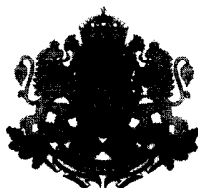


РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ
ЗА
ИЗОБРЕТЕНИЕ

(11) 100792A

(51) C07H 19/00
C07H 19/06
C07H 19/16
A61K 31/70

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

(21) Заявителски № 100792				(71) Заявител(и):			
(22) Заявено на 20.08.1996				YALE UNIVERSITY, ., NEW			
(24) Начало на действие				HAVEN,CT, NEW HAVEN,CT (US);			
на патента от:				UNIVERSITY OF GEORGIA RESEARCH			
				FOUNDATION,INC., ., 30602 ATHENS,			
				DW BROOKS DRIVE GA (US);			
Приоритетни данни				(72) Изобретател(и):			
(31)	189070	(32)	28.01.1994	(33)	US	CHU, CHUNG K., ATHENS,GA (US	
				) ; CHENG , YUNG-CHI . ,			
				WOODBIDGE,CT (US) ; PAI ,			
				BALAKRISHNA S., NEW HAVEN,CT (			
				US) ; YAO , GANG-QING . ,			
				GUILFORD,CT (US);			
(41) Публикувана заявка в				(74) Представител по индустриална			
бюлетин № 3 31.03.1997				собственост:			
(45) Отпечатано на				Румяна Стефанова Слабова , 1124			
(46) Публикувано в бюлетин №				София , ул. "Леонардо да Винчи" 3			
на							
(56) Информационни източници:							
(62) Разделена заявка от рег. №				(86) № на PCT заявка:			
				PCT/ US95/0 / 1253 , 30.01.1995			
				(87) № и дата на PCT публикация:			
				95/205 / 95 , 03.08.1995			

(54) L-НУКЛЕОЗИДИ ЗА ТРЕТИРАНЕ НА ХЕПАТИТ-В ВИРУС И ЕПЩАЙН-BAR
ВИРУС

(57) Изобретението се отнася до метод за лечение на организми, по-специално на хора, инфектирани с нвв или евв чрез прилагане на нвви или евв-лечебно количество от l-нуклеозид с формула в която г е пуринова или пиримидинова основа. В предпочитано изпълнение съединението е 2'-флуоро-5-метил-l-арабинофуранозилуридин (означено също като l-fумаи). Съединението е силно антивирусно средство срещу нвв и евв и и ма ниска цитотоксичност. Други специфични примери на активни съединения са n1-(2'-деокси-2'-флуоро-l-арабинофуранозил)-5-етилурацил, n1-(2'-деокси-2'-флуоро-l-арабинофуранозил)-5-йодоцитозин и n1-(2'- деокси-2'-флуоро-l-арабинофуранозил)-5-йодоурацил.

13 претенции, 13 претенции , 0

BG 100792A

20.08.96

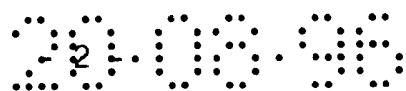
A-599/96-PC

**L-НУКЛЕОЗИДИ ЗА ТРЕТИРАНЕ НА ХЕПАТИТ-В
ВИРУС И ЕПЩАЙН-ВАР ВИРУС**

Настоящото изобретение се отнася до метод за третиране на хепатит-В вирус (означаван също като "HBV") и епщайн-ВАР вирус (означаван също като "EBV"), който се състои в прилагане на ефективно количество от едно или повече от активните съединения описани тук или тяхно фармацевтично приемливо производно или пролекарство на тези съединения.

ПРЕДШЕСТВУВАЩО СЪСТОЯНИЕ НА ТЕХНИКАТА

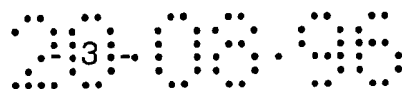
Хепатит-В вирусът е достигнал епидемично ниво навсякъде. След два до шест месеца инкубационен период, в който гостоприемникът не забелязва инфекцията, HBV инфекцията може да доведе до остър хепатит и увреждане на черния дроб, което причинява коремни болки, жълтеница и повишаване на нивото на някои ензими в кръвта. HBV може да причини внезапен хепатит, бързо прогресиращ, често с



фатална форма на болестта, при която се разрушават големи по размери секции от черния дроб. Пациентите обикновено се възстановяват след остър вирусен хепатит. При някои пациенти, обаче, високото ниво на вирусни антигени остава в кръвта за продължителен или неопределен период, причинявайки хронични инфекции. Хроничните инфекции могат да доведат до хроничен устойчив хепатит. Пациенти инфектирани с хроничен устойчив HBV има най-много в равнините се страни. Към средата на 1991 година носителите на хроничен HBV само в Азия са приблизително 225 милиона, а в света са почти 300 милиона носители. Хроничният устойчив хепатит може да причини умора, цироза на черния дроб, хепатоцелуларна карцинома, първичен рак на черния дроб.

В западните индустриализирани страни високо рискови групи за HBV инфекции са тези, които са в контакт с HBV носителите или техни кръвни проби. Епидемиологията на HBV фактически е много подобна на тази на синдрома на придобита имунна недостатъчност, което обяснява защо HBV инфекцията е разпространена главно сред пациентите със СПИН или свързани с HIV инфекции. Обаче, HBV е по-заразен от HIV.

HBV е на второ място само след тютюна като причинител на рак при човека. Механизмът, по който HBV причинява рак не е известен, макар че се предполага, че той може директно да бъде начало за развитие на тумор или индиректно начало за развитие на тумор чрез хронично възпаление, цироза и клетъчно регенериране свързано с инфекцията.



Епщайн -BAR вирусът (EBV) е член на рода *Lymphocryptovirus*, който спада към подсемейство *gammaherpesvirinae*. Той е изключително лимфотропен. EBV има класическата структура на херпесвирусите, именно, неговият геном с двойноверижна ДНК се съдържа в икозапентахедрал нуклеокапсида, който на свой ред е обграден посредством липидна обвивка покрита с вирусни гликопротеини. Аморфен протеин от обвивката заема пространството между обвивката и нуклеокапсида.

Всички херпесвируси при хората инфектират и репродуцират вътре в лимфоцитите до известна степен, а при EBV това е ефективно. Най важно, патогенезата и отговора на гостоприемника при инфекция с EBV са повече зависими от лимфоцитната инфекция, отколкото това е очевидно за други херпесвируси при хората.

EBV сега се смята за причина за В-клетъчно лимфопролиферативно заболяване и е свързан с различни други тежки и хронични болести, включително рядък синдром подобен на прогресивна мононуклеоза и орална лейкоплакия при СПИН пациенти. Предположението, че EBV е главна причина за хронична умора, не издържа подобно разглеждане.

EBV първоначално се предава чрез слюнката, макар че някои инфекции се предават чрез преливане на кръв. Повече от 85% от пациентите в остра фаза на инфекциозна мононуклеоза секретират EBV.

EBV е свързан с рака. Най-малко две групи пациенти са рискови за развитие на свързана с EBV лимфома: тези, които са получили транспланти от бъбрек, сърце, костен мозък, черен дроб или тимус, под защитата на



имуносупресивна терапия и пациенти със СПИН. Свързан с EBV рак включва лимфома на Burkitt и назофарингеална карцинома.

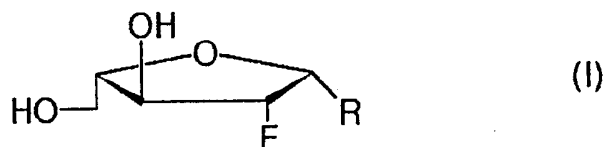
В светлината на факта, че хепатит-В вирусът и епщайн-BAR вирусът причиняват тежки и често трагични ефекти върху инфектираните пациенти, остава острата нужда от намиране на нови ефективни фармацевтични средства за лечение на хора инфектирани с вируси, които средства да имат малка токсичност за гостоприемника.

Задача на настоящото изобретение е да се осигурят съединения, състави и метод за третиране на хепатит-В вирус.

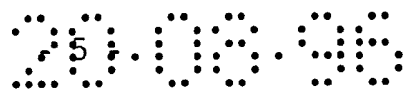
Друга задача на настоящото изобретение е да се осигурят съединения, състави и метод за третиране на епщайн-BAR вирус.¹

ТЕХНИЧЕСКА СЪЩНОСТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕТО

Изобретението се отнася до метод за лечение на организми и по-специално хора, инфектирани с HBV или EBV, който се състои в прилагане на HBV или EBV лечебно количество от L-нуклеозид с формула



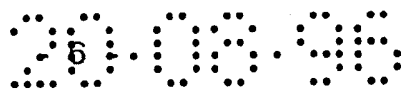
в която R означава пуринова или пиримидинова основа. В предпочитано изпълнение, нуклеозидът се получава като определен енантиомер и по същество в отсъствие на неговия съответстващ енантиомер (т.е. в енантиомерно обогатена, енантиомерно чиста форма).



В предпочитано изпълнение, активното съединение е 2'-флуоро-5-метил- β -L-арабинофуранозилуридин (също означено като L-FMAU). Това съединение е силно антивирусно средство спрямо HBV и EBV и притежава ниска цитотоксичност. Други конкретни примери на активни съединения са N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-етилурацил, N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодоцитозин и N_1 (2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодурацил.

Съгласно алтернативно изпълнение е осигурен L-нуклеозид за лечение на HBV или EBV, съдържащ 2'-арабинохидроксилна група, например L-аратимидин, L-флударабин, L-арагуанозин и L-араинозин както е посочено на фигура 1.

L-нуклеозидите описани в настоящото изобретение и техните фармацевтично приемливи производни или фармацевтично приемливи форми за приложение съдържащи тези съединения са полезни за предотвратяване и лечение на HBV инфекции и други свързани с тях състояния като анти-HBV антитяло позитивни и HBV позитивни състояния, хронични чернодробни възпаления причинени от HBV, цироза, остър хепатит, внезапен хепатит, хроничен устойчив хепатит и умора. Съединенията могат да се използват също за лечение на свързани с EBV смущения. Тези съединения или форми за приложение могат да се използват също профилактично за предотвратяване или забавяне прогресирането на клинични заболявания в индивиди, които са анти-HBV или анти-EBV антитяло или HBV или EBV антиген позитивни или които са изложени на HBV или EBV.



Съгласно друго изпълнение, активните съединения или техни производни или соли могат да се прилагат в комбинация или алтернативно с друго анти-HBV средство или анти-EBV средство, включително изброените по-горе или анти-HIV средство. Най-общо, през време на алтернативна терапия, ефективна доза от всяко средство се прилага серийно, а при комбинирана терапия заедно се прилага ефективна доза от две или повече средства. Дозировката зависи от абсорбцията, инактивирането и скоростта на изхвърляне на лекарството както и от други фактори известни на специалистите от областта. Трябва да се отбележи, че стойностите на дозата варират и в зависимост от тежестта на състоянието, което се облекчава. Освен това трябва да се знае, че за всеки отделен субект трябва да се коригират специфични режими на дозиране и схема за време съгласно индивидуалната нужда и професионалната преценка на прилагащия или наблюдаващия прилагането на съставите.

1. Неограничаващи примери на антивирусни средства, които могат да се използват в комбинация със съединенията съгласно изобретението са (-)-енантиомер на 2-хидроксиметил-5-(5-флуороцитозин-1-ил)-1,3-оксатиолан (FTC), (-)-енантиомер на 2-хидроксиметил-5-(цитозин-1-ил)-1,3-оксатиолан (3TC), карбовир, ацикловир, интерферон, AZT, DDI (2',3'-дидеоксиинозин), DDC (2',3'-дидеоксицитидин), L-DDC, L-5-F-DDC и D4T.

Кратко описание на фигурите

Фигура 1 е илюстрация на избрани L-нуклеозиди, които попадат в обхвата на настоящото изобретение: L-FMAU (2'-флуоро-5-метил-β-L-арабинофуранозилуридин), L-FIAU (2'-

флуоро-5-йодо- β -L-арабинофуранозилуридин), L-FC (2'-флуоро- β -L-арабинофуранозилцитозин), L-FIAC (2'-флуоро-5-йодо- β -L-арабинофуранозилцитозин), L-2-Cl-2'-F-2'-деоксиаденин, L-FEAU (2'-флуоро-5-етил- β -L-арабинофуранозилуридин), L-аратимидин, L-флударабин, L-арагуанозин и L-араинозин.

Фигура 2 е графика на процента на оживели клетки спрямо лечебната концентрация на L-FMAU в H1 клетки.

Фигура 3 е схематична илюстрация на получаването на 1-O-ацетил-2,3,5-три-O-бензоил- β -L-рибофураноза (съединение 10).

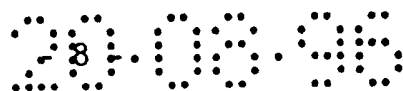
Фигура 4 е схематична илюстрация на алтернативно получаване на 1-O-ацетил-2,3,5-три-O-бензоил- β -L-рибофураноза (съединение 10).

Фигура 5 е схематична илюстрация на метода за получаване на 1,3,5-три-бензоил-2-деокси-2'-флуоро- α -L-арабинофураноза (съединение 13).

Фигура 6 е схематична илюстрация на метода за получаване на N₉-(3',5'-ди-O-бензоил-2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-2,6-дихлоропурин (съединение 15) и N₉-(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-2,6-дихлоропурин (съединение 16).

Фигура 7 е илюстрация на метода за получаване на редица 2'-деокси-флуоро- β -L-арабинофуранозил-пиримидини (съединения 17-24).

Фигура 8 е илюстрация на метода за получаване на N₁-(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодоцитозин (съединение 22).



Фигура 9 е илюстрация на метода за получаване на 9- β -L-арабинофуранозиладенин.

Фигура 10 е илюстрация на алтернативен начин за получаване на 1-O-ацетил-2,3,5-три-O-бензоил- β -L-рибофураноза (съединение 10) от 1,2-ди-O-изопропилиден- α -L-ксилофураноза (съединение 3).

Фигура 11 е графика на плазмената концентрация на L-(-)-FMAU у мишки след орално приложение за време (кръст, 10 mg/kg прилагани bid (два пъти дневно) за 29 дни преди фармакокинетичното изследване и след това изследване проведено на 30-ия ден от прилагането на същата концентрация, черно кръгче, 50 mg/kg прилагани два пъти дневно в продължение на 29 дни преди изследването и след това изследване проведено на 30-ия ден от прилагането на същата концентрация, празно кръгче, 50 mg/kg приложени за пръв път в първия ден от изследването).

Фигура 12 е графика на концентрацията на L-(-)-FMAU у миши черен дроб след орално прилагане за период от време (кръст, 10 mg/kg прилагани bid (два пъти дневно) в продължение на 30 дни преди фармакокинетичното изследване и след това изследване проведено на 31-ия ден от прилагането на същата концентрация, черно кръгче, 50 mg/kg прилагани два пъти дневно в продължение на 30 дни преди изследването и след това изследване проведено на 31-ия ден от прилагането на същата концентрация, празно кръгче, 50 mg/kg приложени за пръв път в първия ден от изследването).

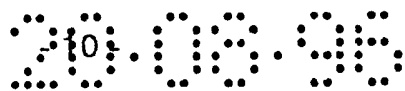
Фигура 13а илюстрира изменението на телесното тегло за тридесет и един дни на контролни BDF1 женски

мишки. Фигура 13 b и 13c илюстрират изменението на телесното тегло за тридесет и един дни на BDF1 женски мишки, дозирани с 10 mg/kg два пъти дневно (13b) и 50 mg/kg (13c) L-(-)-FMAU. Това телесно тегло представлява средното и стандартно отклонение за него при пет от седем мишки.

Фигури 14-20 представляват клиничната химия на миша плазма след прилагане на L-(-)-FMAU от 10 mg/kg (три мишки) или 50 mg/kg (три мишки) bid (два пъти дневно) в продължение на 30 дни. Фигура 14 е хистограма на концентрацията на общия билирубин в мишата плазма в mg/dL. Фигура 15 е хистограма на концентрацията на алкална фосфатаза в миша плазма в U/L. Фигура 16 е хистограма на концентрацията на креатинин в миша плазма в mg/dL. Фигура 17 е хистограма на концентрацията на AST (SGOT, серумна глутаминооксалова трансминаза) в миша плазма в U/L. Фигура 18 е хистограма на концентрацията на ALT (SGOT, серумна глутаминопирогроздена трансминаза) в миша плазма в U/L. Фигура 19 е хистограма на концентрацията на млечна киселина в миша плазма в mmol/L. Фигура 20 е хистограма на концентрацията на млечна дехидрогеназа в миша плазма в U/L.

Както е използван в описанието терминът "енантиомерно обогатен" се отнася до нуклеозиден състав, който включва най-малко приблизително 95% и за предпочитане приблизително 97%, 98%, 99% или 100% от единия от енантиомерите на този нуклеозид.

Както е използван в описанието терминът алкил по-специално включва, но не само, C₁ до C₁₀ алкилни групи като метил, етил, пропил, бутил, пентил, хексил, изопропил,



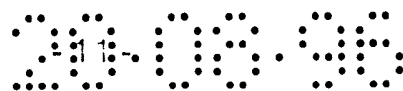
изобутил, втор-бутил, трет-бутил, изопентил, амил, трет-пентил, циклопентил и циклохексил.

Както е използван в описанието терминът ацил по-специално включва, но не само, ацетил, пропионил, бутирил, пентаноил, 3-метилбутирил, хидрогенсукцинат, 3-хлоробензоат, бензоил, пивалоил, мезилат, пропионил, валерил, капронат, каприлоилат, капринат, лаурат, миристант палмитат, стеарат и олеат.

Както е използван в описанието и ако не е посочено друго, арил се отнася до фенил.

Терминът "защитена" както е използван в описанието и ако не е посочено друго, се отнася до група, която се прибавя към кислороден или азотен атом да го защити от по-нататъшно взаимодействие по време на процеса на получаване на производни в други части на молекулата, в която се намират кислородът или азотът. Голямо разнообразие от кислородзащитни и азотзащитни групи са известни на специалистите от областта на органичния синтез.

Пуриновата или пиримидиновата основа включва, но не само, аденин, N⁶-алкилпурин, N⁶-ацилпурин (където ацил е C(O) (алкил, арил, алкарил или аралкил), N⁶-бензилпурин, N⁶-халопурин, N⁶-винилпурин, N⁶-ацетиленов пурин, N⁶-ацилпурин, N⁶-хидроксиалкилпурин, N⁶-тиоалкилпурин, тимин, цитозин, 6-азапиримидин, 2-меркаптопиримидин, урацил, N⁵-алкилпиримидин, N⁵-бензилпиримидин, N⁵-халопиримидин, N⁵-винилпиримидин, N⁵-ацетиленов пиримидин, N⁵-ацилпиримидин, N⁵-хидроксиалкилпурин, N⁵-тиоалкилпурин, 5-азацитидинил, 5-азаурацил, тиазолопиридинил, имидазолопиридинил, пиролопиримидинил,



пиразолопиримидинил. Функционалните кислородни и азотни групи на основата могат да се защитят ако е необходимо или се желае. Подходящите защитни групи са добре известни на специалистите от областта и включват триметилсилилна, диметилхексилсилилна, трет-бутилдиметилсилилна и трет-бутилдифенилсилилна, тритилметилна, алкилна групи, ацилни групи като ацетилна, пропионилна, бутилна, метилсулфонилна и р-толуилсулфонилна. Те по-специално включват 5-метилурацил (тимин), 5-йодоурацил, цитозин и 5-етилурацил.

Изобретението се отнася до метод и състав за третиране на HBV инфекция, EBV инфекция и други вируси, възпроизвеждащи по подобен начин като HIV, в човешки или друг животински гостоприемник, което се състои в прилагане на ефективно количество от едно или повече от гореозначените L-нуклеозиди или тяхно физиологично приемливо производно или физиологично приемлива сол, в даден случай във фармацевтично приемлив носител. Съединенията съгласно изобретението или притежават анти-HBV активност, анти-EBV активност или се метаболизират до съединение или съединения, които притежават анти-HBV или анти-EBV активност. Съединенията описани тук също могат да се използват за третиране на свързани с HBV и EBV заболявания.

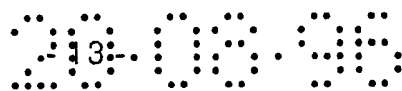
Активното съединение може да се прилага като някакво производно, което при прилагане към реципиента е способно да осигури директно или индиректно основното съединение или само то притежава активност. Неограничаващи примери са фармацевтично приемливи соли (алтернативно означени като "физиологично приемливи соли")

и 5' и пурин или пиримидин ацилираните или алкилираните производни на активното съединение (алтернативно означено като "физиологично активно производно"). Съгласно едно изпълнение ацилната група е естер на карбоксилна киселина (напр. $-C(O)R'$), в която некарбонилната част (R') на естерната група може да бъде с права, разклонена или циклична верига C_1 до C_{10} алкил, алкоксиалкил като метоксиметил, аралкил като бензил, арилоксиалкил като феноксиметил, арил като фенил в даден случай заместен с халоген, C_1 до C_4 алкил или C_1 до C_4 алкокси, сулфонатни естери като алкил или аралкилсулфонил като метансулфонил, моно-, ди- или трифосфатен естер, тритил или монометокситритил, субституиран бензил, триалкилсилил (напр. диметил-трет-бутилсилил) или дифенилметилсилил. Арилните групи в естерите в даден случай включват фенилна или бензилна група. Алкилната група може да бъде с права, разклонена или циклична верига и в даден случай е C_1 до C_{10} група.

Примери за изпълнение на изобретението

I. Синтез на L-нуклеозиди

L-нуклеозидите съгласно настоящото изобретение могат да се получат както е описано подробно по-долу или по друг начин известен на специалистите от областта. В схемата за синтез описана по-долу могат да се използват и други стандартни реагенти, включително еквивалентни киселини, основи и разтворители, освен цитираните, които са известни на специалистите от областта. Могат да се използват защитни групи за кислород или азот в широки граници, описани например от Greene et al., "Protective Groups in Organic



Synthesis", John Wiley and Sons, Second Edition, 1991.

Подходящи защитни групи за кислород и азот са например тризаместена силилна група като триметилсилил, диметилхексилсилил, трет-бутилдиметилсилил, трет-бутилдифенилсилил, тритил, алкилна група, ацилна група като ацетил, пропионил, бензоил, p -NO₂-бензоил, бензил или толил, метилсулфонил или p -толуилсулфонил. Функционалните кислородни или азотни групи в хетероциклената основа трябва да се защитят преди кондензирането им със захарта.

Подходящи редуциращи средства са NaBH₄, диизобутиламониев хидрид (DIBAL-H), литиев борохидрид (LiBH₄) и натриев бис(2-метоксиетокси)алуминиев хидрид (Red-Al). Подходящи окисляващи средства са водна кисела хромена киселина (CrO₃), натриев дихромат (Na₂CrO₇), пиридиниев хлорохромат (PCC), пиридиниев дихромат (PDC), калиев перманганат (K₂MnO₄), оловен тетраацетат/пиридин, кислород върху катализатор платина/въглен, RuO₄, RuO₄/NaSO₄, диметилсулфоксид/дициклохексилкарбодиимид (DMSO/DCC) и донор на протони, сребърен карбонат, трифенилбисмутов карбонат, окисление по Опенауер (алуминиеви алкоксиди в ацетон) и магнезиев диоксид (за селективно окисление на алилови или бензилови алкохоли в присъствие на други алкохоли).

Фридел-Крафтсови катализатори (Люисови киселини), които могат да се използват при кондензацията са SnCl₄, ZnCl₄, TiCl₄, AlCl₃, FeCl₃, BF₃-диетилов етер и BCl₃. Тези катализатори изискват безводни условия, тъй като наличието на вода намалява тяхната активност. Катализаторите също се инактивират в присъствие на

органични разтворители с активни водородни атоми като алкохоли и органични киселини. Катализаторите обикновено се използват в разтворители като въглероден дисулфид, метиленхлорид, нитрометан, 1,2-дихлоретан, нитробензен, тетрахлоретан, хлоробензен, бензен, толуен, диметилформамид, тетраhydroфуран, диоксан или ацетонитрил. Безводният алуминиев хлорид не е разтворим във въглероден дисулфи. Niedballa et al., J.Org.Chem, 39, 25 (1974). Предпочитан катализатор е SnCl_4 . Предпочитан разтворител е 1,2-дихлоретан. Триметилсилилтрифлат може да се използва при същите условия описани по-горе за Фридел-Крафтсовите катализатори. Взаимодействието се провежда при температура в границите от -10°C до 200°C . Десилилирането може да се извърши с различни реагенти като оцетна киселина, трифлуороцетна киселина, флуороводород, норм-тетрабутиламониев флуорид, калиев флуорид и пиридиниев HCl .

Като се има предвид фигура 3, като се излиза от L-ксилоза (1a), ключовото междинно съединение 1-O-ацетил-2,3,5-три-O-бензоил- β -L-рибофураноза (10) се синтезира с общ добив от 20% (L. Vargha, Chem.Ber., 1954, 87, 1351, Holy, A. et al., Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry, VI, 163-167). Както е показано на фигура 4, съединение (10) може също така да се синтезира от по-скъпия изходен продукт L-рибоза (Holy, A. et al., Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry, VI, 163-167). Фигура 3 илюстрира алтернативна синтеза на съединение (10) (добив 53%), което допълнително се флуорира при C_2 (J.Org.Chem., 1985, 50, 3644-47) като се получава 1,3,5-три-O-бензоил-2-деокси-2-

флуоро-L-арабинофураноза (13), която се кондензира с различни основи през бромозахарта до получаване на 2'-деокси-2'-флуороарабинофуранозилнуклеозиди с различни добиви.

1,2-ди-O-изопропилиден- α -L-ксилофураноза (3)

Към 650 ml безводен ацетон се прибавя 4 ml конц. сярна киселина, 5 g молекулно сито (4A), 80 g безводен куприсулфат и 50 g L-ксилоза и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 3 часа. Реакционната смес се филтрира и се промива изчерпателно с ацетон, обединените филтрати се неутрализират с амониев хидроксид и след това се изпаряват до сухо. Прибавя се етилацетат (200 ml), след това се филтрира и се изпарява, като се получава масло, което се разтваря в 250 ml 0,2% HCL разтвор и се разбърква при стайна температура в продължение на 2,5 часа. Стойността на pH се коригира на 8 с наситен NaHCO_3 , след това се изпарява до сухо, остатъкът се екстрахира с етилацетат. След отстраняване на разтворителя се получава съединение (3) като жълто масло (41,7 g, 82,3%).

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 5,979 (d, $J=3,78$ Hz, H-1), 4,519 (d, $J=3,6$ Hz, 1H, H-2), 4,308 (bd, 1H, H-3), 4,080 (m, 3H, H-4 и H-5), 1,321 (s, 3H, CH_3), 1,253 (s, 3H, CH_3).

1,2-ди-O-изопропилиден-3,5-ди-O-о-толилсулфонил- α -L-ксилофураноза (4)

Съединение (3) (40 g, 210 mmol) се разбърква в 500 ml безводен пиридин при 0°C и на капки се прибавя TsCl (75 g, 393 mmol) разтворен в 100 ml CHCl_3 . След три часа по същия начин както по-горе се прибавя друга порция TsCl (50 g, 262 mmol). Сместа се разбърква при стайна температура в

продължение на 24 часа, след това се охлажда при 0°C, прибавя се вода (10 ml), след което се разбърква при стайна температура в продължение на 30 минути. Реакционната смес се излива в 500 ml лед-вода, екстрахира се с CHCl_3 (150 ml x 4), промива се с 1,5 M H_2SO_4 (150 ml x 4), наситен NaHCO_3 (200 ml x 2), суши се (MgSO_4). След отстраняване на разтворителя се получава кафяв сироп, от който при кристализация из етилов алкохол се получава съединение (4) като бяло твърдо вещество (103,8 g, 99%).

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 7,282, 7,836 (m, 8H, OTs), 5,849 (d, $J=3,51$ Hz, 1H, H-1), 4,661, 4,779 (m, 2H, H-3 и H-4), 4,193 (dd, 1H, H-2), 4,011 (d, 2H, H-5), 2,448, 2,478 (2s, 6H, -OTs), 1,261, 1,320 (2s, 6H, CH_3).

**1,2-ди-О-ацетил-3,5-ди-О-р-толилсулфонил-
 α,β -ксилофураноза (5)**

Съединение (4) (70 g, 140,5 mmol) се разтваря в 700 ml ледена оцетна киселина и 100 ml оцетен анхидрид и на капки се прибавя концентрирана сярна киселина при 0°C. Полученият разтвор се разбърква при стайна температура една нощ и след това се излива в 1 L лед-вода, екстрахира се с CHCl_3 (200 ml x 4), промива се с наситен разтвор на NaHCO_3 , суши се (MgSO_4). След отстраняване на разтворителя под вакуум се получава съединение (5) като сироп (84,2 g, добив на суров продукт 110%).

**Метил-3,5-ди-О-р-толилсулфонил-
 α,β -ксилофураноза (6)**

Суровото съединение (5) (80 g) се разбърква в 500 ml 1% $\text{HCl}/\text{CH}_3\text{OH}$ при стайна температура в продължение на 30 часа. Разтворителят се отстранява под намалено налягане,

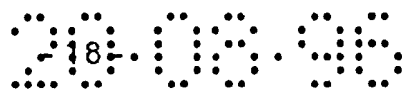
остатъкът се разтваря в 300 ml CHCl_3 , промива се с наситен разтвор на NaHCO_3 , суши се (MgSO_4). След отстраняване на разтворителя се получава съединение (6) като сироп (60 g, 90% от съединение (4)).

**Метил-2-О-бензоил-3,5-ди-О-р-толилсулфонил-
 α,β -ксилофуранозид (7)**

Сиропът, съединение (6) (60 g, 127 mmol) се разтваря в 200 ml пиридин и се разбърква при 0°C и на капки се прибавя бензоилхлорид (40 ml, 345 mmol), полученият разтвор се разбърква при стайна температура в продължение на 17 часа. Концентрира се до около 50 ml, след което се излива в 300 ml лед-вода, екстрахира се с CHCl_3 , промива се с 3N H_2SO_4 и наситен разтвор на NaHCO_3 , суши се (MgSO_4). След изпаряване на разтворителя се получава съединение (7) като сироп (71 g, 97%).

**Метил-2,3,5-три-О-бензоил-
 α,β -L-рибофуранозид (9)**

Сиропът, съединение (7) (70 g) и натриев бензоат (100 g, 694 mmol) се суспендира в 1200 ml диметилформаид и се разбърква механично при нагряване под обратен хладник в продължение на 16 часа. Охлажда се до стайна температура и след това се излива в 1L лед-вода, екстрахира се с етер, суши се (MgSO_4). След изпаряване на разтворителя се получава сироп (50 g, съединения (8a) и (8b)), който се разтваря в 180 ml пиридин и бензоилхлорид (BzCl , 20 ml, 172 mmol) в продължение на 17 часа при стайна температура. След преработване се получава съединение (9) като кафяв сироп (48 g, 83% от съединение (7)).



1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-

β -L-рибофураноза (10)

Съединение (9) (26 g, 54,6 mmol) се обработва с 275 ml ледена оцетна киселина, 55 ml оцетен анхидрид и 16 ml концентрирана сярна киселина при 0°C до стайна температура в продължение на 17 часа. След това се излива в 1L лед-вода, екстрахира се с хлороформ (200 ml x 4). Обединените екстракти се промиват с наситен разтвор на NaHCO_3 и се сушат (MgSO_4). След отстраняване на разтворителя се получава кафяв сироп, който се обработва с етанол като се получава съединение (10) като бяло твърдо вещество (8,8 g, 32%), т. на топене 124,7°C, лит.т.т. 129-130°C, D форма: 130-131°C, $[\alpha]_D = -45,613$ (с 1,0, CHCl_3 , D форма: $[\alpha]_D +44,2$.

^1H -ЯМР (ODCl_3): δ 7,317, 8,134 (m, 15H, OBz), 6,437 (s, 1H, H-1), 5,835 (m, 2H, H-2 и H-3), 4,649 (m, 3H, H-4 и H-5), 2,003 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{COO-}$).

1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-

β -L-рибофураноза (от L-рибоза)

L-рибоза (5 g, 33,3 mmol) се суспендира в 120 ml 1% HCl/MeOH и се разбърква при стайна температура в продължение на 3 часа, докато се получи бистър разтвор. Реакцията се прекъсва чрез прибавяне на 30 ml безводен пиридин, след което се изпарява под намалено налягане. Полученият сироп се изпарява заедно с пиридин (30 ml x 2), след което се разтваря в 80 ml безводен пиридин и при разбъркване при 0°C и на капки се прибавя бензоилхлорид (20 ml, 172 mmol). След разбъркване при стайна температура в продължение на 17 часа, реакцията завършва. Прибавя се

29.08.98

вода (10 ml) и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 0,5 часа, след това се концентрира до около 50 ml, излива се в 150 ml лед-вода, екстрахира се с хлороформ (50 ml x 4), промива се последователно с 3N H_2SO_4 (30 ml x 2), наситен разтвор на $NaHCO_3$ (30 ml x 3) и се суши ($MgSO_4$). След отстраняване на разтворителя се получава съединение (9) като сироп (13 g).

Суровото съединение (9) се разтваря в 80 ml $HBr/AcOH$ (45 тегловно-обемни %) и се разбърква при стайна температура в продължение на 1,5 часа. Към тази смес се прибавя ледена оцетна киселина (50 ml) и полученият разтвор се разбърква при $0^\circ C$ и бавно се прибавя 34 ml вода като температурата се държи под $7^\circ C$. След това се разбърква при стайна температура в продължение на 1 час, излива се в 200 ml лед-вода, екстрахира се с хлороформ (50 ml x 5).

Обединените екстракти се промиват с наситен $NaHCO_3$, сушат се ($MgSO_4$). След отстраняване на разтворителя се получава сироп (13 g), който се разтваря в 40 ml безводен пиридин, разбърква се при $0^\circ C$. След това на капки се прибавя оцетен анхидрид (14 ml, 148,4 mmol). След като завърши взаимодействието, се излива в 150 ml лед-вода, екстрахира се с хлороформ (50 ml x 4), промива се последователно с 3N H_2SO_4 (30 ml x 2), наситен разтвор на $NaHCO_3$ (50 ml x 2) и се суши ($MgSO_4$). След отстраняване на разтворителя и обработване с метанол се получава съединение (10) като бяло твърдо вещество (9,2 g, 53,7% от L-рибозата).

1,3,5-три-O-бензоил- α -L-рибофураноза (11)

Съединение (10) (9 g, 17,84 mmol) се разбърква в 100 ml CH_2Cl_2 при $0^\circ C$ и на една порция се прибавя 70 ml

2008

CH_2Cl_2 съдържащ HBr (3,2 g, 30,5 mmol). Сместа се разбърква при 0°C в продължение на 3,5 часа, прибавя се вода (55 ml) и сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 18 часа. Органичният слой се отделя, промива се с наситен разтвор на NaHCO_3 и се суши (MgSO_4). След изпаряване на разтворителя се получава пена, която се прекристализира из CH_2Cl_2 и норм-хексан, като се получава съединение (11) като бяло твърдо вещество (6,2 g, 75,5%), т. на топене $137-138^\circ\text{C}$, лит.т.т. $140-141^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D = -81,960$ (с 0,55, CHCl_3), D форма: $[\alpha]_D = +83,71$.

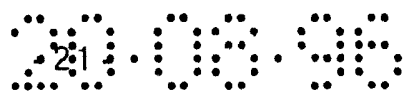
^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 7,312, 8,187 (m, 15H, OBz), 6,691 (d, $J=4,59$ Hz, H-1), 5,593 (dd, $J_{4-3}=6,66$ Hz, $J_{2-3}=1,8$ Hz, 1H, H-30), 4,637, 4,796 (m, 4H, H-2, H-4 и H-5), 2,3 (b, OH).

1,3,5-три-О-бензоил-2-О-имидазосулфурил-

α -L-рибофураноза (12)

Съединение (11) (5,94 g, 12,84 mmol) се разбърква в 50 ml безводен CH_2Cl_2 при -15°C (сух лед- CCl_4).

Последователно се прибавят диметилформаид (15 ml) и сулфурилхлорид (3,2 ml, 3,98 mmol). Разтворът се разбърква при -15°C в продължение на 30 минути и след това се оставя при стайна температура в продължение на 4 часа. Прибавя се имидазол (8,7 g, 12,78 mmol) на три порции при охлаждане на реакционната смес на баня от лед. След това се разбърква при стайна температура в продължение на 17 часа. Сместа след това се излива в 150 ml лед-вода и водната фаза се екстрахира с CH_2Cl_2 (50 ml x 3). Обединените органични слоеве се промиват с вода и се сушат (MgSO_4). След пречистване на колона (хексан:етилацетат/5:1 - 1:1) се



получава съединение (12) като бяло твърдо вещество (3,7 g, 49%). Т. на топене 124,5-125,5°C, лит.т.т. 129°C, $[\alpha]_D = -68,976$
D форма: +66,154.

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 6,9, 8,2 (m, 18H, Ar-H), 6,67 (d, $J=4,4$ Hz, 1H, H-1), 5,59 (dd, 1H, H-3), 5,21 (dd, 1H, H-2), 4,5, 4,8 (m, 3H, H-4 и H-5).

**1,3,5-три-О-бензоил-2-деокси-2-флуоро-
 α -L-арабинофураноза (13)**

Суспензия от съединение (12) (3,33 g, 5,62 mmol), KHF_2 (1,76 g, 22,56 mmol) в 30 ml 2,3-бутандиол се разбъркват под аргон. Сместа се нагрява до 150°C и се прибавя 1 ml $\text{HF}/\text{H}_2\text{O}$ (48%, 27,6 mmol) и сместа се разбърква при 160°C в продължение на 1,5 часа. Прибавя се солна лугалед, за да се спре реакцията и разтворът се екстрахира с метиленхлорид (50 ml x 4). Обединените екстракти се промиват с наситен разтвор на натриев хлорид, вода, наситен разтвор на NaHCO_3 , сушат се над безводен магнезиев сулфат и активен въглен (Darco-60). Пропуска се през слой силикагел (5 cm x 5 cm), промива се с метиленхлорид и след това с етилацетат като се получава сироп, от който се кристализира из 95% етанол съединение (13) (1,3 g, 49,8%). Т.на топене 77-78°C, лит.т.т. 82°C.

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 7,314, 8,146 (m, 15H, OBz), 6,757 ((d, $J=9,1$ Hz, 1H, H-1), 5,38 (d, $J=48,5$ Hz, 1H, H-2), 5,630 (dd, $J=22,5$ Hz, 1H, H-3), 4,768 (m, 3H, H-4 и H-5).

**N_9 -[3',5'-ди-О-бензоил-2'-деокси-2'-флуоро-
 β -L-арабинофуранозил]-2,6-дихлоропурин (15)**

Съединение (13) (464 mg, 1 mmol) се разтваря в 10

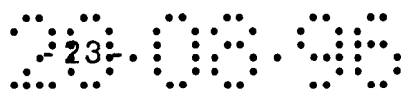
22.08.98

ml метиленхлорид и се прибавя 1,4 ml HBr/AcOH (45 тегловно-обемни %). Разтворът се разбърква при стайна температура в продължение на 24 часа и след това се изпарява до сухо. Остатъкът се разтваря в 20 ml метиленхлорид и се промива с вода, наситен разтвор на NaHCO_3 , суши се (MgSO_4). След филтриране и изпаряване се получава бромозахарта (14) (100% на база TCX).

В същото време, 2,6-дихлоропурин (378 mg, 2 mmol) се суспендира в 15 ml HMDS и 2 mg амониев сулфат и след това се нагрява под обратен хладник в продължение на 2 часа. HMDS се изпарява под висок вакуум под азот като се получава бяла силилирана основа.

Бромозахарта (14) се разтваря в 25 ml безводен 1,2-дихлороетан. Полученият разтвор се прибавя към силилираната основа под азот. Сместа се разбърква под обратен хладник в продължение на 2 дни. Прибавя се хлороформ (30 ml) и след това се промива последователно с вода (20 ml x 2), наситен разтвор на NaHCO_3 (20 ml x 2), наситен разтвор на натриев хлорид (20 ml x 2) и се суши (MgSO_4). Съединението (15) се кристализира из CHCl_3 (105 mg, 19,7%). Т.на топене 158°C , D форма: 158°C . УВ спектър(метанол): λ_{max} : 238,50 nm, 273,0 nm.

^1H -ЯМР (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8,82 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, H-8), 7,49, 8,33 (m, 10H, OBz), 6,767 (dd, $J_{\text{H-H}} = 4$ Hz, $K_{\text{F-H}} = 13,8$ Hz, 1H, H-1'), 5,854 (dq, $J = 67,4$ Hz, 1H, H-2'), 5,910 (m, 1H, H-3'), 4,751 (m, 3HG, H-4' и H-5').



**N₉[2'-деокси-2'-флуоро-β-L-арабинофуранозил]-
дихлоропурин (16)**

Съединение (15) (70 mg, 0,13 mmol) се разтваря в 25 ml наситен NH₃/CH₃OH в херметически затворена стоманена бутилка и се нагрява при 90°C в продължение на 6 часа. След отстраняване на разтворителя под намалено налягане се получава жълто полутвърдо вещество, което се пречиства чрез препаративна ТСХ (9:1/CHCl₃:CH₃OH). След лиофилизиране из вода и 1,4-диоксан се получава бяло прахообразно съединението (16) (30 mg, 75%). УВ спектър (H₂O) pH2, λ_{max} 213,50 nm, 263,00 nm (ε 7590), pH11, λ_{max} 213,5 nm, 263,00 nm (ε 5468).

¹H-ЯМР (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8,279 (d, J=1,5 Hz, 1H, H-8), 7,908 (bs, 2H, NH₂), 6,321 (dd, J_{H-H}=4,4 Hz, JF-H=13,8 Hz, 1H, H-1'), 5,986 (t, 1H, 5'-OH), 5,230 (dt, J_{F-H}=52,6 Hz, 1H, H-2'), 5,115 (d, 1H, 3'-OH), 4,425 (dq, J_{F-H}=19 Hz, 1H, H-3'), 3,841 (m, 1H, H-4'), 3,636 (d, 2H, H-5').

**N₁-(2'-деокси-2'-флуоро-3',5'-ди-O-бензил-
β-L-арабинофуранозил)тимин (17)**

Към разтвор на съединение (13) (400 mg, 0,86 mmol) в безводен CH₂Cl₂ (10 ml) се прибавя бромоводород в оцетна киселина (45 тегловно-обемни %, 1,5 ml) и полученият разтвор се разбърква при стайна температура в продължение на 17 часа. След изпаряване на разтворителя и изпаряване заедно с толуен, се получава съединение (14).

В същото време, тимин (215 mg, 1,72 mmol) се нагрява под обратен хладник в HMDS (25 ml) под азот в продължение на 17 часа, като се получава хомогенен разтвор.

След изпаряване на разтворителя се получава силилиран тимин.

Разтвор на съединение (14) в дихлоретан (50 ml) се прибавя към силилирания тимин и полученият разтвор се нагрява под обратен хладник под азот в продължение на 3 дни. Прибавя се вода и се екстрахира с CHCl_3 . Органичният слой се промива с вода, наситен разтвор на натриев хлорид и се суши (MgSO_4). След изпаряване на разтворителя се получава суров продукт, който се пречиства с препаративна ТСХ като се използва 2% $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ като се получава съединение (17) (235 mg, 58%). Т. на топене $99-101^\circ\text{C}$. УВ спектър (метанол): 230, 264 nm. $[\alpha]_D = +22,397$.

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 7,343-8,389 (m, 12H, Ar-H, NH), 6,34 (dd, $J_{\text{H-H}}=2,97$ Hz, $J_{\text{F-H}}=28,32$ Hz, 1H, H-1'), 5,383 (dd, $J_{\text{H-H}}=2,7$ Hz, $J_{\text{F-H}}=63,27$ Hz, 1H, H-2'), 5,565 (dd, 1H, H-3'), 4,812 (d, 2H, H-5'), 4,466 (m, 1H, H-4'), 1,775 (s, 3H, CH_3). Анализ ($\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_7\text{F}$), C 61,01, H 4,57, N 5,73, F 3,92.

N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)тимин (18)

Съединение (17) (145 mg, 0,309 mmol) се обработва с $\text{NH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ при стайна температура в продължение на 18 часа. След изпаряване на разтворителя и пречистване с препаративна ТСХ (15% $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$, се получава съединение (18) (70 mg, 87,5%). Т.на топене $174-175^\circ\text{C}$. УВ спектър 264 nm, $[\alpha]_D = -104,36$.

^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 11,401 (s, 1H, NH), 7,575 (s, 1H, H-6), 6,093 (dd, $J_{\text{H-H}}=4,41$ Hz, $J_{\text{F-H}}=15,6$ Hz, H-1'), 5,844 (d, 1H, 3'-OH), 5,019 (dt, $J_{\text{F-H}}=53,3$ Hz, 1H, H-2'), 5,087 (t, 1H, 5'-OH), 4,194 (dq, 1H, H-3'), 3,647 (m, 3H, H-4' и H-5'), 1,781

(s, 3H, CH₃). Анализ: (C₁₀H₁₃N₂FO₅), C 44,80, H 4,97, N 10,04, F 7,03.

**N₁-(2'-деокси-2'-флуоро-3',5'-ди-O-бензоил-
β-L-арабинофуранозил)-5-етилурацил (19)**

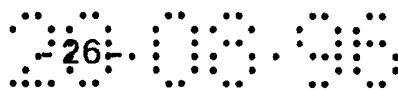
Към разтвор на съединение (13) в безводен дихлорметан (10 ml) се прибавя бромоводород в оцетна киселина (45 тегловно-обемни %, 0,97 ml, 5,385 mmol).

Разтворът се разбърква при стайна температура в продължение на 18 часа, след изпаряване на разтворителя и съвместно изпаряване с толуен се получава съединение (14).

В същото време, 5-етилурацил (0,75 g, 5,39 mmol) се суспендира в HMDS (10 ml) с амониев сулфат (5 mg) и се нагрява под обратен хладник в продължение на 5 часа под азот като се получава хомогенен разтвор.

Разтворът на силилираната основа се изпарява до сухо като се избягва контакт с влага. Към получения сироп се прибавя разтвор на съединение (14) в безводен 1,2-дихлоретан (10 ml). Реакционната смес се разбърква при 95°C под азот в продължение на 20 часа, след това се изпарява под вакуум до сухо като се получава жълто твърдо вещество, което се смесва с 5 ml CH₃OH/CHCl₃ (1:1) и се филтрира. Филтратът се изпарява като се получава остатък, който се хроматографира върху силикагелна колона (CH₃OH/CHCl₃, 0-1%) като се получава бяло твърдо вещество (19) (0,557 g, 100%).

¹H-ЯМР (CMSO-d₆): δ 11,55 (s, 1H, NH), 7,51, 8,08 (m, 10H, Ar-H), 7,32 (s, 1H, H-6), 6,29, 6,37 (dd, J_{H-H}=3,7 Hz, J_{F-H}=20 Hz, 1H, H-1'), 5,68-5,75 (dd, J_{F-H}=20 Hz, 1H, H-3'), 5,47-5,65 (dd, J_{F-H}=54 Hz, 1H, H-2'), 4,62-4,83 (m, 3H, H-4' и



H-5'), 2,01, 2,09 (q, 2H, CH_2CH_3), 0,85 (t, 3H, CH_3).

N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-етилурацил (20)

Съединение (19) (500 mg) се разтваря в метанолен разтвор на амониак (50 ml) и се разбърква при стайна температура в продължение на 44 часа. Разтворът се изпарява до сухо като се получава бяло твърдо вещество (0,4 g), което се хроматографира върху силикагелна колона, ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$, 0-5%) като се получава бяло твърдо вещество (20) (240 mg, 84%). Т.на топене 158-161°C. УВ (MeOH): λ_{max} 260 nm.

^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 11,42 (s, 1H, NH), 7,57 (s, 1H, H-6'), 6,10, 6,17 (dd, $J_{\text{H-H}}=5,0$ Hz, $J_{\text{F-H}}=14$ Hz, 1H, H-1'), 5,88 (bs, 1H, 3'-OH), 5,14, 5,19 (m, 2H, H-2' и 5'-OH), 4,98 (t, 1H, H-3'), 4,22, 4,28 (m, 1H, H-4'), 3,55, 3,78 (m, 2H, H-5'). Анализ ($\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_5\text{F}$): C 47,93, H 5,56, N 10,06, F 6,68.

N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро-3',5'-ди-О-бензоил- β -L-арабинофуранозил)- N^4 -бензоил-5-йодоцитозин (21)

Към разтвор на съединение (13) (150 mg, 0,323 mmol) в безводен метиленхлорид (5 ml) се прибавя бромоводород в оцетна киселина (45 тегловно-обемни %, 0,29 ml, 1,615 mmol). Реакционната смес се разбърква при стайна температура в продължение на 9,5 часа. След изпаряване на разтворителя и съвместно изпаряване с толуен, се получава съединение (15) като жълт сироп.

В същото време, N^4 -бензоил-5-йодоцитозин (550 mg, 1,615 mmol) се суспендира в HMDS (8 ml) с амониев сулфат (3 mg) и се нагрява под обратен хладник в

продължение на 5 часа под азот като се получава хомогенен разтвор.

Разтворът на силилираната основа се изпарява до сухо като се избягва контакт с влага. Към получения сироп се добавя разтвор на съединение (14) в безводен 1,2-дихлоретан (10 ml). Реакционната смес се нагрива под обратен хладник под азот в продължение на 23 часа, след което се изпарява до сухо като се получава кафяв сироп, който се обработва с хлороформ (30 ml). Получената утайка се филтрира и се промива с хлороформ. Филтратът и промивките се обединяват и изпаряват като се получава кафяв сироп. Сместа се разделя чрез хроматография върху силикагелна колона ($\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$, 0-1%) като се получава бяло твърдо вещество (21) (100 mg, 45%).

^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 11,40 (bs, 1H, NH), 7,26, 8,20 (m, 17H, Ar-H, H-6 и NH), 6,36, 6,44 (dd, $J_{\text{H-H}}=2,8$ Hz, $J_{\text{F-H}}=21$ Hz, 1H, H-1'), 5,62, 5,68 (dd, 1H, 3H, H-3'), 5,39, 5,56 (dd, 1H, H-2'), 4,58, 4,85 (m, 3H, H-4' и H-5').

N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-

арабинофуранозил)-5-йодоцитозин (22)

Съединение (21) (100 mg, 0,27 mmol) се обработва с наситен NH_3/MeOH (60 ml) при стайна температура в продължение на 24 часа. След силикагелна колонна хроматография (0-10% $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$ се получава съединение (22) (35 mg, 71%) като бяло твърдо вещество. $[\alpha]_{\text{D}}=-65,4$ (с 0,34, CH_3OH), УВ (MeOH): $\lambda_{\text{max}}=293$ nm.

^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 8,04 (s, 1H, H-6), 6,74, 7,94 (s, 1H, NH), 6,01, 6,08 (dd, $J_{\text{H-H}}=3,9$ Hz, $J_{\text{F-H}}=16,6$ Hz, 1H, H-1'), 5,85 (d, 1H, 3'-OH), 5,17 (t, 1H, 5'-OH), 5,08 (t, 1H, H-2'),

4,89 (t, 1H, H-3'), 4,15-4,23 (m, 1H, H-4'), 3,63-3,79 (m, 2H, H-5').

N₁-(2'-деокси-2'-флуоро-3',5'-ди-O-бензоил-β-L-арабинофуранозил)-5-йодоурацил (23)

Към разтвор на съединение (13) (260 mg, 0,56 mmol) в 10 ml безводен CH₂Cl₂ се прибавя HBr/AcOH (45 тегловно-обемни %, 0,5 ml, 2,8 mmol). Реакционната смес се разбърква при стайна температура в продължение на 36 часа и след това се изпарява до сухо. Остатъкът се разтваря в 20 ml CH₂Cl₂, промива се с вода (10 ml), наситен разтвор на NaHCO₃ (10 ml) и се суши (MgSO₄). След филтриране и изпаряване се получава бромозахар (14) като сироп.

В същото време, 5-йодурацил (270 mg, 1,12 mmol) се суспендира в 10 ml HMDS и се нагрива под обратен хладник в продължение на 36 часа като се получава хомогенен разтвор. Той се изпарява под вакуум до сухо. Към него се прибавя разтвор на съединението (14) в безводен 1,2- дихлоретан и полученият разтвор се нагрива под обратен хладник под азот в продължение на 1,5 дни. Прибавя се CHCl₃ (20 ml) и разтворът се промива последователно с вода (10 ml), наситен разтвор на натриев хлорид (10 ml) и наситен NaHCO₃ (10 ml) и след това се суши (MgSO₄). След отстраняване на разтворителя се получава сироп, който кристализира из CH₂Cl₂ като се получава съединение (23) като жълто твърдо вещество (237 mg, 73%). Част от него (70 mg) се прекристализира из 2-изопропанол като се получава бяло твърдо вещество (67 mg). УВ спектър (метанол): λ_{max} 230,0 nm, 276,0 nm.



^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 8,4, 7,3 (m, 12H, Ar-H), 6,29 (dd, $J_{\text{H-H}}=2,43$ Hz, $J_{\text{F-H}}=21,6$ Hz, 1H, H-1'), 5,377 (dd, $J_{\text{H-H}}=2,8$ Hz, $J_{\text{F-H}}=61,3$ Hz, 1H, H-2'), 5,55 (dd, 1H, H-3'), 4,865, 4,793 (d, 2H, H-5'), 4,588, 4,502 (m, 1H, H-4').

N_1 -(2'-деокси- β -L-арабинофуранозил)-

5-йодоурацил (24)

Съединение (23) (40 mg, 0,069 mmol) се разтваря в 25 ml наситен NH_3/MeOH и се разбърква при стайна температура в продължение на 24 часа и след това се изпарява до сухо. Полученият сироп се пречиства с препаративна ТСХ (5:1/ CHCl_3 :MeOH) като се получава съединение (24) като твърдо вещество (19 mg 74%). УВ спектър (MeOH): λ_{max} 280,5 nm.

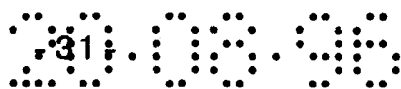
^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 11,82 (bs, CONH), 8,24 (s, 1H, H-6), 6,082 (dd, $J_{\text{H-H}}=4,45$ Hz, $J_{\text{F-H}}=13,7$ Hz, 1H, H-1'), 5,947 (d, 1H, 3'-OH), 5,296 (t, 1H, 5'-OH), 5,07 (dt, $J_{\text{F-H}}=53$ Hz, 1H, H-2'), 4,24 (bd, $J_{\text{F-H}}=21$ Hz, 1H, H-3'), 3,81, 3,55 (m, 3H, H-4', H-5').

2,3,5-три-О-бензил-L-арабиноза

Както е илюстрирано на фигура 9, 30 g (0,2 mol) прахообразна L-арабиноза (5) и след това 0,4 ml концентрирана сярна киселина се прибавят към 600 ml (14,8 mol) безводен метанол. Суспензията се разбърква и се нагрива леко под обратен хладник в продължение на 2 часа като се получава бистър разтвор. Реакционната смес се неутрализира с 1,5 g натриев хидрогенкарбонат, суши се (Na_2SO_4) и след това се изпарява под вакуум като се получава гъст сироп съединение (6), който се разрежда с 50 ml прясно пречистен тетраhydroфуран и се концентрира

отново (35-40°C баня) за отстраняване на останалия метанол.

Прибавя се прясно пречистен тетраhydroфуран (400 ml) и сместа се обработва с 30 g Drierite, 156 g (2,78 mol) калиев хидроксид и 200 ml (1,74 mol) бензилхлорид. Сместа се нагрива леко под обратен хладник една нощ, охлажда се, филтрира се през тънък слой Celite и се концентрира под вакуум и след това под висок вакуум и 100°C (баня). Суровият сиропообразен метил 2,3,5-три-О-бензил-L-арабинозид (7) се разтваря в 400 ml ледена оцетна киселина. Хидролизната смес се нагрива при 65-70°C в продължение на 2 часа, концентрира се под вакуум до една трета от обема и се излива в 2,5 L смес от лед и вода. След като се утаи (утаените кристали първоначално се получават чрез хроматография при елуиране с дихлорметан), сместа се пази една нощ при 5°C. Водният слой се декантира от частично кристалната маса и последната се разтваря в 200 ml дихлорметан. Разтворът се промива със студен, воден разтвор на натриев хидрогенкарбонат, суши се (Na_2SO_4), филтрира се през тънък слой обезцветен въглен и се концентрира под вакуум до слаб сироп, който се разтваря в 200 ml циклохексан. След като се утаи, разтворът се пази при стайна температура в продължение на 1 час и при 5°C една нощ като се получава 27,7 g (33,2%) 2,3,5-три-О-бензил- L-арабиноза (8). Т.на топене 68,73°C. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -1,69$ [с 2,01, 9:1 обемно съотношение р-диоксан-вода]. УВ спектър (метанол) λ_{max} 220 nm. 300 MHz ^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 3,48-3,62 ((m, 2H, H-5), 3,94-4,18 (m, 3H, H-2,3,4), 5,33 (d, 1H, J=4,07, H-1), 5,29 (s, H-1), 7,25-7,33 (m, 15, H-ароматен).



2,3,5-три-О-бензил-1-О-(р-нитробензоил)-

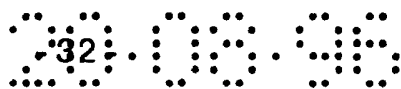
L-арабиноза (9)

Съединение (8) (фигура 9) (2 g, 4,76 mmol) се ратварят в 7,5 ml дихлорметан и към този разтвор се прибавя разтвор на 0,95 g (5,1 mmol) р-нитробензоилхлорид в смес от 5 ml дихлорметан и 1,5 ml пиридин. Реакционната смес се съхранява при стайна температура една нощ и след това се промива последователно с 1N солна киселина (2 x 10 ml), воден разтвор на натриев хидрогенкарбонат (2 x 10 ml) и вода (3 x 30 ml). Влагата се отстранява с Na_2SO_4 и разтворът се концентрира под вакуум като се получава 2,67 g (98,4%) смес от аномери на съединение (9). Т. на топене 68-82°C. След пречистване с помощта на колонна хроматография върху силикагел (хексан:ацетон, 8:1), т. на топене се повишава до 89-93°C, $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = 13,04$ ($\text{C}_6,8$, CH_2Cl_2), УВ (метанол) λ_{max} 215,5 nm и 258,5 nm. 250 MHz ^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 3,54-3,69 (m, 2H, H-5), 4,06 (m, 1H, H-4'), 4,22 (m, 1H, H-3'), 4,33 (m, 1H, H-2'), 4,38-4,78 (m, 6H, бензил CH_2), 6,50 (d, 1H, $J=2,35$, H-1), 7,23-7,36 (m, 15H, H-ароматен на бензилната група), 8,01-8,25 (m, 4H, H-ароматен на нитробензоилната група).

10-(2,3,5-три-О-бензил- β -L-

арабинозил)тимин (12)

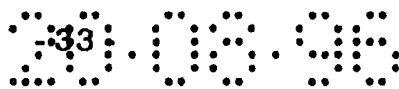
Тимин 0,444 g (3,52 mmol) и амониев сулфат (2 mg) се суспендира в хексаметилдисилазан 10 ml, и се нагрява под обратен хладник (140°C) една нощ под аргон до получаване на бистър разтвор. Излишъкът от хексаметилдисилазан се отстранява под вакуум като се пази от контакт с влагата. Получава се съединение (11) като сироп.



Съединение (9) (1 g, 1,76 mmol) се прибавя към 17 ml дихлорметан предварително наситен с хлороводород при 0°C. След два часа при 0°C утаената р-нитробензоена киселина (0,25 g) се отстранява чрез филтриране и филтратът се концентрира под вакуум като се получава слаб сироп и след това се държи под висок вакуум на помпа при стайна температура в продължение на 2 часа, при което се получава 2,3,5-три-О-бензил-α-L-арабинозилхлорид (10).

Така полученото съединение (10) се ратваря в 15 ml безводен дихлорметан и разтворът се прибавя към смес от силилиран тимин (11) и 3 g 4A молекулно сито. Реакционната смес се рабърква при стайна температура под арггон в продължение на 18 часа. Реакционната смес се разрежда с 50 ml дихлорметан и се излива в 2 ml наситен воден разтвор на NaHCO_3 при енергично разбъркване. Появява се бяла утайка (калаен хидроксид), която се филтрира през слой целит.

Органичният слой се отделя от водата и се промива с вода (3 x 30 ml). Водният слой се екстрахира с дихлорметан и обединените дихлорметанови слоеве се сушат над Na_2SO_4 и след това се изпаряват под вакуум като се получава сироп, който се пречиства посредством хроматография на силикагелна колона (хлороформ:метанол, 100:1). Получава се съединение (12) като сироп 0,68 g, 73%). $[\alpha]_D^{25} = -56,71$ (с 0,6 CH_2Cl_2). УВ (метанол) λ_{max} 218 nm и 265 nm. 300MHz ^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 1,67 (d, 3H, $J=1,11$, CH_3), 3,66-3,70 (m, 2H, H-5'), 4,06 (m, 1H, H-4'), 4,13 (t, 1H, $J=4,7$, H-3'), 4,24 (t, 1H, $J=4,7$, H-2'), 4,41, 4,54, 4,56 (m, 6H, бензилна CH_2), 6,28 (d, 1H, $J=5,24$, H-1'), 7,15-7,33 (m, 15H, H-ароматен), 7,43 (d, 1H, $J=1,31$, H-6).

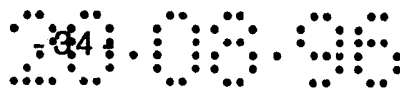


1-β-L-арабинофуранозилтимин (13)

Паладиев хлорид (680 mg, 3,835 mmol) се суспендира в 100 ml метанол и се редуцира при разклащане с водород при стайна температура. Разтвор от 450 mg съединение (12) в 25 ml метанол се прибавя към подкислена суспензия от паладиево черно. Реакционната смес се разклаща с водород при стайна температура в продължение на 38 часа. След отстраняване на катализатора разтворът се неутрализира с Dowex (HCO_3) до pH 7 и се концентрира под вакуум като се получава бяло твърдо вещество, което се прекристализира из етанол като се получава съединение (13) (105 mg, 47,7%). Т. на топене 244-249°C. $[\alpha]_D^{25} = -91,48$ (0,25, H_2O). ИЧ (KBr): 1750, 1600 cm^{-1} (CO). УВ (метанол): λ_{max} 268 nm. 300 MHz ^1H -ЯМР (DMSO-d_6): δ 1,76 (s, 3H, CH_3), 3,62 (t, 2H, $J=4,56$, H-5'), 3,69 (m, 1H, H-4'), 3,90 (t, 1H, $J=3,88$, H-3'), 3,99 (t, 1H, $J=4,10$, H-2'), 5,08 (br, s, 1H, C'5-OH, сменяем), 5,42 (d, 1H, $J=4,24$, C'2-OH или C'3-OH, сменяем), 5,54 (d, 1H, $J=5,23$, C'2-OH или C'3-OH, сменяем), 5,97 (d, 1H, $J=4,64$, H-1'), 7,51 (d, 1H, $J=0,97$, H-6), 11,26 (s, 1H, NH, сменяем). Анализ: Изчислено за $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_6$, C 46,51, H 5,46, N 10,85. Намерено: C 46,67 H 5,63 N 10,56.

1-(2,3,5-три-О-бензил-β-L-арабинозил)цитозин (15)

Цитозин 0,61 g (6 mmol) и амониев сулфат (2 mg) се суспендира в хексаметилдисилазан 15 ml и се нагрива под обратен хладник (140°C) под азот в продължение на 2 часа като се получава бистър разтвор. Сместа от силилиран цитозин се изпарява до сухо под вакуум като се пази от контакт с влага и се получава съединение (14) като сироп.



Съединение (9) (2,82 g, 5 mmol) се добавя към 47 ml сух дихлорметан предварително наситен с безводен хлороводород при 0°C. След 2 часа при 0°C утаената p-нитробензоена киселина (0,807 g) се отделя чрез филтриране и филтратът се концентрира под вакуум като се получава сироп от 2,3,5-три-О-бензил-α-L-арабинозилхлорид (10).

Така полученото съединение (10) се разтваря в 28,5 ml безводен дихлорметан и разтворът се прибавя към смес от силилиран цитозин (14) и 8,3 g 4A молекулно сито.

Реакционната смес се разбърква при стайна температура под азот в продължение на 5 дни. След това реакционната смес се разрежда с 50 ml дихлорметан и 20 ml вода и се излива в 2 ml наситен воден разтвор на NaHCO_3 при енергично разбъркване.

Появява се бяла утайка (калаен хидроксид), която се филтрира през слой целит. Органичният ¹ слой се отделя от водата и се промива с вода (3 x 30 ml). Водният слой се екстрахира с дихлорметан и обединените дихлорметанови слоеве се сушат върху Na_2SO_4 и след това се изпаряват под вакуум като се получава сироп, който се пречиства чрез

хроматография върху силикагелна колона (хлороформ: метанол, 96:4) като се получава съединение (15) като бяло твърдо вещество. След прекристализиране из 2-пропанол се получава 1,53 g (60%). Т. на топене 146-148°C, $[\alpha]_D^{25} = -105,2$ ($\text{C1 CH}_2\text{Cl}_2$), УВ (метанол): $\lambda_{\text{max}} 211,5 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{min}} 272,5 \text{ nm}$, pH1, pH7, $\lambda_{\text{max}} 211,5 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{min}} 284 \text{ nm}$, pH9. 300 MHz ^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 3,65 (d, 2H, J=4,85, H-5'), 4,00 (t, 1H, J=3,72, H-3'), 4,11 (m, 1H, H-4'), 4,28 (m, 1H, H-2'), 4,38-4,55 (m, 6H, бензилни CH_2), 5,56 (d, 1H, J=7,5, H-5), 6,39 (d, 1H, J=4,59, H-1'), 7,12-7,31 (m, 15H, H-ароматен), 7,63 (d, 1H, J=7,5, H-6).

1- β -L-арабинофуранозилцитозин хидрохлорид (16)

чрез каталитично хидрогениране на съединение (15)

Паладиев хлорид (315 mg, 1,78 mmol) се суспендира в 160 ml метанол и се редуцира чрез разклащане с водород при стайна температура. Към подкислената суспензия от паладиево черно след това се прибавя разтвор от 300 mg съединение (15) в 54 ml метанол. Реакционната смес се разклаща с водород при стайна температура в продължение на 3 часа. След отстраняване на катализатора разтворът се неутрализира с Dowex (HCO_3), концентрира се под вакуум и след това се пречиства чрез препаративна ТСХ ($\text{MeOH}:\text{CHCl}_3$ 3:5) като се получава сироп. Този сироп се разтваря в 3 ml метанол, прибавя се 1% HCl разтвор в метанол до pH1, концентрира се до сухо и се обработва с 2-пропанол като се получава 36 mg (22,1%) съединение (16). Т. на топене 190-194°C, $[\alpha]_D^{25} = -115,47$ (C 0,07, H_2O). УВ (H_2O) λ_{max} 275 nm, pH7, λ_{max} 209,5 nm, 273 nm, pH11, λ_{max} 280 nm, pH1. 300 MHz ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): δ 3,61 (d, 2H, H-5'), 3,82 (m, 1H, H-4'), 3,93 (m, 1H, H-2' или H-3'), 4,04 (br s, 1H, H-2' или H-3'), 5,18 (br s, 1H, C5'-OH, сменяем), 5,61 (br s, 1H, C2'-OH или C3'-OH, сменяем), 5,67 (br s, 1H, C2'-OH или C3'-OH, сменяем), 6,00 (d, 1HH, $J=4,02$, H-1'), 6,01 (d, 1H, $J_{5,6}=7,8$, H-5), 7,92 (d, 1H, $J_{5,6}=7,8$, H-6), 8,49 (br s, 1H, NH, сменяем), 9,38 (br s, 1H, NH, сменяем).

1- β -L-арабинофуранозилцитозин хидрохлорид (16)

чрез обработване на съединение (15) с борен трихлорид

5 ml 1M борен трихлорид в дихлорметан се охлажда при -72°C (сух лед-ацетон). Разтвор на съединение (15) (180 mg, 0,351 mmol) в 3 ml дихлорметан се прибавя бавно към

разтвора на борен трихлорид. След общо реакционно време 2,75 часа охлаждащата баня се отстранява и разтворителят и газ се отстраняват под вакуум. Остатъкът се разтваря в студен дихлорметан (10 ml) и разтворът се изпарява до сухо (3 пъти, докато се получи остатък бяло твърдо вещество), прибавя се студен наситен разтвор на натриев хидрогенкарбонат да се коригира pH до 6-7. Сместа се разрежда с етанол, нагрява се до кипене, обработва се с въглен и се филтрира. Филтратът се изпарява до сухо до сироп, който се разтваря в 3 ml метанол, прибавя се 1% HCl ~~разтвор в метанол до pH 1, концентрира се до сухо и се~~ обработва с 2-пропанол като се получава съединение (16) (66 mg, 78,4%).

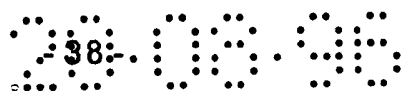
9-(2,3,5-три-О-бензил-β-L-арабинозил)аденин (18)

Напълно изсушено съединение (9) (5 g, 8,8 mmol) се прибавя към 82 ml дихлорметан предварително наситен с безводен хлороводород при 0°C. След 2 часа взаимодействие при 0°C, утаената p-нитробензоена киселина (1,53 g) се отстранява чрез филтриране и филтратът се концентрира под вакуум до сироп, който след това се съхранява при пълнен вакуум при стайна температура в продължение на 2 часа. Така полученият 2,3,5-три-О-бензил-α-L-арабинозилхлорид (10) се разтваря в 50 ml дихлорметан и разтворът се прибавя към смес от 4,5 g (18,8 mmol) сух N-бензоиладенин⁵ (17) и 14,5 g 4A молекулно сито. Реакционната смес се разбърква при стайна температура в продължение на 1 седмица, филтрира се през слой целит и се концентрира под вакуум до сироп, който се хроматографира върху силикагел като се използва хексан-ацетон (3:1, $R_f = 0,22$). Продуктът се отделя и

концентрира под вакуум до сироп, който се разтваря и разбърква с метанолен амоняк (20 ml) в неръждаема стоманена бутилка и се нагрива една нощ при 50-55°C. Разтворът след това се концентрира при намалено налягане като се получава полутвърдо вещество, което се прекристализира из затоплен изопропилов алкохол като се получава 2,4 g (50,7%) съединение (18). Т.на топене 128-129°C $[\alpha]_D^{27} = -20,04$ (с 1,04, CH₂Cl₂). УВ (CH₂Cl₂): $\lambda_{\max}$ 213 nm, 258,5 nm. 250 MHz ¹H-ЯМР (CDCl₃) δ 1,95 (br s, 1H, NH, сменяем), 3,69 (d, 2H, J=4,82, H-5'), 4,18-4,30 (m, 6H, бензилни CH₂), 4,51-4,64 (m, 3H, H-2',3',4'), 5,73 (br s, 1H, NH, сменяем), 6,52 (d, 1H, J=4,00, H-1'), 6,89-6,93, 7,17-7,37 (m, 15H, H-ароматни от бензилната група), 8,17 (s, 1H, H-2 или H-3), 8,32 (s, 1H, H-2 или H-8).

9- β -L-арабинофуранозиладенин (19)

Борен трихлорид (5 ml 1M) в дихлорметан се охлажда при -72°C (сух лед-ацетон). Разтвор на съединение (18) (150 mg, 0,279 mmol) в 5 ml дихлорметан се прибавя бавно към разтвора на борния трихлорид. След общо реакционно време от 3,5 часа, охлаждащата баня се отстранява и разтворителят и газ се отделят под вакуум. Остатъкът се разтваря в студен дихлорметан (10 ml) и разтворът се изпарява до сухо (6 пъти докато се получи остатък жълто твърдо вещество). Прибавя се студен наситен разтвор на натриев хидрогенкарбонат да се коригира pH на 7-8. Сместа се разрежда с етанол, нагрива се до кипене, суспензията се филтрира през целит, филтратът се концентрира под вакуум до сироп, който кристализира из вода. Получават се 55 mg (74%) от съединение (19). Т. на



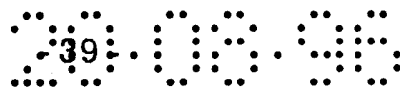
топене 256-258°C, УВ (H₂O): $\lambda_{\max}$ 259 nm. 300 MHz ¹H-ЯМР (DMSO-d₆): δ 3,62-3,66 (m, 2H, H-5'), 3,77 (br s, 1H, H-4'), 4,13 (br s, 2H, H-2', 3'), 5,12 (t, 1H, J=5,4, C'5-OH, сменяем), 5,54 (d, 1H, J=3,78, C'2-OH или C'3-OH, сменяем), 5,63 (d, 1H, J=4,32, C'2-OH или C'3-OH, сменяем), 6,25 (d, 1H, J=4,02, H-1'), 7,25 (br s, 2H, NH₂, сменяем), 8,13 (s, 1H, H-2 или H-8), 8,18 (s, 1H, H-2 или H-8).

Фигура 10 е илюстрация на алтернативен начин за получаване на 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил- β -L-рибофураноза (съединение 10) от 1,2-ди-О-изопропилиден- α -L-ксилофураноза (съединение 3).

1,2-ди-О-изопропилиден- α -L-ксилофураноза (3)

Към 650 ml безводен ацетон се прибавя 4 ml концентрирана сярна киселина, 5 g молекулно сито (4A), 80 g безводен куприсулфат и 40 g L-ксилоза. Сместа се разбърква при стайна температура в продължение на 36 часа.

Реакционната смес след това се филтрира и се промива изчерпателно с ацетон, обединените филтрати се неутрализират с амониев хидроксид и след това се изпаряват до сухо. Прибавя се етилацетат (200 ml) и след това се филтрира и изпарява като се получава масло, което се разтваря в 250 ml 0,2% HCl разтвор и се разбърква при стайна температура в продължение на 2,5 часа. Стойността на pH се коригира до 8 с наситен разтвор на NaHCO₃ и след това се изпарява до сухо. Остатъкът се екстрахира с етилацетат. След отстраняване на разтворителя се получава жълто масло от съединение (3) (41,7 g, 82,3%). ¹H-ЯМР (CDCl₃): δ 5,979 (d, J=3,78 Hz, 1H, H-1), 4,519 (d, J=3,6 Hz, 1H, H-2), 4,308 (bd,



1H, H-3), 4,080 (m, 3H, H-4 и H-5), 1,321 (s, 3H, CH₃), 1,253 (s, 3H, CH₃).

5-О-бензоил-1,2-ди-О-изопропилиден-α-L-ксилофураноза (25)

Съединение (3) (41 g, 215,6 mmol) се разбърква в пиридин (150 ml) и CH₂Cl₂ (150 ml) при 0°C. На капки се прибавя BzCl (27,5 ml, 237 mmol) разтворен в 30 ml пиридин. След 30 минути се прибавя вода (5 ml) и сместа се изпарява до сухо, разтваря се в етилацетат, промива се с наситен разтвор на NaHCO₃ и след това се суши (Na₂SO₄). След изпаряване на разтворителя се получава оранжев сироп, който кристализира из Et₂O като се получава съединение (20) (36 g). Матерната луга се изпарява до сухо и остатъкът се пречиства чрез хроматография върху силикагелна колона (1% CH₃OH/CHCl₃) като се получава друго количество съединение (25) (12 g, общо добив 76%). Т. на топене 82-83°C, лит.т.т. D форма 83,5-84,5°C. ¹H-ЯМР (CDCl₃): δ 7,43, 8,07 (m, 5H, Ar-H), 5,97 (d, 1H, J=3,6 Hz, H-1), 4,80 (q, 1H, H-4), 4,60 (d, 1H, J=3,6 Hz, H-2), 4,40, 4,20 (m, 3H, H-5, H-5', H-3), 3,50 (b s, 1H, D₂O разменя, 3OH), 1,51, 1,32 (2s, 6H, 2CH₃).

5-О-бензоил-1,2-ди-О-изопропилиден-α-L-еритро-пентофураноз-3-улоза (26)

Съединение (25) (40 g, 136 mmol) се разбърква в 450 ml CH₂Cl₂. Към него се прибавя пиридиниев дихромат (PDC, 30,7 g, 81,6 mmol) и Ac₂O (42,3 ml, 448,8 mmol). Разтворът се концентрира до 1/5 от неговия първоначален обем и след това се прибавя етилацетат (50 ml) и разтворът се филтрира. Филтратът се пропуска през слой силикагел (10 cm x 5 cm), елуира се с етилацетат, обединените елуати се

концентрират и изпаряват заедно с толеун (50 ml x 2). След кристализация из хексан и етилацетат се получава съединение (21) като бяло твърдо вещество (38 g, 96%). Т.на топене 91-93°C, $[\alpha]_D = -132^\circ$ (с, 1,0, CHCl_3), лит.т.т. D форма 93-94,5°C, $[\alpha]_D = +135^\circ$ (с, 1,0, CHCl_3). ИЧ (KBr): 1773 cm^{-1} (ArCO), 1731 cm^{-1} (CO). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 7,97, 7,42 (m, 5H, Ar-H), 6,14 (d, 1H, $J=4,4 \text{ Hz}$, H-1), 4,74, 4,68 (m, 2H, H-4, H-2), 4,50, 4,44 (m, 2H, H-5-, H-5'), 1,52, 1,44 (2s, 6H, 2CH_3). Анализ: Изчислено за $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_6$: C 61,64, H 5,52, намерено: C 61,42, H 5,53.

1,2-ди-О-изопропилиден- α -L-рибофураноза (27)

Съединение (26) (37 g, 127 mmol) се разтваря в етанол/вода (400 ml/100 ml) при 0°C и на порции се прибавя NaBH_4 (23,3 g, 612 mmol). Суспензията се разбърква при стайна температура в продължение на 4 часа. Филтрира се и филтратът се изпарява до сухо и след това се изпарява заедно с метанол. След хроматография върху силикагелна колона (0-15% $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) и кристализация из EtOH/хексан, съединение (27) се получава като бели игли (19 g, 79%). Т.на топене 86-87°C, $[\alpha]_D = -31,5^\circ$ (с, 0,62, CHCl_3), лит.т.т D форма 86-87°C, $[\alpha]_D = +37^\circ$ (с, 0,59, CHCl_3). ИЧ (KBr): 3356 cm^{-1} (OH). ^1H -ЯМР (CDCl_3) δ 5,83 (d, 1H, $J=3,98 \text{ Hz}$, H-1), 4,595 (t, 1H, H-2), 4,055, 3,72 (m, 4H, H-3, H-4, H-5, H-5'), 2,38 (d, 1H, D_2O разменя, 3-OH), 1,83 (t, 1H, D_2O разменя, 5-OH), 1,58, 1,38 (2s, 6H, 2CH_3). Анализ: Изчислено за $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_5$: C 50,50, H 7,42, Намерено: C 50,62, H 7,46.

3,5-ди-О-беноил-1,2-ди-О-иопропилиден- α -L-рибофураноза (28)

Съединение (27) (19 g, 100 mmol) се разбърква в 300 ml пиридин при 0°C и на капки се прибавя BzCl (40 ml,

348 mmol) и след това се разбърква при стайна температура в продължение на 3 часа. Разтворителят се изпарява до сухо. Остатъкът се екстрахира с етилацетат, промива се с наситен разтвор на NaHCO_3 , суши се (Na_2SO_4), разтворителят се изпарява и се кристализира из етер като се получава съединение (28) като бяло твърдо вещество 39 g (98%). Т. на топене $83-85^\circ\text{C}$. ^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 8,07, 7,36 (m, 10H, Ar-H), 5,94 (d, 1H, $J=3,6$ Hz, H-1), 5,05, 5,00 (m, 1H, H-2), 4,73, 4,63 (m, 3H, H-4, H-5, H-5'), 1,58, 1,35 (2s, 6H, 2CH_3). Анализ: Изчислено за $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_7$: C 66,50, H 5,64. Намерено: C 66,32, H 5,57.

1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил- β -L-рибофураноза (31)

Съединение (28) (38 g, 95 mmol) се разбърква в 300 ml 1% $\text{HCl}/\text{CH}_3\text{OH}$ при стайна температура в продължение на 30 часа. Прибавя се пиридин (20 ml) и след това разтворът се изпарява до сухо. Остатъкът се изпарява заедно с пиридин (30 ml x 2) и след това се разтваря в 100 ml безводен пиридин при 0°C и на капки се прибавя BzCl (17 ml, 146 mmol), след което се разбърква при стайна температура в продължение на 3 часа. Разтворителят се изпарява и остатъкът се разтваря в етилацетат, промива се с 0,5 N HCl и след това с наситен разтвор на NaHCO_3 и се суши (Na_2SO_4). След изпаряване на разтворителя се получава сурово съединение (30) като сироп.

Суровото съединение (30) се разбърква в ледена оцетна киселина (400 ml) и след това Ac_2O (100 ml) при 0°C и на капки се прибавя конц. H_2SO_4 (10 ml). Разтворът се разбърква при стайна температура една нощ. Сместа се излива в лед-вода, екстрахира се с CHCl_3 , неутрализира се с

наситен разтвор на NaHCO_3 и след това се суши (Na_2SO_4).

След изпаряване на разтворителя се получава леко жълт сироп, от който из метанол кристализира съединение (31) като бяло твърдо вещество 23,89 g (49,6%, спрямо 28-31). Т. на топене $124,7^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D=45,613$ (с 1,0, CHCl_3), лит.т.т. $129-130^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D=-43,6$ (с 1,0, CHCl_3). ^1H -ЯМР (CDCl_3): δ 7,317, 8,134 (m, 15H, OBz), 6,437 (s, 1H, H-1), 5,835 (m, 2H, H-2 и H-3), 4,649 (m, 3H, H-4 и H-5), 2,003 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{COO-}$).

II. Биологична активност

Съединенията описани тук могат да се оценят за активност срещу HBV и EBV както е описано подробно по-долу или по други известни на специалистите от областта методи.

ПРИМЕР 1 Биологична активност спрямо HBV

В опита се използват човешки хепатомни клетки с HBV (2.2.15 клетки). Тези клетки нарастват до сливане в минимална есенциална среда с 10% серум от говежди зародиш. Средата се сменя на интервали от 3 дни.

Третирането с лекарственото средство започва при сливането и след това продължава три дни. Друга добавка на същата концентрация от лекарственото средство се прилага в момента след отстраняване на средата от културата и културата се поддържа в продължение на допълнителен период от 3 дни. След 6 дни третиране средата се събира и вирусните частици се утаяват с помощта на полиетиленгликоловия метод. След това частиците се смилат и се подлагат на анализ по Southern. Блотовете се хибридизират до HBV специфична проба и вирусните ДНК количества се определят в сравнение с количеството ДНК от културите, които не са третирани с лекарствените средства.

Геномните ДНК се смилат с Hind III и се подлагат на Southern анали. Количеството на епизомалната ДНК се определя в сравнение с интегрираната HBV ДНК. Изчислява се концентрацията на лекарственото средство, която причинява 50% инхибиране на ДНК (ID_{50}) в сравнение с контролите. Резултатите са сумирани в таблица 1.

Таблица 1

Инхибиране на HBV посредством L-нуклеозиди

Съединение	Анти-HBV активност ID_{50} μM	MT2 CD_{50} μM	CEM CD_{50}	CD_{50} μM H1 клетки
L-FMAU	0,1	100	>100	1000
D-FMAU	2,0	8-9	10	50
D-FEAU	5,0	100	90	2000
L-FEAU	>5,0	100	>100	900

r

Пример 2. Биологична активност спрямо EBV

H1 клетки се държат при дългофазов растеж в продължение на два дни непосредствено преди началото на третиране. Клетките се центрофугират при 600 g в продължение на 10 минути при стайна температура, за да се отделят от средата съдържаща съществуващи преди това вирусни частици. С H1 клетките се прави посевка в 24 ямкови плочи при плътност от 1×10^5 клетки за ямка в 2 ml прясна среда със или без лекарствено средство и се инкубира при $37^{\circ}C$ в продължение на 5 дни. Средата съдържаща вироспорите се събира и се използва за оценяване на инхибиторния ефект на лекарствените средства върху продуцирането на вируси и способността да инфектират като се използва биоанализ. Вироспорите се гранулират от

свободната от клетки среда чрез центрофугиране при 45 000 rpm в продължение на 90 минути в SW-50 Ti ротор (Beckman). Вироспорите се суспендират отново в 1 ml растерна среда и след това се използват да се инфектира 1×10^6 Raji клетки в продължение на 48 часа. Тъй като нивото на EBV DP активността в Raji клетките след суперинфекцията е пропорционално на броя на добавените вироспори, индуцираната EBV специфична DP активност е възможно да бъде измерена. Инхибиторният ефект на лекарственото средство се изчислява при сравняване на EBV DP активността спрямо контролни проби с многократно разреждане. Не се наблюдава никакво инхибиране съдържанието на митохондриална ДНК в H1 клетките, когато клетките се третират с 1 mM L-FMAU в продължение на 6 дни.

Слот-блот анализ. Количеството на митохондриална ДНК се измерва посредством слот-блот метода (2). Третирани или нетретирани 2×10^5 H1 клетки се лизират в 200 μ L разтвор от 10 mM трис.HCl (pH 7,5) по метода на замразяване/размразяване. Клетъчният лизат се третира с 10 μ g/ml RNase A при 37°C в продължение на 30 минути и след това с протеиназа K (100 μ g/ml) при 55°C в продължение на 2 часа. Прибавя се еквивалентно количество от 20 X SSC буфер към всеки клетъчен лизат. След кипене в продължение на 10 минути, пробите се нанасят върху найлонова мембрана (Hybond-N, Amersham Cor.). Радиобелязан човешки митохондриален ДНК фрагмент се използва като проба за ДНК хибридизация. Със същите мембрани се прави отново проба с човешка Alu ДНК след отстраняване на митохондриалната ДНК проба. Количеството на

митохондриалната ДНК в третирани и нетретирани H1 клетки се определя чрез денситометър (LKB Ultrosan XL).

Резултатите са дадени на таблица 2.

Таблица 2

Лекарствено средство	CD ₅₀ (μM)	ID ₉₀ (μM)	Терапевтичен индекс (CD ₅₀ /ID ₉₀)
PFA	1200±100	75±5	16
DHPG	75±6	5±1	15
ACV	1000±75	50±8	20
PCV	500±55	20±2	25
L-FMAU	1000±80	5±0,8	200
D-FMAU	50±10	0,1±0,02	50
L-FEAU	900±70	60±11	15
D-FEAU	2000±80	1±0,05	2000
L-FIAC	400±35	<1b	>40
D-FIAC	125±15	5±0,5	25
L-FIAU	240±20	20±4	12
D-FIAU	20±4	0,5±0,05	40

Инхибиторен ефект на съединенията спрямо EBV: CD₅₀ се определя чрез излагане на H1 клетки на различни концентрации от съединенията в нормална растежна среда при 37°C в продължение на 72 часа, след това клетките се изброяват и сравняват с контролите. H1 клетките се третират в продължение на 5 дни и чрез биоанализ се определя ID₉₀.

Пример 3. Клиранс на L-(-)-FMAU

от плазма и черен дроб

Оценява се клирансът на L-(-)-FMAU от плазма и черен дроб на мишка след орално прилагане. Мишката се инжектира с L-(-)-FMAU, който е белязан с тритий (радиоспецифичност от 9,3 $\mu\text{mol}/\mu\text{Ci}$).

Фигура 11 е графика на плазмената концентрация на L-(-)-FMAU у мишки след орално приложение спрямо времето, а фигура 12 е графика на концентрацията на L-(-)-FMAU у миши черен дроб след орално прилагане спрямо времето (кръст, 10 mg/kg прилагани bid (два пъти дневно) за 30 дни непосредствено преди фармакокинетичното изследване и след това изследване проведено на 30-ия ден от прилагането на същата концентрация, черно кръгче, 50 mg/kg прилагани два пъти дневно в продължение на 30 дни непосредствено преди изследването и след това изследване проведено на 30-ия ден от прилагането на същата концентрация, празно кръгче, 50 mg/kg приложени за пръв път в първия ден от изследването).

За отбелязаното време (виж фигура 10 и 11) от мишките се взема кръв от техния ретро-орбиталния синус като се използват хепаринизирани капилляри. Плазмата се екстрахира с трихлороцетна киселина и се неутрализира с фреон/ триоктиламин. Супернатантата се изчислява директно и се пресмята концентрацията. Както е показано на фигури 10 и 11, пиковата концентрация на L-(-)-FMAU в плазмата и черния дроб се среща приблизително един час. Съединението по същество е елиминирано както от плазмата така и от черния дроб след четири часа.

Пример 4. Токсичност на L-(-)-FMAU

в BDF1 женски мишки

Фигура 13а показва изменението на телесното тегло за период от 30 дни на контролни BDF1 женски мишки. Фигури 13b и 13c илюстрират изменението на телесното тегло за период от 30 дни на BDF1 женски мишки постигнато с 10 mg/kg (13b) и 50 mg/kg (13c) два пъти дневно L-(-)-FMAU. Това телесно тегло представлява средното и стандартно отклонение за него при пет от седем мишки. Както е показано на фигури 13b и 13c, L-(-)-FMAU не изглежда да влияе съществено на теглото на мишките за 30 дни, докато съединенията се понасят добре.

Пример 5. Клинична химия на миша плазма

след третиране с L-(-)-FMAU

Фигури 14-20 представляват клиничната химия на миша плазма след прилагане на L-(-)-FMAU от 10 mg/kg (три мишки) или 50 mg/kg (три мишки) два пъти дневно в продължение на 30 дни.

Фигура 14 е хистограма на концентрацията на общия билирубин в мишата плазма в mg/dL. Фигура 15 е хистограма на концентрацията на алкална фосфатаза в миша плазма в U/L. Общият билирубин и алкалната фосфатаза са индикатори на функцията на черния дроб. Стойностите на тези показатели при мишките за билирубина попада в нормалните граници за хората (по-малко от 1,2 mg/dL), но този за алкалната фосфатаза е малко по-висок от нормалното ниво за хората (30-114 U/L).

Фигура 16 е хистограма на концентрацията на креатинин в миша плазма в mg/dL. Креатининът е индекс за

функцията на бъбреците. С изключение на мишка 50-2, нивата на креатинина на третираните мишки не се различават от тези на контролните мишки.

Фигура 17 е хистограма на концентрацията на AST (SGOT, серумна глутаминооксалова трансминаза) в миша плазма в U/L. Фигура 18 е хистограма на концентрацията на ALT (SGPT, серумна глутаминопирогроздена трансминаза) в миша плазма в U/L. SGOT и SGPT са индикатори за функцията на черния дроб. С изключение на мишка 50-2 (както за SGOT така и за SGPT) и мишка 10-2 (само за SGOT), нивата на ензима в третираните мишки не се различава от тези на контролните мишки.

Фигура 19 е хистограма на концентрацията на млечна киселина в миша плазма в mmol/L. Фигура 20 е хистограма на концентрацията на млечна дехидрогеназа в миша плазма в U/L. Млечната киселина се образува в мускулите по време на гликолиза. Млечна дехидрогеназа (LDH) се намира като различни изоензими в различни тъкани. Установяването на LDH в плазма може да бъде индикатор за увреждане на тъкани. Нивата на млечна киселина и млечна дехидрогеназа в третираните мишки не се различават съществено от тези на контролните мишки.

III. Олигонуклеотиди

Олигонуклеотиди с желана последователност могат да се модифицират чрез заместване на нуклеозида в олигонуклеотида с един или повече L-нуклеозиди описани тук. В предпочитано изпълнение L-нуклеозидът се поставя в единия край на олигонуклеотида. Модифицираният олигонуклеотид може да се използва, например, в

технологията на десенсибилизиране.

Технологията на десенсибилизиране се отнася най-общо до модулиране на генната експресия посредством метод, в който синтетичен олигонуклеотид се хибридизира до комплементарна последователност на нуклеинова киселина за инхибиране на транскрипцията или репликацията (ако последователността-мишена е ДНК), за инхибиране транслацията (ако последователността-мишена е РНК) или за инхибиране обработката (ако последователността-мишена е пре-РНК). Като се използва тази техника могат да се модулират голямо разнообразие от клетъчни активности.

Конкретен пример е инхибиране на биосинтезата на протеин посредством десенсибилизиране на олигонуклеотидната връзка към mРНК. Съгласно друго изпълнение, синтетичен олигонуклеотид се хибридизира до специфична генна последователност в двуверижната ДНК, образувайки троен двуверижен комплекс (триплекс), който инхибира експресията на тази генна последователност. Десенсибилизиращите олигонуклеотиди могат да се използват също така и за индиректно активиране на генната експресия чрез супресия на биосинтезата на природен репресор. АОТ може да се използва за инхибиране на експресията на патогенни гени, например тези, които улесняват репликацията на вирусите, включително вируса на човешка имунонедостатъчност (HIV), хепатит-В вируса (HBV) и херпесвирусите и рак, по-специално твърди туморни маси като глиома, рак на гърдата и меланоми.

Стабилността на избраните олигонуклеотиди спрямо нуклеози е важен фактор за прилагането in vivo. Известно е,

че 3'-екзонуклеазната активност е причина за по-голямата част от немодифицираното десенсибилизирано разграждане на олигонуклеотида в серума. Vlassov, V.V., Yakubov, L.A., Prospects for Antisense Nucleic Acid Therapy of Cancers and AIDS, 1991, 243-266, Wiley-Liss, Inc., New York, Nucleic Acids Res., 1993, 21, 145. Съгласно едно изпълнение, описаните съгласно изобретението L-нуклеозиди могат да се използват за свеждане до минимум разлагането с 3'-екзонуклеаза на десенсибилизиращи олигонуклеотиди.

Олигонуклеотидите съгласно настоящото изобретение, които са способни да свързват с полирибонуклеинова киселина или полидеоксирибонуклеинова киселина са полезни като десенсибилизиращи средства по същия начин както конвенционалните десенсибилизиращи средства. Виж най-общо Antisense Molecular Biology and S-oligos, Synthesis 1 (Oct.1988) (публикувана чрез Synthecell Corp., Rockville, Md.), 2 Discoveries in Antisense Nucleic Acids (C.Brakel and R.Fraley eds. 1989), Uhlmann, et al., "Antisense oligonucleotides: A new Therapeutic Technique", Chem.Rev. 90(4), 1990 и Milligan, J.F., Matteucci, M.D., Martin, J.C., J.Med.Chem., 1993, 36, 1923-1937. Десенсибилизиращите средства съгласно настоящото изобретение могат да се използват чрез структуриране на десенсибилизиращо средство, които са способни на селективно свързване на предварително определена последователност на полидехидроксирибонуклеинова киселина или последователност на полирибонуклеинова киселина към клетки съдържащи такава последователност (напр. чрез прибавяне на десенсибилизиращо средство към културалната

среда съдържаща клетката) така че десенсибилизиращото средство се въвежда в клетката, свързва се с предварително определената последователност и блокира тяхната транскрипция, транслация или репликация. Изискванията за селективно свързване на десенсибилизиращото средство са известни (напр. дължина от 17 основи за селективно свързване с човешкия геном).

IV. Получаване на фармацевтични състави

Съединенията съгласно изобретението и техните фармацевтичноприемливи соли, пролекарства и производни са полезни за предотвратяване и третиране на HBV и EBV инфекции и други свързани с тях състояния като анти-HBV или анти-EBV антитяло позитивни и HBV- или EBV-позитивни състояния, хронични чернодробни възпаления причинени от HBV, цирози, остър хепатит, внезапен хепатит и умора. Тези съединения или препарати за прилагане могат също да се използват профилактично за предотвратяване или забавяне прогресирането на заболяването в индивиди, които са анти-HBV анти-EBV антитяло или HBV- или EBV-антиген позитивни или които са изложени на HBV или EBV.

Хора страдащи от такива състояния могат да се лекуват чрез прилагане към пациента на ефективно HBV или EBV лечебно количество от едно активно съединение или смес от активни съединения описани тук или тяхно фармацевтично приемливо производно или сол, в даден случай заедно с фармацевтично приемлив носител или разредител. Активният продукт може да се прилага по който и да е подходящ начин, например орално, парентерално, венозно, интрадермално, подкожно или локално в твърда или

течна форма.

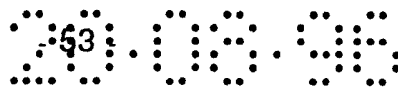
Активното съединение се включва във фармацевтично приемливия носител или разредител в количество достатъчно да достави на пациента терапевтично ефективно количество без да причини сериозни токсични ефекти у лекувания пациент.

Предпочитаната доза на активно съединение за всички горецитирани състояния е в границите от около 1 до 60 mg/kg, за предпочитане 1 до 20 mg/kg, телесно тегло на ден, в повечето случаи 0,1 до около 100 mg на килограм телесно тегло на пациент за ден. Границата на ефективната доза на фармацевтично приемливи производни може да се изчисли на база на теглото на основния нуклеозид, който трябва да се освободи. Ако производното само по себе си притежава активност, ефективната доза може да се пресметне както по-горе, като се използва теглото на производното или по други известни на специалистите от областта начини.

Съгласно едно изпълнение, активното съединение се прилага както е описано за продуктите или Physician Desk Reference за 3'-азидо-3'-деокситимидин (AZT), 2',3'-дидеоксинозин (DDI), 2',3'-дидеоксицитидин (DDC) или 2',3'-дидеокси-2',3'-дидехидротимидин (D4T) за HIV инфекция.

Съединението обикновено се прилага в каквато и да е подходяща стандартна дозирана форма, включително, но не само такава, съдържаща 7 до 3000 mg, за предпочитане 70 до 1400 mg активен компонент за единица дозирана форма. Обикновено е подходяща орална доза от 50-1000 mg.

Активният компонент трябва да се прилага до достигане на плазмена концентрация на активно съединение



от около 0,2 до 70 μM , за предпочитане около 1,0 до 10 μM .

Това може да се достигне например , чрез венозно инжектиране на 0,1 до 5%-ен разтвор на активен компонент, в даден случай във физиологичен разтвор или чрез прилагане като болуси на активния компонент.

Активното съединение може да се осигури във форма на фармацевтично приемливи соли. Както е използван тук, терминът фармацевтично приемливи соли или комплекси се отнася до соли или комплекси на нуклеозидите, които запазват желаната биологична активност на основните съединения и притежават минимални, ако има такива, нежелани токсикологични ефекти. Неограничаващи примери за такива соли са (а) присъединителни с киселина соли образувани с неорганични киселини (например солна, бромоводородна, сярна, фосфорна, азотна и подобни) и соли образувани с оргонични киселини като оцетна киселина, оксалова киселина, винена киселина, янтарна киселина, малеинова киселина, аскорбинова киселина, бензоена киселина, танин, памоева киселина, аягинова киселина, полиглутаминова киселина, нафталенсулфонови киселини, нафталендисулфонови киселини и полигалактуронова киселина, (б) присъединителни с основи соли образувани с катиони като натриеви, калиеви, цинкови, калциеви, бисмутови, бариеви,магнезиеви, алуминиеви, медни, кобалтови, никелови, кадмиеви и подобни или с органични катиони получени от N,N-дибензилетилендиамин, амоняк или етилендиамин или (с) комбинации на (а) и (б), например цинков танат или подобни соли.

Модификации на активното съединение, особено

при N⁶ или N⁴ и 5'-О-местата, могат да променят биологичната достъпност и степента на метаболизъм на активните компоненти, като по този начин се осигурява контрол върху освобождаването на активните компоненти.

Концентрацията на активното съединение в състава на лекарственото средство зависи от абсорбцията, инактивирането и скоростта на отделянето на лекарственото средство, както и от други фактори известни на специалистите от областта. Трябва да се отбележи, че стойностите на дозите зависят също от тежестта на състоянието, което трябва да се облекчи. Освен това е ясно, че за всеки отделен субект трябва да се приспособят конкретни схеми за приемане на лекарственото средство за период съгласно индивидуалната необходимост и професионалната преценка на човека прилагащ или упражняващ контрол върху прилагането на съставите и че границите на концентрациите посочени по-горе са само примерни и не са предназначени да ограничат обхвата или лечебната практика на претендиращия състав. Активният компонент може да се прилага наведнъж или може да се раздели на брой по-малки дози за прилагане при различни интервали от време.

Предпочитаният начин за прилагане на активното съединение е оралният. Оралните състави най-общо включват инертен разредител или ядивен носител. Те могат да се съдържат в желатинови капсули или да се пресоват на таблетки. За целите на орално терапевтично приложение активното съединение може да се включи с пълнител и да се използва под формата на таблетки, пасти или капсули.

Фармацевтично съвместими свързващи средства и/или помощни материали могат да се включат като част от състава.

Таблети, пилули, капсули, пасти и подобни могат да съдържат някое от следните компоненти или съединения с подобна природа: свързващо средство като микрокристална целулоза, гума трагаканта или желатин, пълнители като нишесте или лактоза, дезинтегриращи средства като алгинова киселина, Primogel или царевично нишесте, лубриканти като магнезиев стеарат или Sterotes, хлъзгащи средства като колоиден силициев диоксид, подсладители като захароза или захарин или вкусови средства като мента, метил салицилат или портокал. Когато дозираната единица е под формата на капсула, тя може да съдържа освен компонентите от горния вид, течен носител като мазнина. Освен това формите от дозирани единици могат да съдържат различни други материали, което променят физическата форма на дозираната единица, например, покритие от захар, шеллак или други ентерални средства.

Активното съединение или негово фармацевтично приемливо производно или сол може да се прилага като компонент на еликсир, суспензия, сироп, вода, дъвка и подобни. Сиропите могат да съдържат освен активните съединения, захароза като подслаждащо средство и някакви консерванти, багрила или оцветители и вкусови средства.

Активното съединение или негово фармацевтично приемливо производно или сол може също така да се смеси с други активни продукти, които не повреждат желаното действие или с продукти, които подпомагат желаното

действие, като антибиотици, фунгицидни, противовъзпалителни или други антивирусни, включително анти-HBV, анти-EBV, антицитомегаловируси или анти-HIV средства.

Разтворите или суспензиите за парентерално, интрадермално, подкожно или локално прилагане могат да включват следните компоненти: стерилен разредител като вода за инжекции, физиологичен разтвор, фиксирани масла, полиетиленгликоли, глицерин, пропиленгликол или други синтетични разтворители, антибактериални средства като бензилов алкохол или метилпарабени, антиоксиданти като аскорбинова киселина или натриев бисулфит, хелатообразуващи средства като етилендиаминотетраоцетна киселина, буфери като ацетати, цитрати или фосфати и средства за корегирание на тонуса като натриев хлорид или декстроза. Препаратите за парентерално прилагане могат да се включат в ампули, шприц за еднократно използване или флакони за многократна доза направени от стъкло или пластмаса.

За венозно прилагане предпочитани носители са физиологичен разтвор или фосфатен буферен разтвор (PBS). При предпочитано изпълнение, активните съединения се приготвят с носители, които предпазват съединението от бързо изхвърляне от организма, като контролирано освобождаване на формата, включително импланти и микрокапсулирани системи за освобождаване. Могат да се използват биоразграждащи биосъвместими полимери като етилен винилацетат, полианхидриди, полигликолова киселина, колаген, полиортоестери и полимлечна. Методи за

приготвяне на такива форми за приложение са известни на специалистите от областта. Продуктите могат да се получат също така по търговски път от Alza Corporation и Nova Pharmaceuticals, Inc.

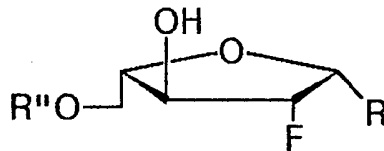
Липозомни суспензии (включително липозоми насочени да инфектират клетки с моноклонални антитела за вирусни антигени) също се предпочитат като фармацевтично приемливи носители. Те могат да се приготвят по методи известни на специалистите от областта, например, както е описано в САЩ патент № 4 522 811 (който се включва като цитат като цяло). Например, липозомни препарати могат да се получат чрез разтваряне на подходящ липид(и) (като стеароил фосфатидилетаноламин, стеароил фосфатидилхолин, арахадоил фосфатидилхолин и холестерол) в неорганичен разтворител, който след това се изпарява, оставяйки тънък филм от сух липид върху повърността на контейнера. Воден разтвор на активното съединение или негов монофосфат, дифосфат и/или трифосфат след това се вкарва в контейнера. Контейнерът след това се върти с ръце, за да се освободи липидният материал от стените на контейнера и да се диспергират липидните агрегати, при което се образува липозомната суспензия.

Изобретението е описано с позоваване на предпочитани изпълнения. За специалистите от областта са очевидни вариации и модификации на изобретението от подробното описание по-горе. Ясно е, че всички тези вариации и модификации се включват в обхвата на претенциите.

20.08.98

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. L-нуклеозид с формула

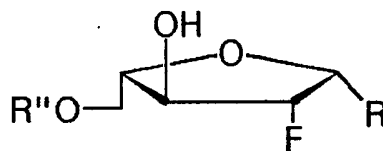


в която R означава пуринова или пиримидинова основа и R'' е водород, ацил, алкил, монофосфат, дифосфат или трифосфат.

2. Използване на съединение съгласно претенция 1 и негови фармацевтично приемливи соли за приготвяне на лекарство средство за третиране на EBV или HBV инфекция.

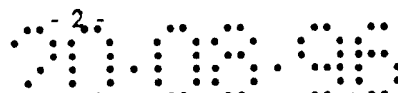
3. L-нуклеозид съгласно претенция 1 и негови фармацевтично приемливи соли за приготвяне на лекарство средство за третиране на EBV или HBV инфекция.

4. Метод за лечение на инфектирани с HBV или EBV хора, характеризиращ се с това, че се прилага HBV- и EBV-лечебно количество от L-нуклеозид с формула



в която R означава пуринова или пиримидинова основа и R'' е водород, ацил, алкил, монофосфат, дифосфат или трифосфат.

5. Метод съгласно претенция 4, характеризиращ се с това, че L-нуклеозидът е 2'-флуоро-5-метил-β-L-арабинофуранозилуридин.



6. L-нуклеозид съгласно претенция 1,

характеризиращ се с това, че е 2'-флуоро-5-метил- β -L-арабинофуранозилуридин.

7. L-нуклеозид съгласно претенция 1 или 3,

характеризиращ се с това, че е избран от групата N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-етилурацил, N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодоцитозин и N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодоурацил

8. L-нуклеозид съгласно претенция 1 или 3,

характеризиращ се с това, че основата е избрана от групата 5-метилурацил (тимин), 5-йодоурацил, цитозин и 5-етилурацил.

9. Използване съгласно претенция 2,

характеризиращо се с това, че L-нуклеозидът е 2'-флуоро-5-метил- β -L-арабинофуранозилуридин.

10. Използване съгласно претенция 2,

характеризиращо се с това, че L-нуклеозидът е избран от групата N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-етилурацил, N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодоцитозин и N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодоурацил.

11. Използване съгласно претенция 2,

характеризиращо се с това, че основата е избрана от групата 5-метилурацил (тимин), 5-йодоурацил, цитозин и 5-етилурацил.

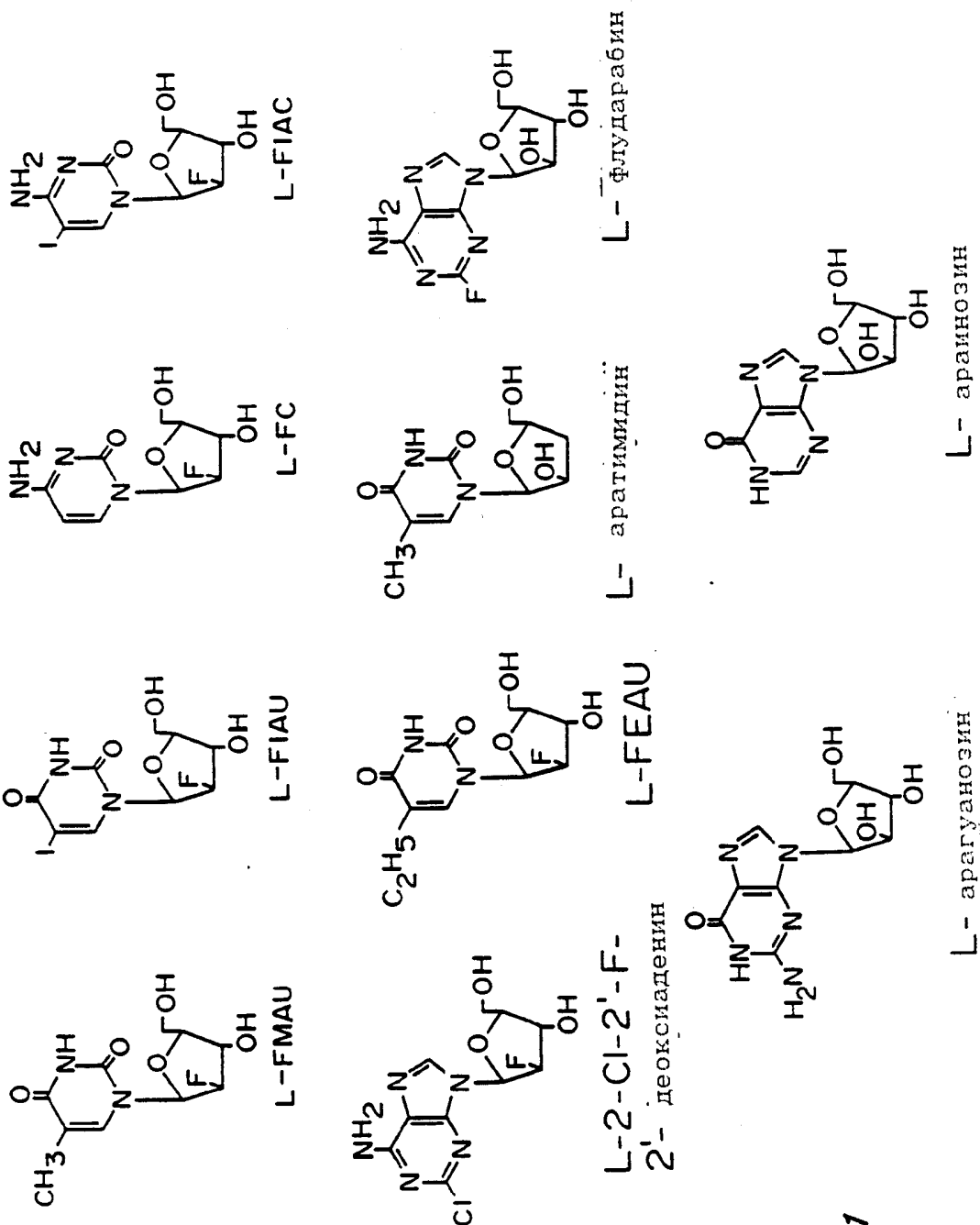
12. Метод съгласно претенция 4, характеризиращ се

с това, че L-нуклеозидът е избран от групата N_1 -(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-етилурацил, N_1 -(2'-деокси-

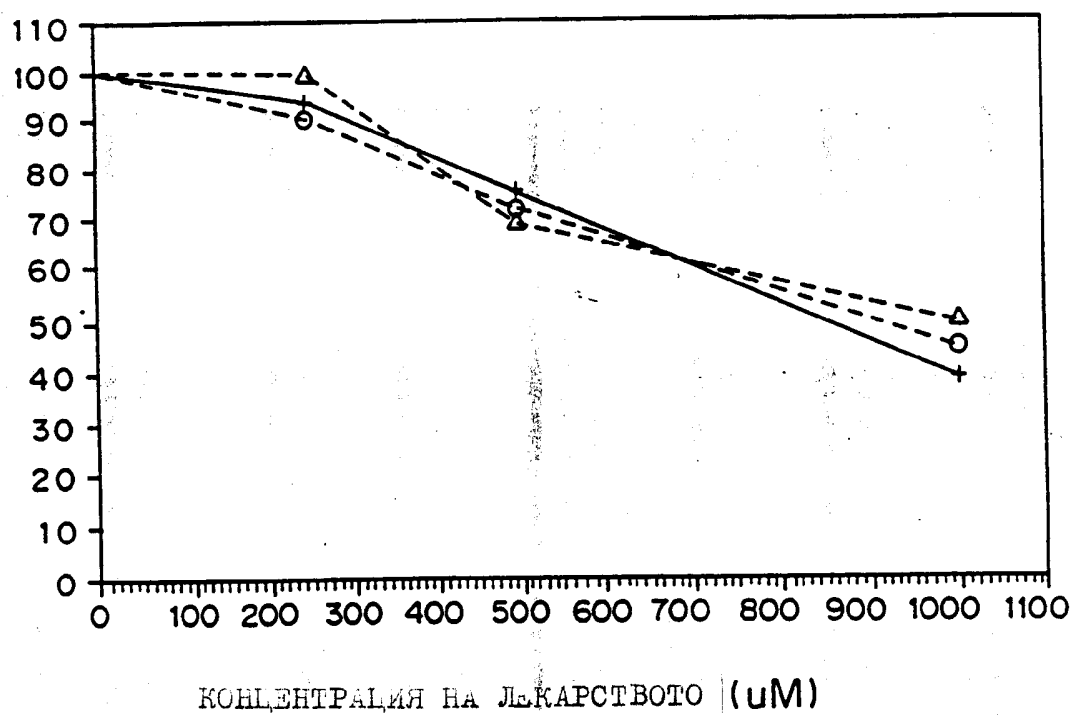
20.08.98

2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5'-йодоцитозин и N₁-(2'-деокси-2'-флуоро- β -L-арабинофуранозил)-5-йодоурацил.

13. Метод съгласно претенция 4, характеризиращ се с това, че основата е избрана от групата 5-метилурацил (тимин), 5-йодоурацил, цитозин и 5-етилурацил.

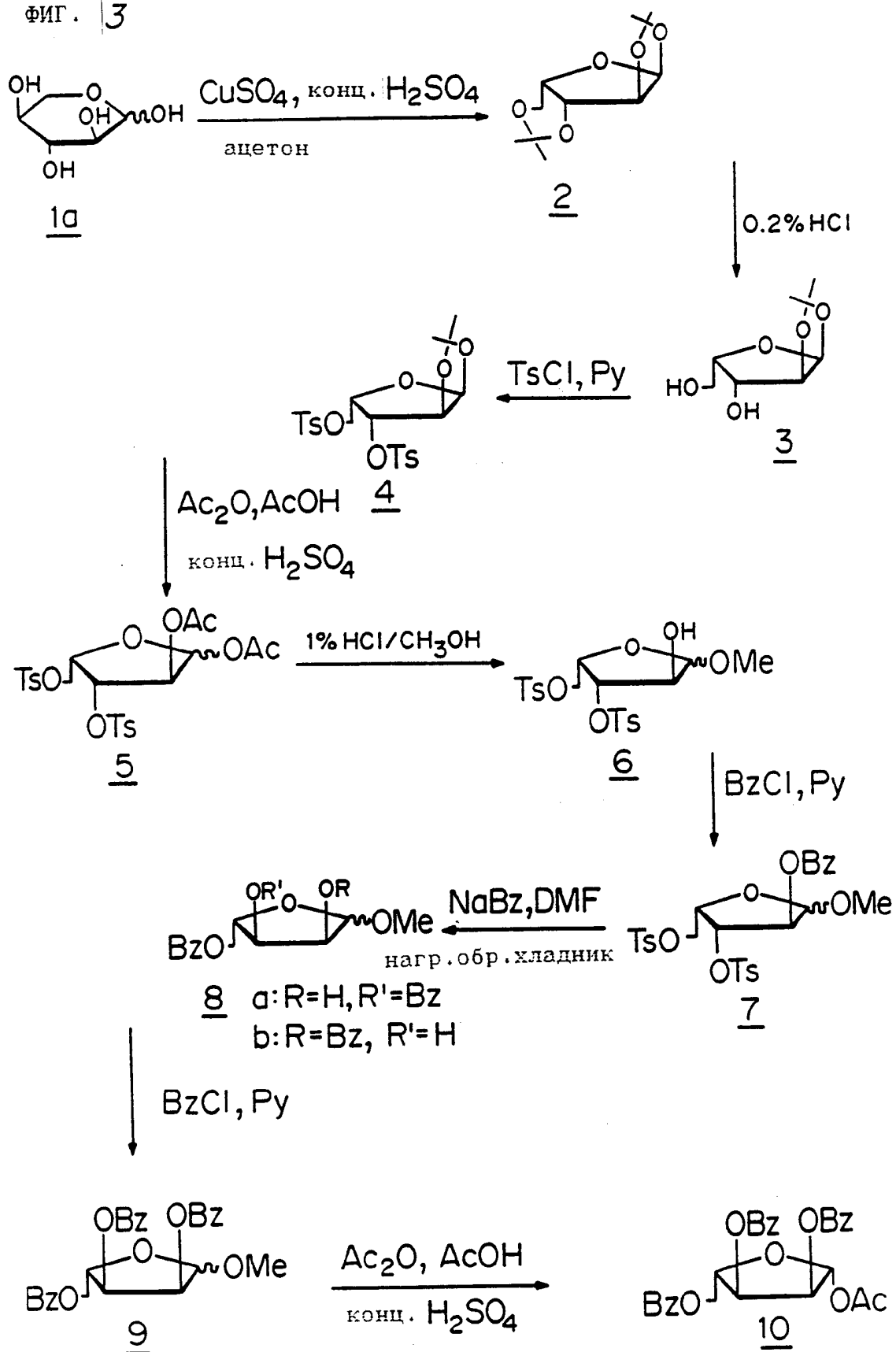


фиг. 1

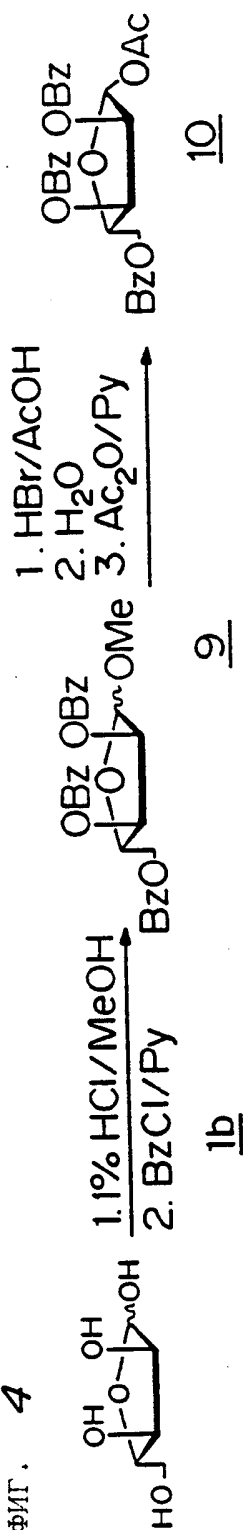


ФИГ. 2

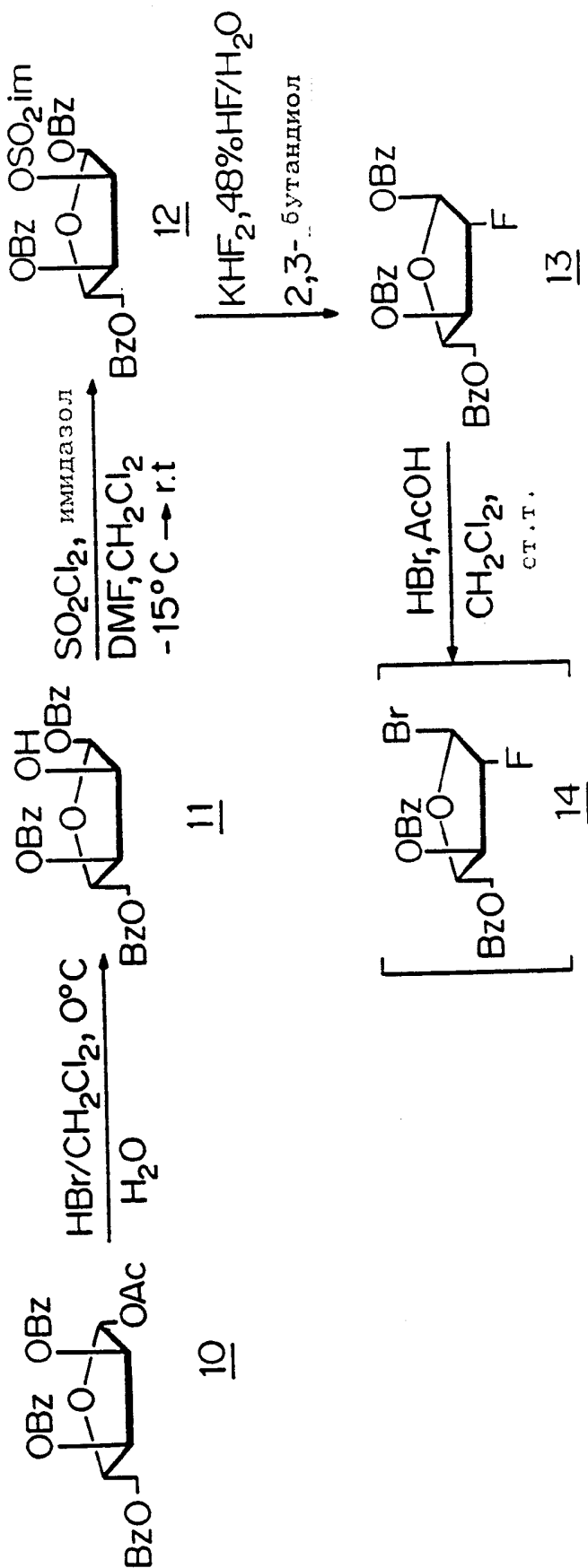
ФИГ. 3

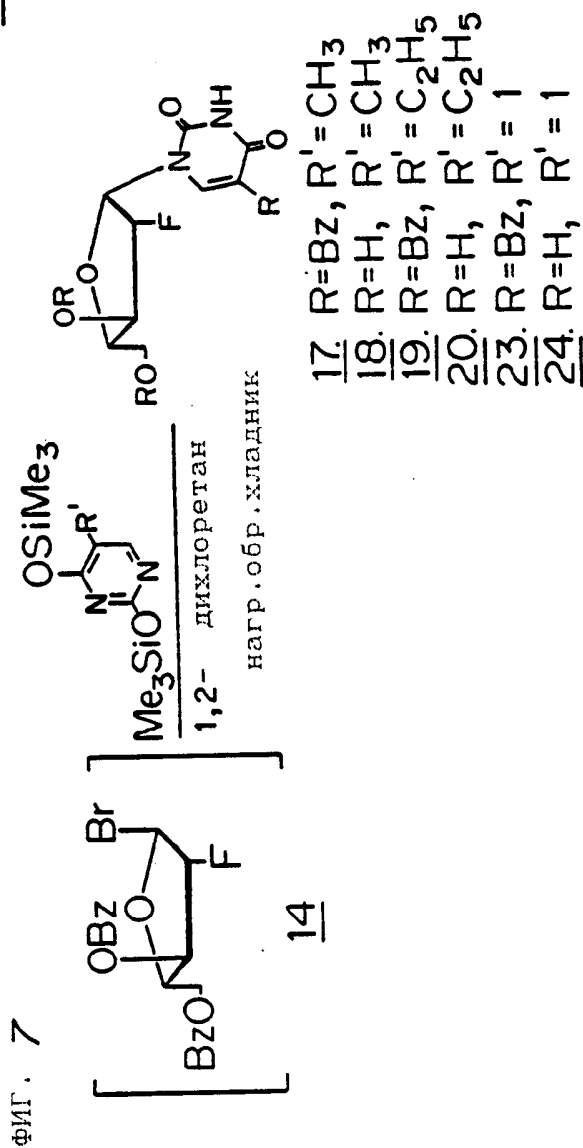
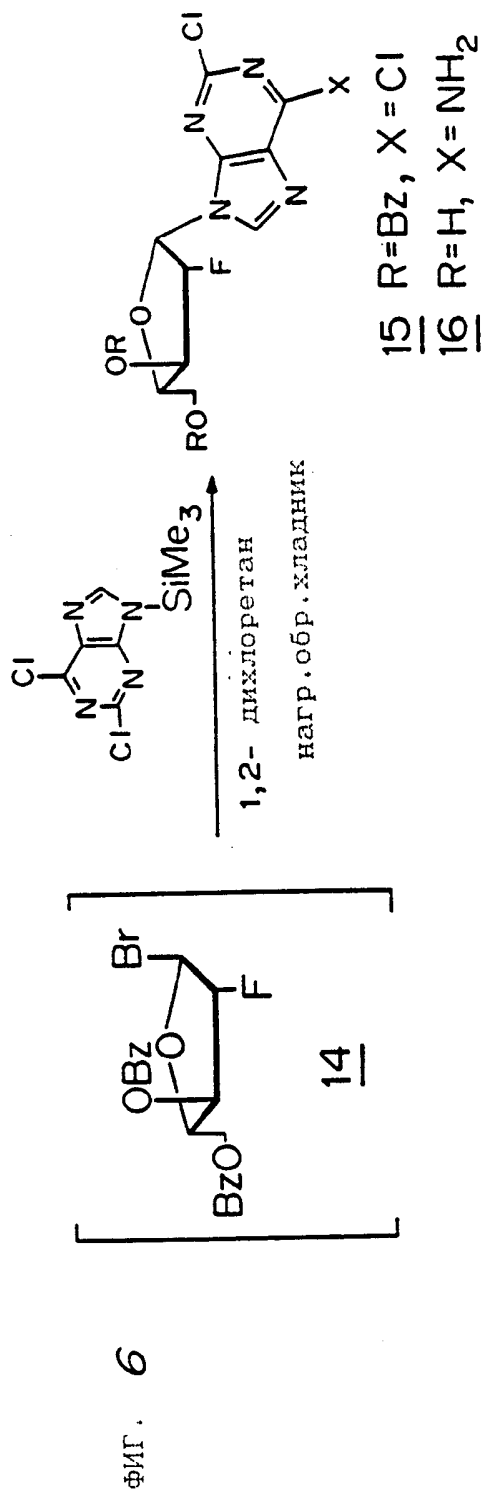


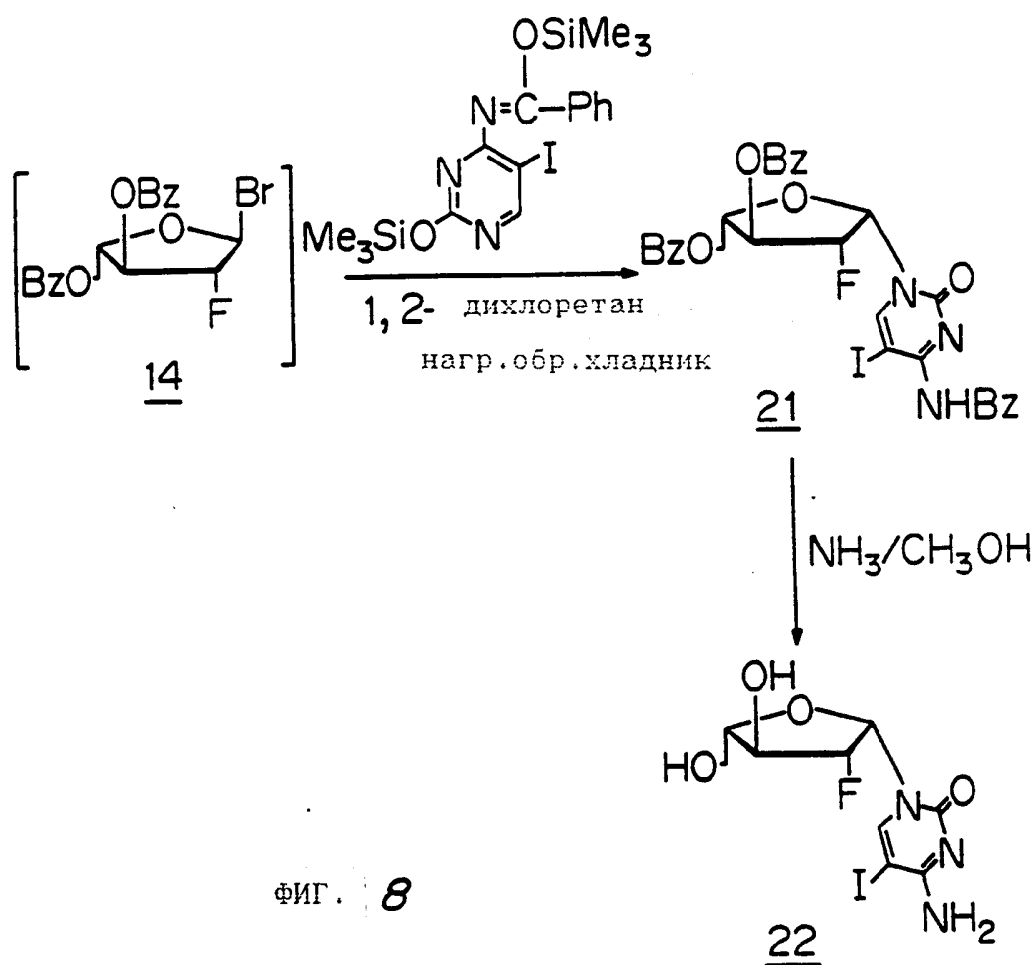
ФИГ. 4

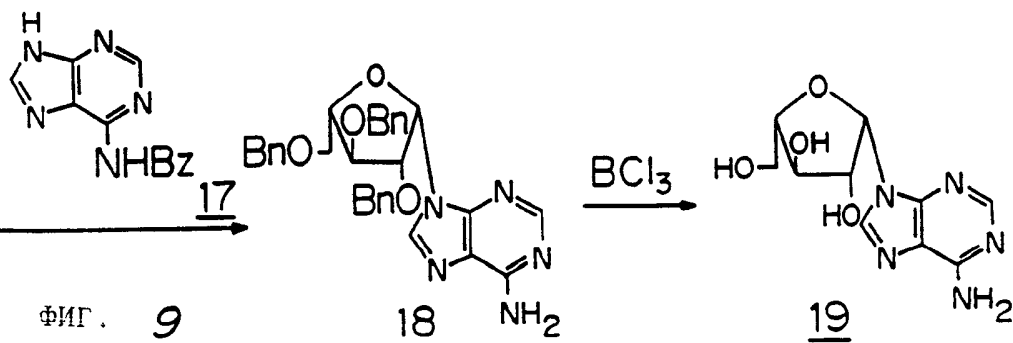
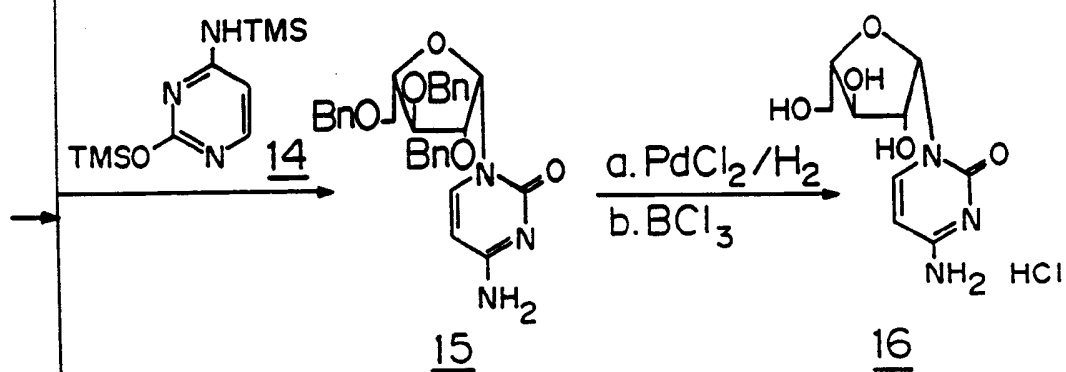
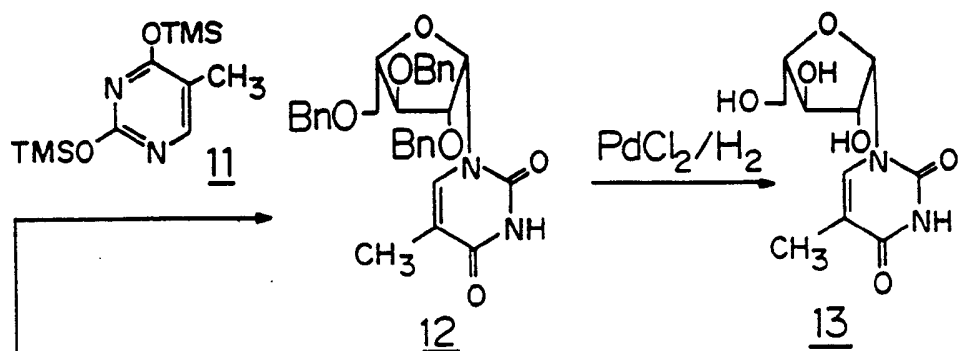
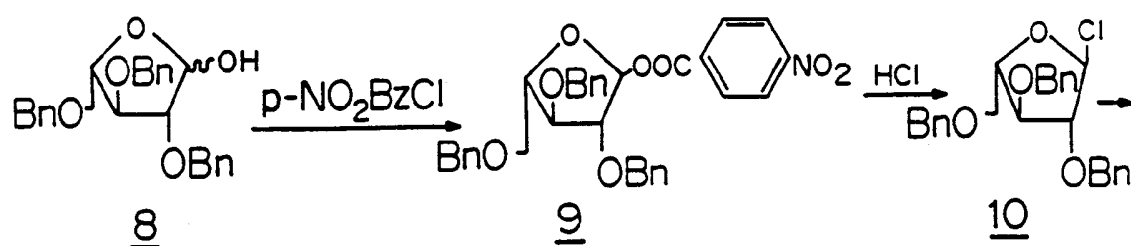
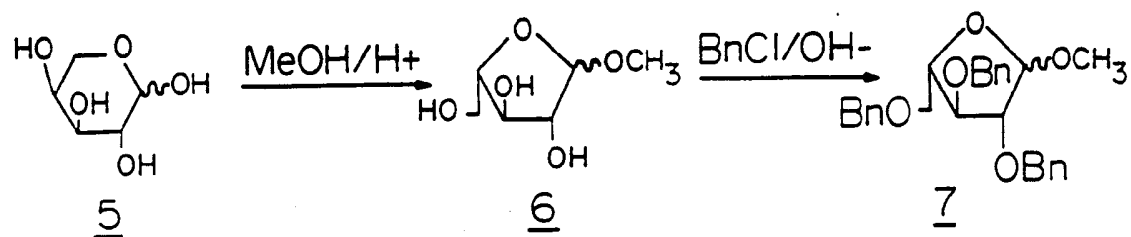


ФИГ. 5

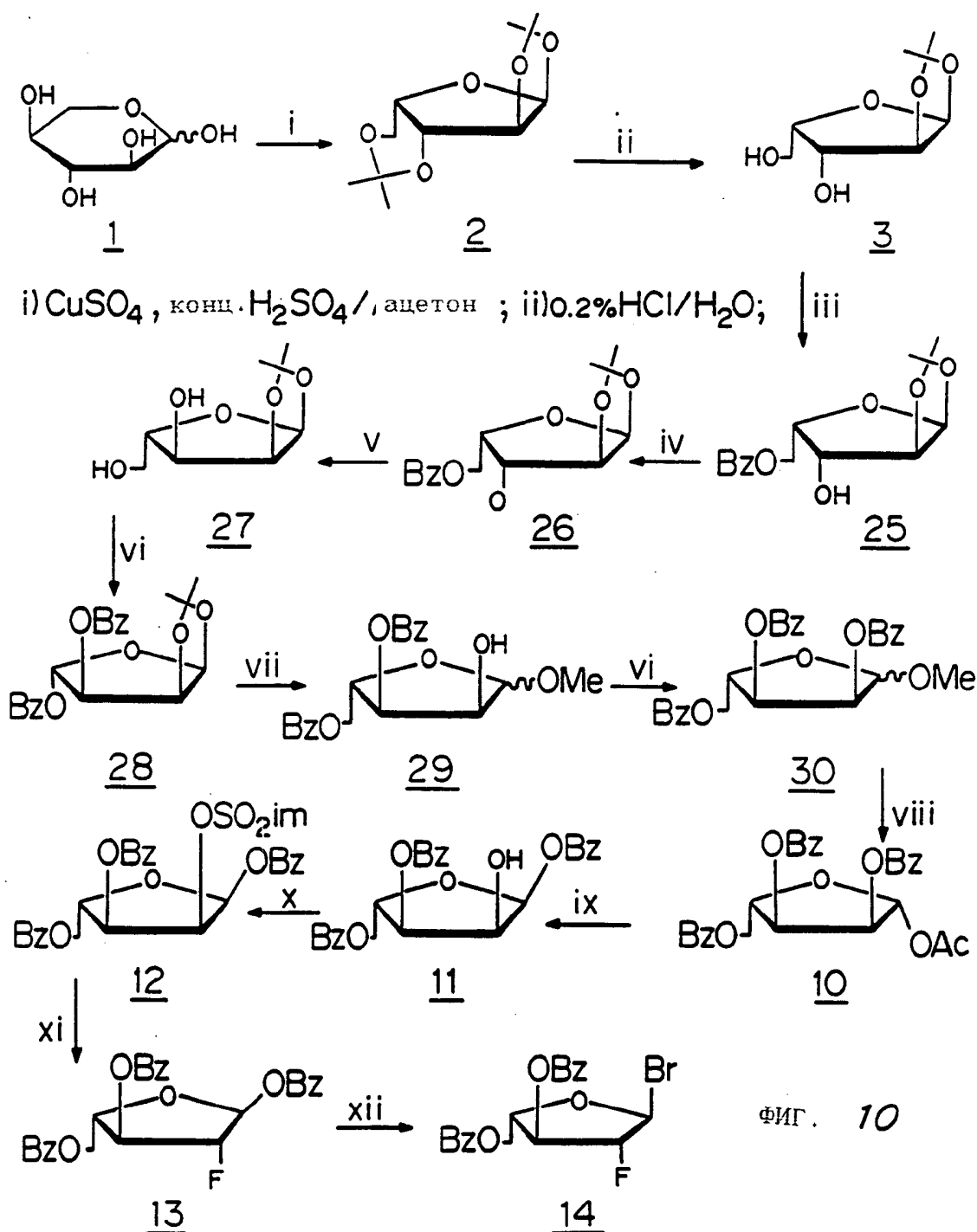






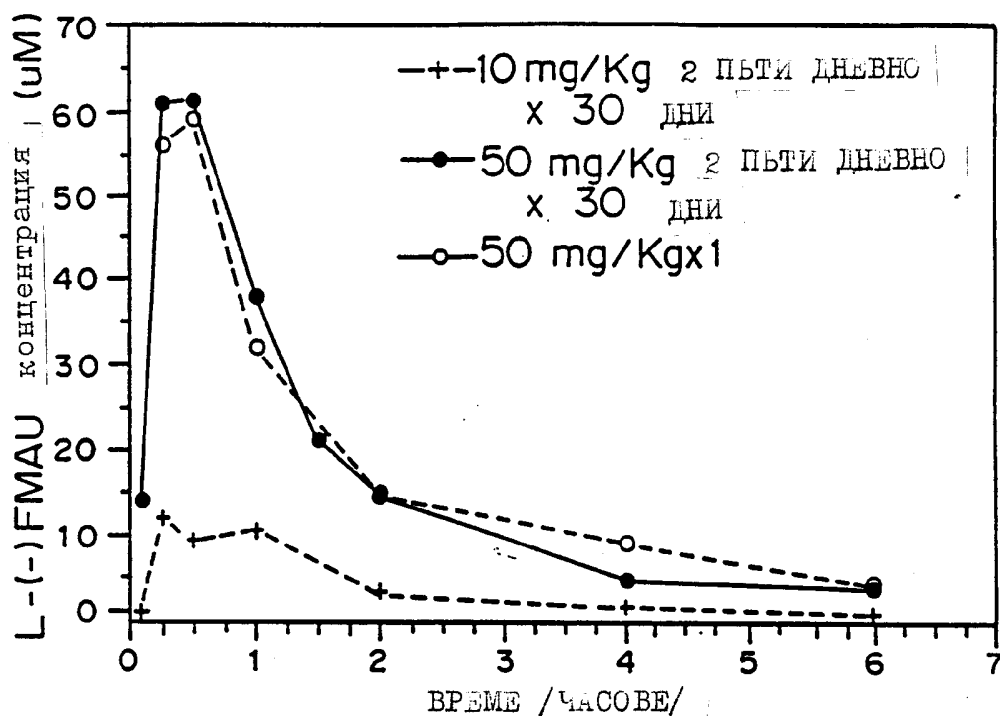


ФИГ. 9

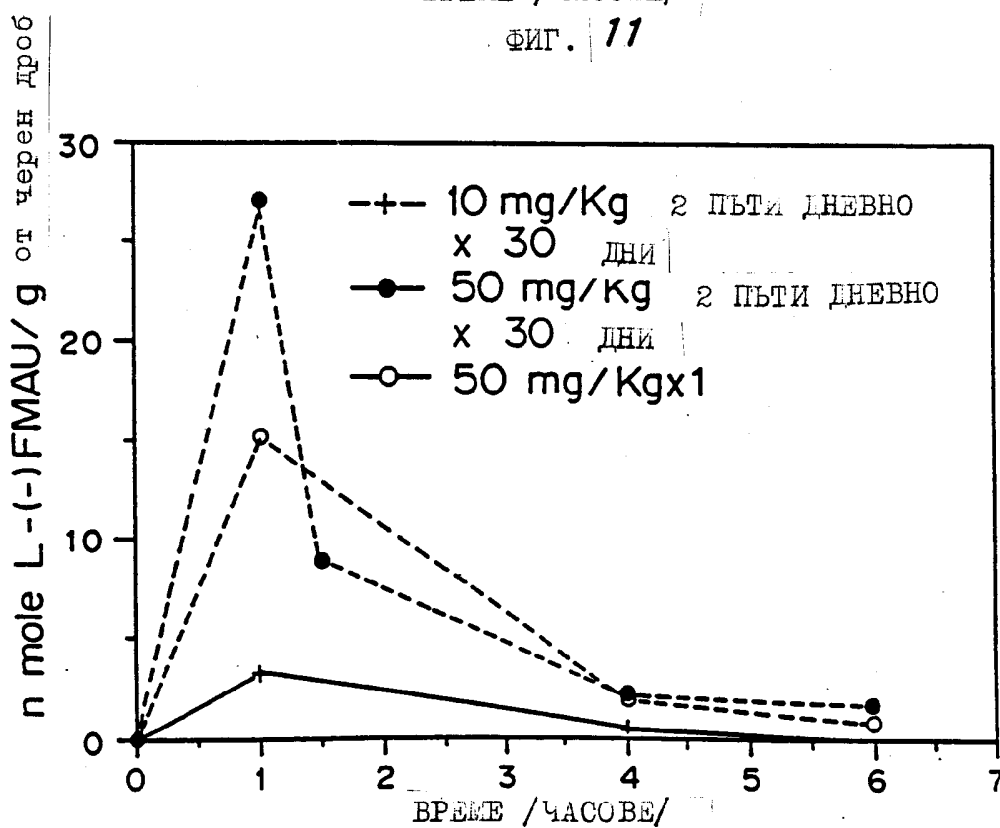


ФИГ. 10

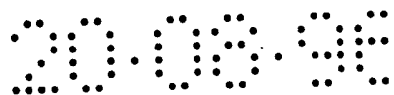
- iii) BzCl/Py/CH₂Cl₂, 0°C, 0.5 hr. ; iv) PDC/Ac₂O/CH₂Cl₂, нагр. обр. хладник;
 v) NaBH₄/95% EtOH; vi) BzCl/Py; vii) 1% HCl/CH₃OH
 viii) Ac₂O/AcOH/H₂SO₄; ix) HCl(g)/AcCl/CH₂Cl₂, 0°C, H₂O;
 x) SO₂Cl₂, имидазол/DMF/CH₂Cl₂, -15°C до ст.т.,
 xi) KHF₂, 48% HF/H₂O/2, 3- бутандиол, N₂, нагр. обр. хладник,
 xii) HBr/AcOH/CH₂Cl₂, ст.т..



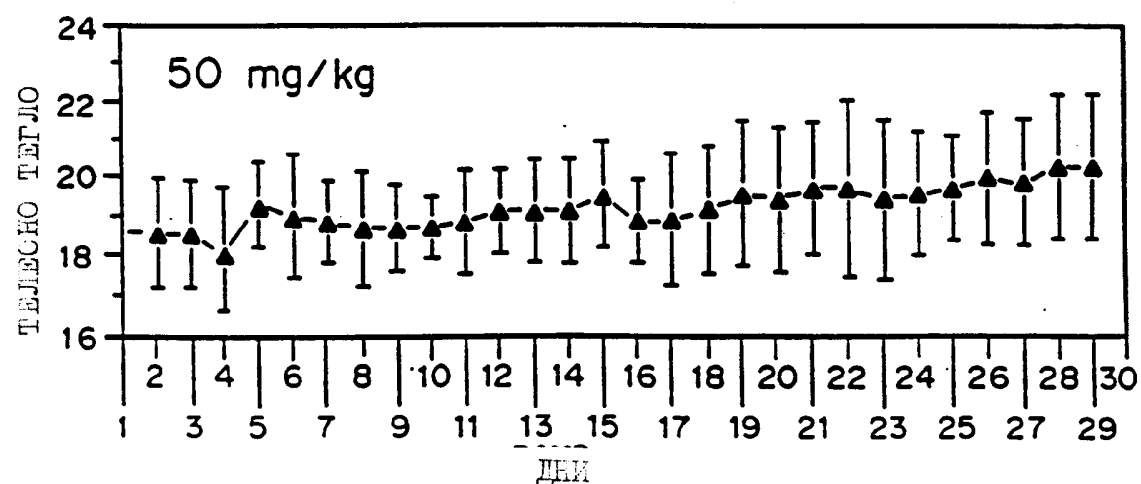
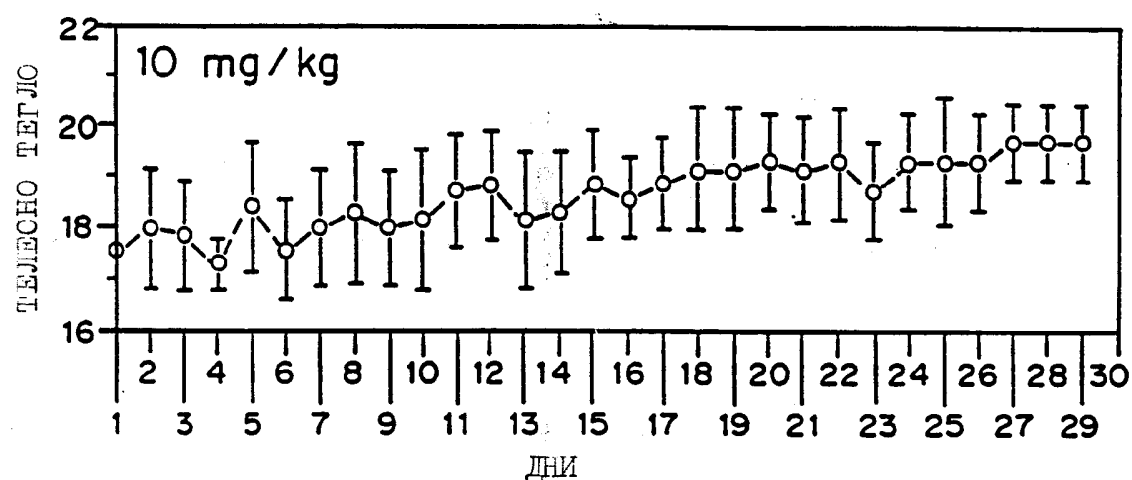
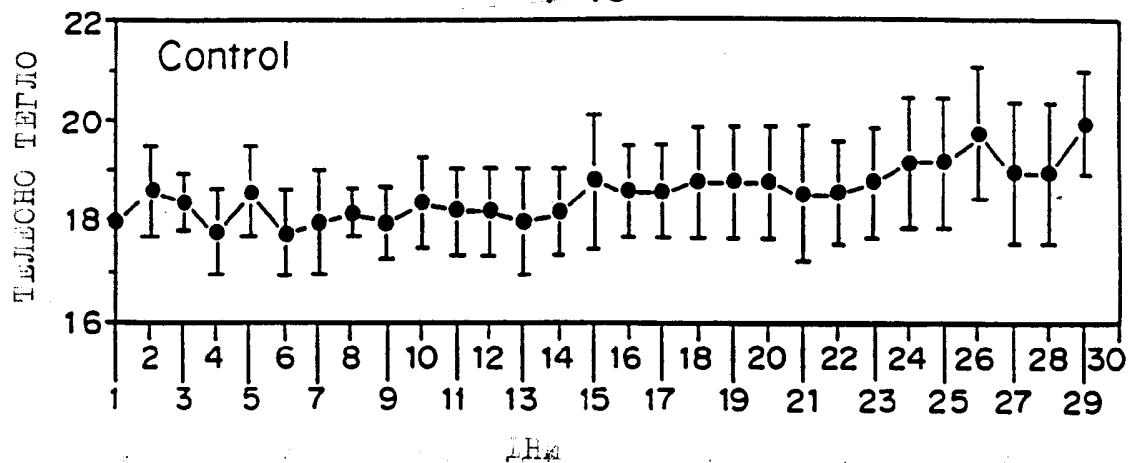
ФИГ. 11



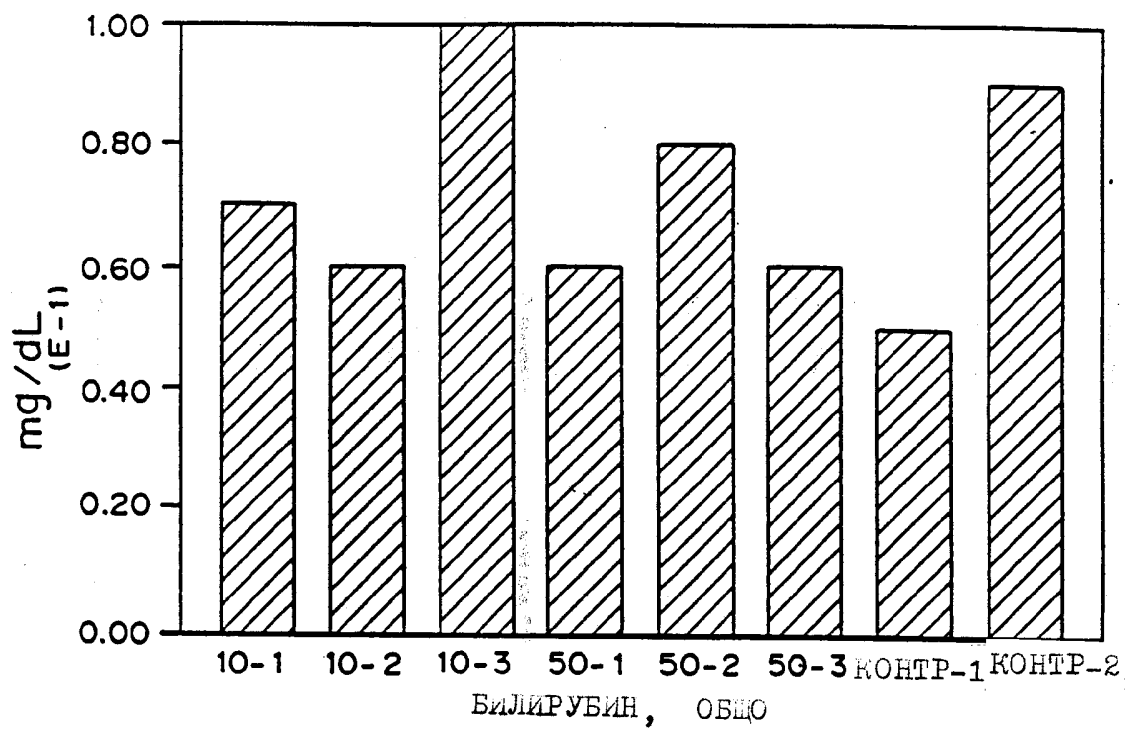
ФИГ. 12



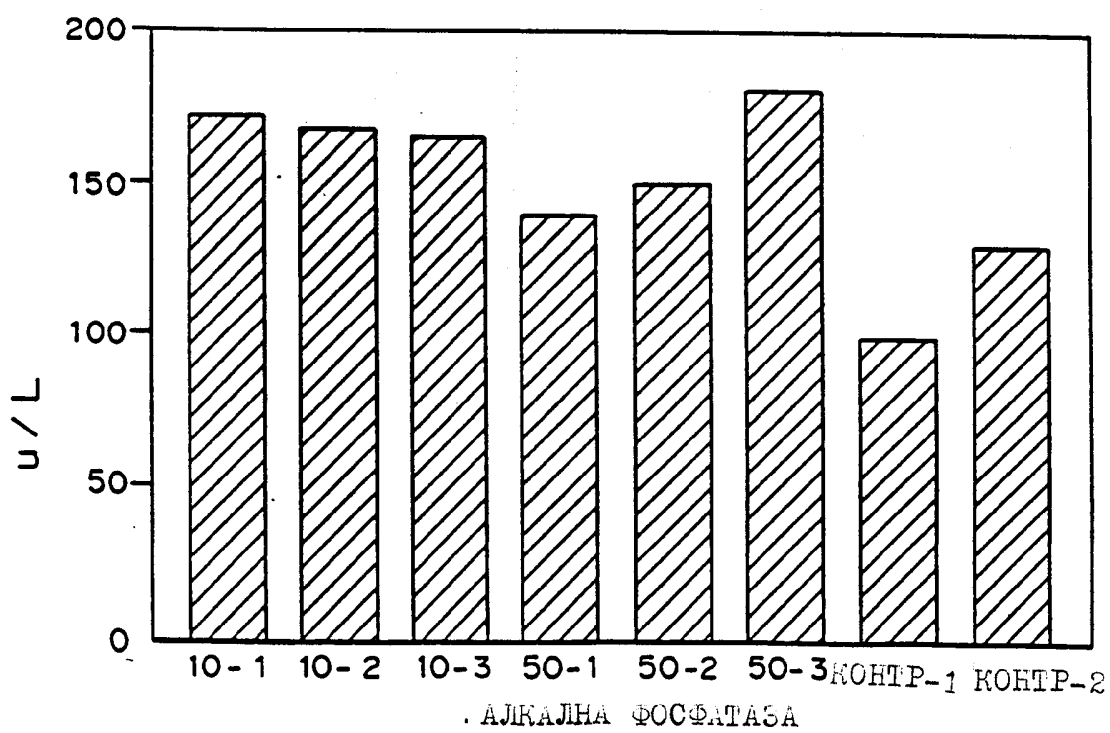
Фиг. 13



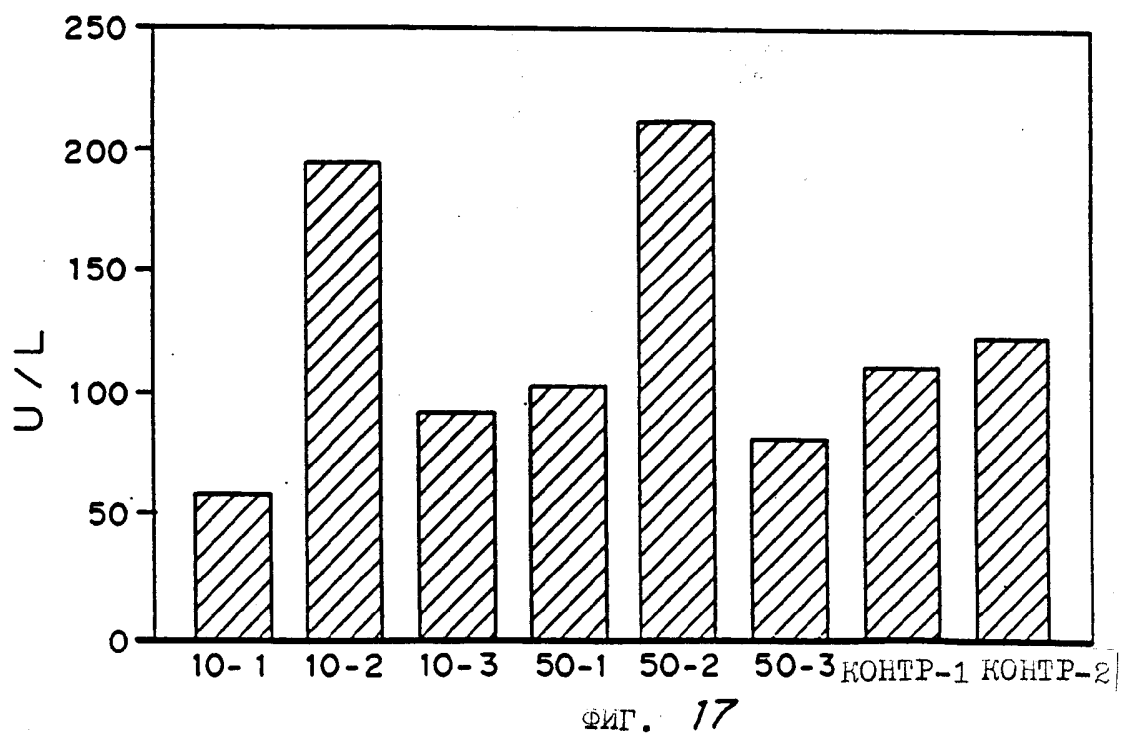
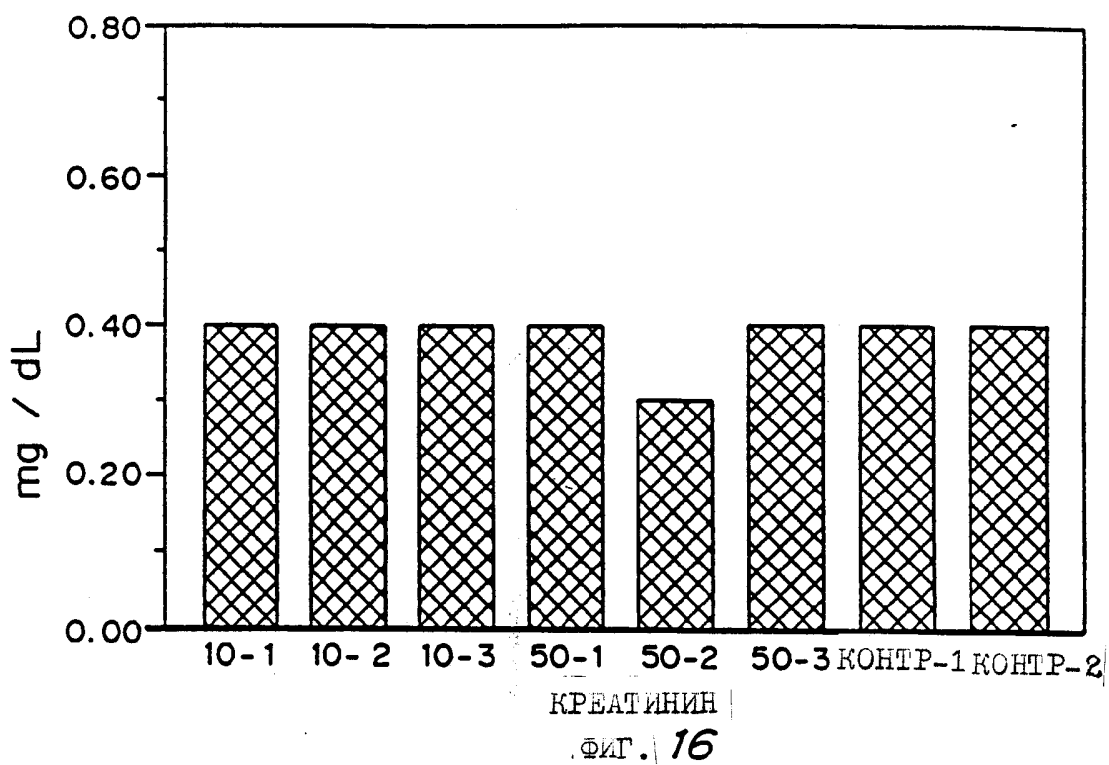
10 / 14

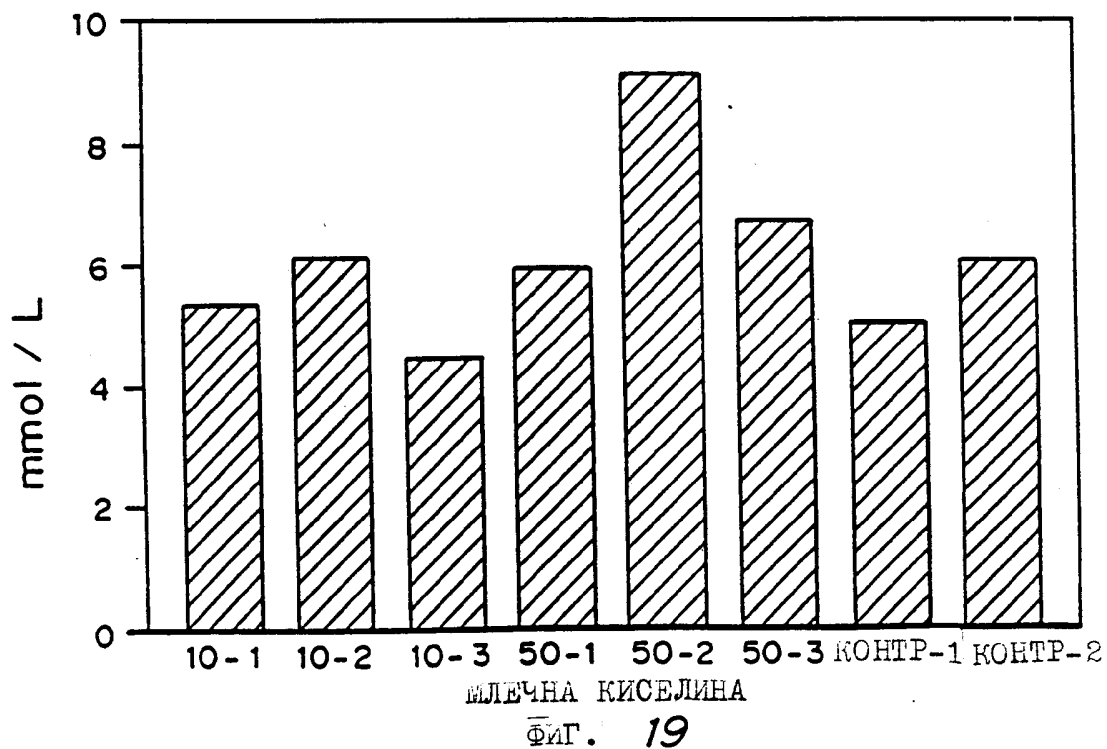
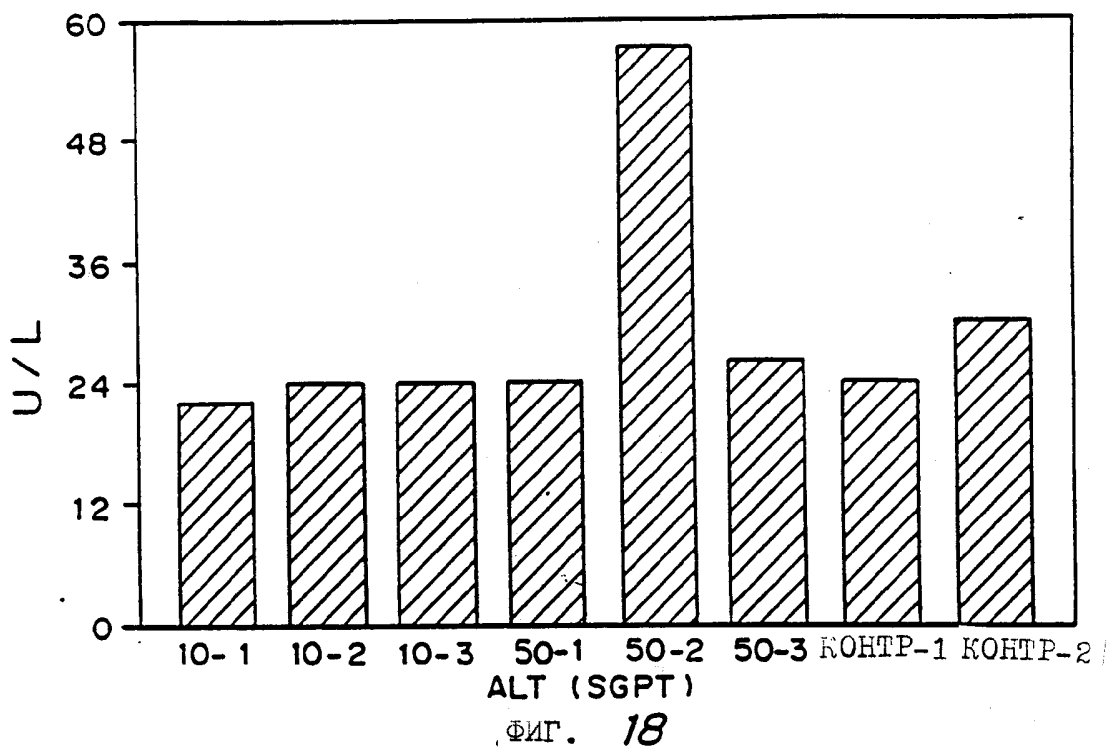


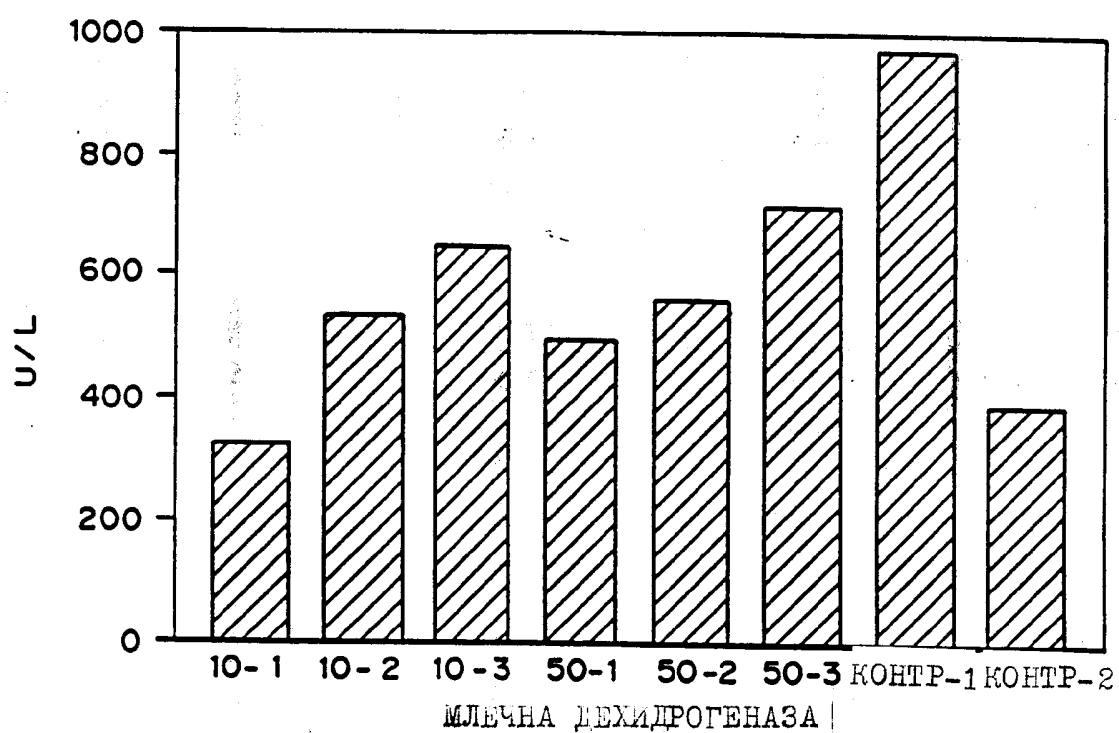
ФИГ. 14



ФИГ. 15







ФИГ. 20