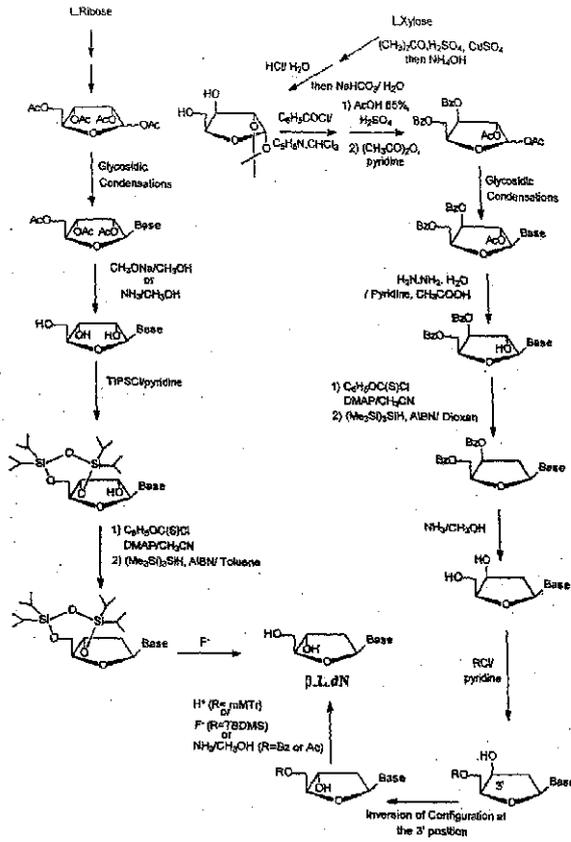
62. The use of claim 61, wherein R^1 is hydrogen.
63. The use of claim 61, wherein R^1 is acyl.
64. The use of claim 63, wherein the acyl is derived from an amino acid.
65. The use of claim 64, wherein the amino acid is valine.

WO 01/91737

FIGURE 1

PCT/US01/17301

Process for Preparing β -L-d-Nucleosides



WO 01/91737

PCT/US01/17301

Figure 3a

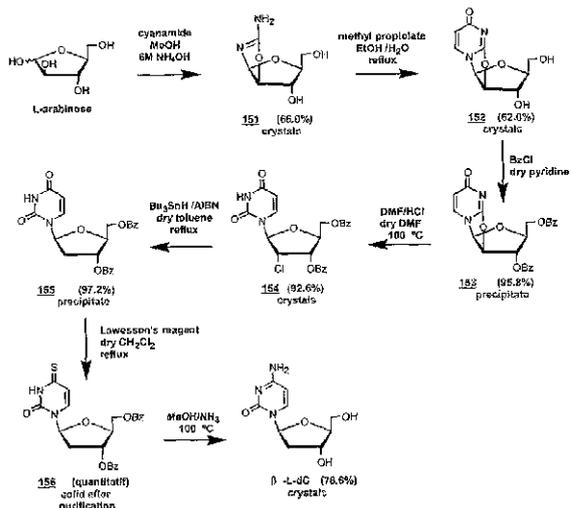
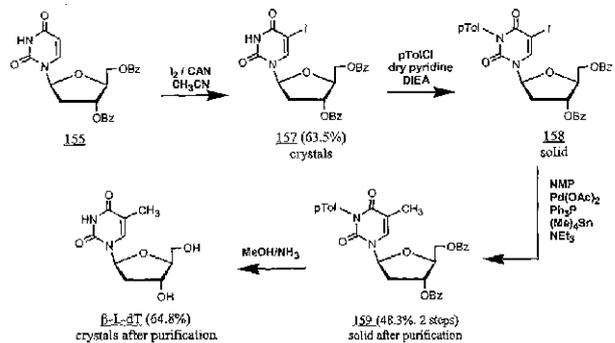


Figure 3b



WO 01/91737

PCT/US01/17301

FIGURE 4

Accumulation and Decay of L-dA, L-dT, and L-dC in HepG2 Cells

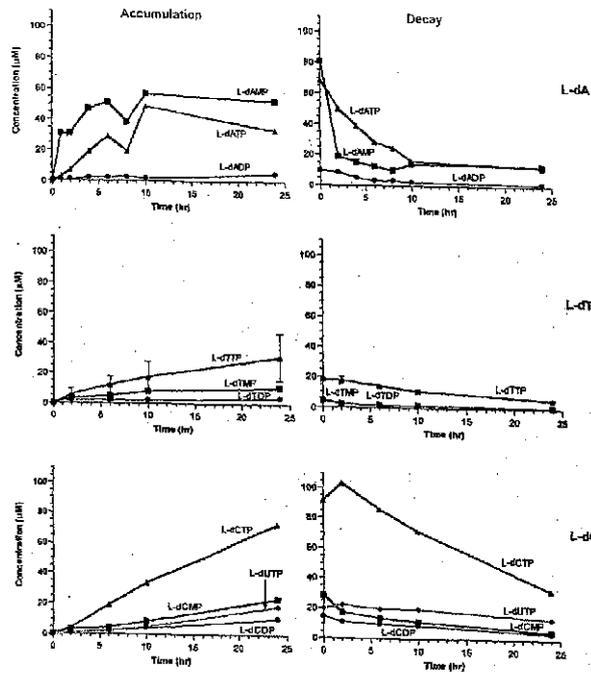
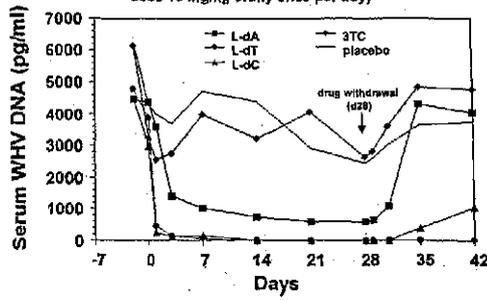


FIGURE 5
**Antiviral Effect of β L-dA, β L-dT and β L-dC
in Woodchuck Chronic Hepatitis Model**
(n=3 per drug treatment group, n=4 per placebo group,
dose 10 mg/kg orally once per day)



【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
6 December 2001 (06.12.2001)

PCT

(10) International Publication Number
WO 01/91737 A3

- (51) International Patent Classification: A61K 31/706, 31/7064, 31/7065, 31/7072, 31/7076, 31/708, A61P 31/12, A61K 31/70
- (21) International Application Number: PCT/US01/1730
- (22) International Filing Date: 29 May 2001 (29.05.2001)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/207,538 26 May 2000 (26.05.2000) US
- (71) Applicant (for all Designated States except US): NOVIRFO PHARMACEUTICALS LIMITED [—]; Walker Secretaries, Walker House, Grand Cayman (KY)
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): SOMMADOSJI, Jean-Pierre [FR/US]; 5075 Greystone Way, Birmingham, AL 3524 (US); BRYANT, Martin, L. [US/US]; 65 Hickory Lane, Carlisle, MA 01741 (US)
- (74) Agent: KNOWLES, Sherry, M.; 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, GR, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TD, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IL, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published: with international search report
- (85) Date of publication of the international search report: 30 May 2002

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 01/91737 A3

(54) Title: METHODS FOR TREATING HEPATITIS DELTA VIRUS INFECTION WITH BETA-L-2' DEOXYNUCLEOSIDES

(57) Abstract: A method and composition for treating a host infected with hepatitis D comprising administering an effective hepatitis D treatment amount of a described 2'-deoxy-β-L-erythro-pentofuranonucleoside or a pharmaceutically acceptable salt or prodrug thereof.

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Intr. National Application No. PCI/US 01/17301
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K31/706 A61K31/7064 A61K31/7068 A61K31/7072 A61K31/7076 A61K31/708 A61P31/12 A61K31/70		
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) IPC 7 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim no.
X	WO 00 09531 A (NOVIRIO PHARMACEUTICALS LIMITE;IMBACH JEAN LOUIS : GOSSELIN GILLES) 24 February 2000 (2000-02-24) the whole document	1-65
A	BEERS M.H.; BERKOW R. (EDS.): "MERCCK MANUAL OF DIAGNOSIS AND THERAPY (17th ed.)" 1999, MERCK RESEARCH LABORATORIES, WHITEHOUSE STATION N.J. XP002187299 236240 page 379, column 2, paragraph 2 -page 380, column 1, paragraph 1	1-65
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" documents claiming the general state of the art which are considered to be of particular relevance "I" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubt on priority claims or which is cited to establish the publication date of another claim or other special reason (as specified) "O" document relating to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but after than the priority date claimed		
"1" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to underscore the principle or theory underlying the invention "2" 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 "3" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered 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 "4" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search	Date of making of the international search report	
14 January 2002	01/02/2002	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P. B. 2018 Patentstr. 2 DK - 2200 SJO RINGKJØG Tel. (+45) 70 340 2040 Tx 31 651 40 01 Fax (+45) 70 340 2016	Authorized officer A. Jakobs	

Form PCT/ISA 210, Second sheet (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCI/US 01/17301

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MARCHAND, ARNAUD ET AL: "Stereospecific synthesis of unnatural beta-L-enantiomers of 2-chloroadenine pentofuranonucleoside derivatives" J. CHEM. SOC., PERKIN TRANS. 1 (1999), (16), 2249-2254, XP001052612 scheme 3, abstract page 2251, column 1, paragraph 2 -column 2, paragraph 1	1, 2, 22, 24, 25, 45, 46
X	VON JANTA-LIPINSKI, MARTIN ET AL: "Newly Synthesized L-Enantiomers of 3'-Fluoro-Modified ss-2'-Deoxyribonucleoside 5'-Triphosphates Inhibit Hepatitis B DNA Polymerases But Not the Five Cellular DNA Polymerases. alpha., beta., gamma., delta., and epsilon. Nor HIV-1 Reverse Transcriptase" J. MED. CHEM. (1998), 41(12), 2040-2046, XP001052614 scheme 2, abstract: figure 1; table 1	1, 10, 17, 18, 22, 24, 33, 40, 41, 45, 54, 61, 62
X	VERRI, ANNALISA ET AL: "Relaxed enantioselectivity of human mitochondrial thymidine kinase and chemotherapeutic uses of L-nucleoside analogs" BIOCHEM. J. (1997), 328(1), 317-320, XP001058113 the whole document	1, 10, 17, 18, 22, 24, 33, 40, 41, 45, 54, 61, 62
X	LIN T-S ET AL: "Synthesis of Several Pyrimidine 1-Nucleoside Analogues as Potential Antiviral Agents" TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 51, no. 4, 23 January 1995 (1995-01-23), pages 1055-1068, XP004104973 ISSN: 0040-4020 scheme 1, abstract page 1060, paragraph 1	1, 10, 16, 22, 24, 33, 39, 45, 54, 60
A	GAUBERT, GILLES ET AL: "Unnatural enantiomers of 5-azacytidine analogs: syntheses and enzymic properties" EUR. J. MED. CHEM. (2000), 35(11), 1011-1019, XP004227516 the whole document	1-65

1

Form PCT/ISA 210 (continuation of second sheet) July 1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 Int'l. Patent Application No.
 PC1/US 01/17301

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	LIN, TAI-SHUN ET AL: "Design and Synthesis of 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydro-.beta.-L-cytidine (.beta.-L-d4C) and 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydro-.beta.-L-5-fluorocytidine (.beta.-L-Fd4C), Two Exceptionally Potent Inhibitors of Human Hepatitis B Virus (HBV) and Potent Inhibitors of Human Immunodeficiency Virus (HIV) in " J. MED. CHEM. (1996), 39(9), 1757-9 , XP001052613 the whole document	1-65
A	MANSOUR, T. S. ET AL: "Stereochemical aspects of the anti-HCMV activity of cytidine nucleoside analogs" ANTIVIRAL CHEM. CHEMOTHER. (1995), 6(3), 138-42 , XP001058115 the whole document	1-65

1

Form P/151 (04/2003) Number of cited sheets: 6 / 15 (9)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International Application No.
PC1/US 01/17301

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family members)	Publication date
WO 0009531	A 24-02-2000	AU 5475799 A	06-03-2000
		CN 1320128 T	31-10-2001
		EP 1104436 A2	06-06-2001
		WO 0009531 A2	24-02-2000

Form PCT/ISA/210 (patent family) annex July 1999

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 H 19/073	C 0 7 H 19/073	
C 0 7 H 19/173	C 0 7 H 19/173	

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, 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, 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, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW

(72) 発明者 ソマドーシ, ジャン - ピエール

アメリカ合衆国、アラバマ・3 5 2 4、バーミングハム、グレイストーン・ウェイ・5 0 7 5

(72) 発明者 ブライアント, マーティン・エル

アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 7 4 1、カーライル、ヒツコリー・レーン・6 5

F ターム(参考) 4C057 BB02 CC01 DD01 LL10 LL14 LL19 LL30 LL40 LL42

4C084 AA19 MA02 NA05 NA14 ZB332

4C086 AA01 AA02 AA03 EA17 EA18 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14

ZB33