



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) DE 699 30 678 T2 2006.09.21

(12)

## Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) EP 1 124 565 B1

(21) Deutsches Aktenzeichen: 699 30 678.7

(86) PCT-Aktenzeichen: PCT/US99/26156

(96) Europäisches Aktenzeichen: 99 971 324.1

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: WO 2000/025799

(86) PCT-Anmeldetag: 05.11.1999

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: 11.05.2000

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: 22.08.2001

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: 29.03.2006

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: 21.09.2006

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: A61K 31/7068 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

A61K 31/70 (2006.01)

(30) Unionspriorität:

107178 P 05.11.1998 US

115862 P 13.01.1999 US

(73) Patentinhaber:

Centre National de la Recherche Scientifique  
(C.N.R.S.), Paris, FR; The UAB Research  
Foundation, Birmingham, Ala., US; Emory  
University, Atlanta, Ga., US

(74) Vertreter:

Flügel Preissner Kastel Schober, 80335 München

(84) Benannte Vertragsstaaten:

AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE

(72) Erfinder:

GOSSELIN, Gilles, F-34080 Montpellier, FR;  
IMBACH, Jean-Louis, F-34000 Montpellier, FR;  
SOMMADSSI, Jean-Pierre, Birmingham, AL  
35242, US; SCHINAZI, F., Raymond, Decatur, GA  
30033, US

(54) Bezeichnung: Azidoderrivate von Beta-L-2'-Nukleosiden zur HIV-Infektionsbehandlung

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelebt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung****Hintergrund der Erfindung**

**[0001]** Die Erfindung betrifft den Bereich von Verfahren zur Behandlung des Human Immunodeficiency Virus (auch als "HIV" bezeichnet), welche die Verabreichung an einen Wirt, der dessen bedarf, entweder allein oder in Kombination, einer wirksamen HIV-Behandlungsmenge von einer oder mehreren der hier offenbarten wirksamen Verbindungen, oder ein pharmazeutisch verträgliches Prodrug oder Salz von einer von diesen Verbindungen umfasst.

**[0002]** Im Jahre 1981 wurde das Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) als Krankheit identifiziert, die das menschliche Immunsystem schwer in Mitleidenschaft zieht, und das fast ohne Ausnahme zum Tode führt. Im Jahre 1983 wurde das Human Immunodeficiency Virus (HIV) als ätiologische Ursache von AIDS bestimmt.

**[0003]** Im Jahre 1985 wurde berichtet, dass das synthetische Nukleosid 3'-Azido-3'-deoxythymidin (AZT) die Replikation des Human Immunodeficiency Virus hemmt. Seither haben sich eine Anzahl von anderen synthetischen Nukleosiden, einschließlich (-)- $\beta$ -2',3'-Dideoxy-3'-thiacytidin (3TC),  $\beta$ -2',3'-Dideoxy-3'-thia-5-fluorcytidin (FTC), 2',3'-Dideoxyinosin (DDI), 2',3'-Dideoxycytidin (DDC) und 2',3'-Dideoxy-2',3'-didehydrothymidin (D4T), gegen HIV als wirksam erwiesen. Nach der zellulären Phosphorylierung zum 5'-Triphosphat durch zelluläre Kinasen werden diese synthetischen Nukleoside in einen wachsenden Strang der viralen DNA eingebaut und verursachen eine Kettentermination aufgrund des Fehlens der 3'-Hydroxylgruppe. Sie können auch das Virusenzym Reverse Transkriptase hemmen.

**[0004]** Der Erfolg von verschiedenen synthetischen Nukleosiden bei der Hemmung der Replikation von HIV in vivo oder in vitro hat dazu geführt, dass eine Anzahl von Forschern Nukleoside konstruieren und testen, wobei ein Kohlenstoffatom durch ein Heteroatom an der 3'-Position des Nukleosids ersetzt ist. Die europäische Patentanmeldung mit der Veröffentlichungsnummer 0 337 713 und die US-Patentschrift Nr. 5,041,449, auf die Firma BioChem Pharma, Inc. übertragen, offenbaren racemische 2-substituierte-4-substituierte 1,3-Dioxolane, die antivirale Aktivität aufweisen. Die US-Patentschrift Nr. 5,047,407 und die europäische Patentanmeldung mit der Veröffentlichungsnummer 0 382 526, ebenfalls auf BioChem Pharma, Inc. übertragen, offenbaren, dass eine Anzahl von racemischen 2-substituierten-5-substituierten 1,3-Oxathiolannukleosiden antivirale Aktivität aufweisen, und berichten insbesondere, dass das racemische Gemisch von 2-Hydroxymethyl-5-(cytosin-1-yl)-1,3-oxathiolan (als BCH-189 bezeichnet) etwa die gleiche Aktivität gegen HIV wie AZT, mit wenig Toxizität, aufweist. Das (-)-Enantiomer des BCH-189-Racemats, bekannt als 3TC, das von der US-Patentschrift Nr. 5,539,116 von Liotta et al. ausführlich beschrieben wird, wird derzeit in den USA zur Behandlung von HIV bei Menschen in Kombination mit AZT verkauft.

**[0005]** Es wurde ebenfalls offenbart, dass cis-2-Hydroxymethyl-5-(5-fluorcytosin-1-yl)-1,3-oxathiolan ("FTC") eine sehr wirksame HIV-Aktivität aufweist. Schinazi et al., "Selective Inhibition of Human Immunodeficiency viruses by Racemates and Enantiomers of cis-5-fluoro-1-[2-(Hydroxymethyl)-1,3-Oxathiolane-5-yl]Cytosine" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, November 1992, Ss. 2423-2431. Siehe auch US-Patentschriften Nrn. 5,210,085; 5,814,639; 5,728,575; 5,827,727; 5,914,331; WO 91/11186 und WO 92/14743.

**[0006]** WO 96/40164, eingereicht von Emory University, UAB Research Foundation und dem Centre National de la Recherche Scientifique, offenbart eine Anzahl von  $\beta$ -L-2',3'-Dideoxynukleosiden zur Behandlung von Hepatitis B.

**[0007]** WO 95/07287, ebenfalls eingereicht von Emory University, UAB Research Foundation und dem Centre National de la Recherche Scientifique, offenbart 2'- oder 3'-Deoxy- und 2',3'-Dideoxy- $\beta$ -L-pentofuranosylnukleoside zur Behandlung von HIV-Infektion.

**[0008]** WO 96/13512, eingereicht von Genencor International, Inc. und Lipitek, Inc., offenbart die Herstellung von L-Ribofuranosylnukleosiden als Antitumormittel und Viruzide.

**[0009]** WO 95/32984 offenbart Lipidester von Nukleosidmonophosphaten als immunsuppressive Arzneimittel.

**[0010]** DE 42 24 737 offenbart Cytosin-Nukleoside und ihre pharmazeutischen Anwendungen.

**[0011]** Tsai et al. offenbaren in Biochem. Pharmacol. 48 (7), Ss. 1477-81, 1994, die Wirkung der Anti-HIV-Mittel.

tel 2'- $\beta$ -D-F-2',3'-Dideoxynukleosidanaloge auf den zellulären Gehalt an mitochondrialer DNA und auf die Lactatproduktion.

[0012] Galvez, J. Chem. Inf. Comput. Sci. (1994), 35 (5), 1198-203, beschreibt die molekulare Berechnung von  $\beta$ -D-3'-Azido-2',3'-dideoxy-5-fluorcytidin.

[0013] Mahmoudian, Pharm. Research 8 (1), 43-6 (1991), offenbart die quantitative Struktur-Aktivitätsbeziehungsanalysen von HIV-Mitteln, wie  $\beta$ -D-3'-Azido-2',3'-dideoxy-5-fluorcytid in.

[0014] Die US-Patentschrift Nr. 5,703,058 offenbart (5-Carboximido- oder 5-Fluor)(2',3'-ungesättigte oder 3'-modifizierte)pyrimidinnukleoside zur Behandlung von HIV- und HBV-Infektion.

[0015] Lin et al. offenbaren in J. Med. Chem. 31 (2), 336-340 (1988) die Synthese und antivirale Aktivität verschiedener 3'-Azidoanaloge von  $\beta$ -D-Nukleosiden.

[0016] WO 97/09052 A offenbart die Azid-Derivatisierung an der Basen-Gruppe von 3-L-Nukleosiden. Gosselin et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 38 (6), 1292-1297 (1994), vergleichen die Anti-HIV-Aktivitäten von L-DDC und L-FDDC mit den entsprechenden Enantiomeren.

[0017] Angesichts der Tatsache, dass das Acquired Immune Deficiency Syndrome und der AIDS-verwandte Komplex weltweit epidemische Ausmaße erreicht haben und tragische Auswirkungen auf den infizierten Patienten besitzen, besteht immer noch ein starker Bedarf zur Bereitstellung neuer wirksamer pharmazeutischer Mittel mit niedriger Toxizität für den Wirt zur Behandlung dieser Krankheiten.

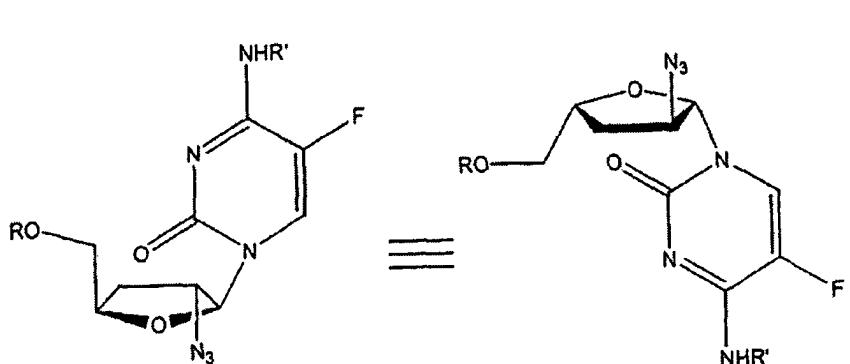
[0018] Es ist eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, eine Verbindung und ein Verfahren zur Behandlung von menschlichen Patienten oder von anderen Wirtstieren bereitzustellen, die mit HIV infiziert sind.

#### Zusammenfassung der Erfindung

[0019] Eine Verwendung zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der HIV-Infektion in Menschen und anderen Wirtstieren wird offenbart, wobei das Medikament ein  $\beta$ -L-(2'- oder 3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin-Nukleosid oder ein pharmazeutisch verträgliches Salz, einen Ester oder ein Prodrug davon, einschließlich eines stabilisierten Phosphats, verabreicht entweder allein oder in Kombination oder abwechselnd mit einem anderen Anti-HIV-Mittel, gegebenenfalls in einem pharmazeutisch verträglichen Träger umfasst. Bei einem bevorzugten Ausführungsbeispiel liegt die 2'- oder 3'-Azidogruppe in der Ribosylkonfiguration vor.

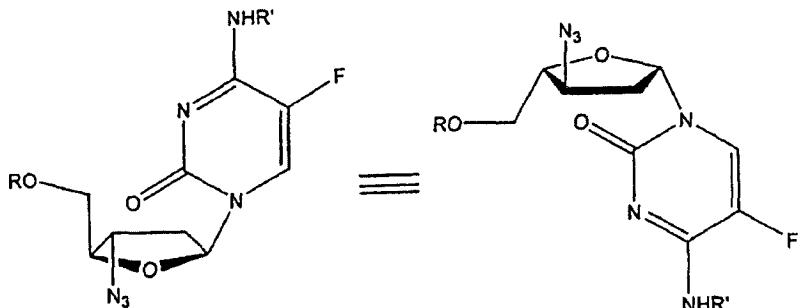
[0020] Die offenbarten  $\beta$ -L-(2'- oder 3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin-Nukleoside oder die pharmazeutisch verträglichen Salze, Ester oder Prodrugs oder pharmazeutisch verträgliche Formulierungen, die diese Verbindungen enthalten, sind bei der Prävention und Behandlung von HIV-Infektionen und anderen verwandten Zuständen, wie Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), AIDS-verwandter Komplex (ARC), persistente generalisierte Lymphadenopathie (PGL), AIDS-verwandte neurologische Zustände, Anti-HIV-Antikörper-positive und HIV-positive Zustände, Kaposi-Sarkom, thrombocytophenische Purpura und opportunistische Infektionen, geeignet. Diese Verbindungen oder Formulierungen können auch prophylaktisch zur Prävention oder Verzögerung des Fortschritts von klinischer Erkrankung in Individuen eingesetzt werden, die Anti-HIV-Antikörper- oder HIV-Antigen-positiv sind oder die HIV ausgesetzt waren.

[0021] Bei einem Ausführungsbeispiel ist die wirksame Verbindung  $\beta$ -L-(2'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin (L-2'-A-5-FddC), oder ein pharmazeutisch verträglicher Ester, ein Salz oder Prodrug davon, der Formel:



wobei R H, Acyl, Monophosphat, Diphosphat oder Triphosphat oder ein stabilisiertes Phosphatderivat (zur Bildung eines stabilisierten Nukleotid-Prodrugs) ist, R' H, Acyl oder Alkyl ist.

**[0022]** Bei einem anderen Ausführungsbeispiel ist die aktive Verbindung  $\beta$ -L-(3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin (L-3'-A-5-FddC), oder ein pharmazeutisch verträglicher Ester, ein Salz oder Prodrug davon, der Formel



wobei R H, Acyl, Monophosphat, Diphosphat oder Triphosphat oder ein stabilisiertes Phosphatderivat (zur Bildung eines stabilisierten Nukleotid-Prodrug) ist, und R' H, Acyl oder Alkyl ist.

**[0023]** Bei einem weiteren Ausführungsbeispiel wird das L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleosid abwechseln oder in Kombination mit einer oder mehreren anderen Verbindungen verabreicht, die Aktivität gegen HIV aufweisen, wie nachstehend ausführlicher beschrieben. Im Allgemeinen wird während der alternierenden Therapie eine wirksame Dosierung eines jeden Mittels nacheinander verabreicht, wohingegen bei der Kombinationstherapie eine wirksame Dosierung von zwei oder mehreren Mitteln miteinander verabreicht wird. Die Dosierungen hängen von den Absorptions-, Inaktivierungs- und Exkretionsgeschwindigkeiten des Arzneimittels sowie von anderen den Fachleuten bekannten Faktoren ab. Es ist anzumerken, dass die Dosierungswerte auch je nach Schwere des zu lindernden Zustandes variieren. Es ist ferner selbstverständlich, dass für jedes bestimmte Individuum spezielle Dosierungsrichtlinien und Zeitpläne zeitlich eingestellt werden sollten, je nach individuellem Bedürfnis und professioneller Einschätzung der verabreichenden Person oder der Person, die die Verabreichung der Zubereitungen überwacht. Bei einem bevorzugten Ausführungsbeispiel wird die Verbindung in Kombination mit AZDU verabreicht.

#### Kurze Beschreibung der Figuren

**[0024]** [Fig. 1](#) ist eine Erläuterung eines allgemeinen Reaktionsschemas zur spezifischen Synthese von 3'-substituierten  $\beta$ -L-Dideoxynukleosiden.

**[0025]** [Fig. 2](#) ist eine Erläuterung eines allgemeinen Reaktionsschemas zur stereospezifischen Synthese von 2'-substituierten  $\beta$ -L-Dideoxynukleosiden.

**[0026]** [Fig. 3](#) ist eine Erläuterung eines Verfahrens zur Herstellung von  $\beta$ -L-(3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin (L-3'-A-5-FddC).

**[0027]** [Fig. 4](#) ist eine Erläuterung eines Verfahrens zur Herstellung von  $\beta$ -L-(2'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytidin (L-2'-A-5-FddC).

#### Ausführliche Beschreibung der Erfindung

**[0028]** Eine Verwendung zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der HIV-Infektion in Menschen oder anderen Wirtstieren wird offenbart, welches die Verabreichung einer wirksamen Menge eines  $\beta$ -L-(2'- oder 3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin-Nukleosids (nachstehend als "L-(2' oder 3')-A-5-FddC" bezeichnet) oder eines pharmazeutisch verträglichen Salzes, Esters oder Prodrug davon, einschließlich eines stabilisierten Phosphats, entweder allein oder in Kombination oder abwechselnd mit einem anderen Anti-HIV-Mittel, gegebenenfalls in einem pharmazeutisch verträglichen Träger, umfasst.

**[0029]** Die hier beschriebenen Verbindungen können zur Behandlung von AIDS und AIDS-verwandten Zuständen, einschließlich Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), AIDS-verwandter Komplex (ARC), persistente generalisierte Lymphadenopathie (PGL), AIDS-verwandte neurologische Zustände, Anti-HIV-Antikörper-positive und HIV-positive Zustände, Kaposi-Sarkom, thrombocytophenische Purpura und opportunistische Infektionen, verwendet werden. Das erfindungsgemäße Verfahren umfasst die Verwendung eines L-(2'-

oder 3')-A-5-FddC prophylaktisch zur Verhinderung oder Verzögerung des Fortschritts einer klinischen Erkrankung in Individuen, die Anti-HIV-Antikörper- oder HIV-Antigen positiv sind, oder die HIV ausgesetzt waren.

**[0030]** Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff "im Wesentlichen in Form eines einzigen Isomers", "im Wesentlichen frei von" oder "im Wesentlichen in Abwesenheit von" auf ein Nukleosid, das mindestens zu etwa 95 % in der bezeichneten Stereokonfiguration vorliegt.

**[0031]** Der Begriff Alkyl, wie hier verwendet, bezieht sich, wenn nicht anderweitig angegeben, auf einen gesättigten geradkettigen, verzweigten oder zyklischen, primären, sekundären oder tertiären C<sub>1</sub>- bis C<sub>10</sub>-Kohlenwasserstoff und umfasst insbesondere Methyl, Ethyl, Propyl, Isopropyl, Cyclopropyl, Butyl, Isobutyl, t-Butyl, Cyclobutyl, Pentyl, Cyclopentyl, Isopentyl, Neopentyl, Hexyl, Isohexyl, Cyclohexyl, Cyclohexylmethyl, 3-Methylpentyl, 2,2-Dimethylbutyl und 2,3-Dimethylbutyl. Die Alkylgruppe kann gegebenenfalls mit einer oder mehreren Gruppierungen substituiert sein, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Hydroxyl, Amino, Alkylamino, Arylamino, Alkoxy, Aryloxy, Nitro, Cyano, Sulfonsäure, Sulfat, Phosphonsäure, Phosphat oder Phosphonat, entweder ungeschützt oder, sofern notwendig, geschützt, wie den Fachleuten bekannt, beispielsweise wie bei Greene et al., "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, zweite Ausgabe, 1991 gelehrt. Der Begriff Niederalkyl, wie hier verwendet und wenn nicht anderweitig angegeben, bezieht sich auf eine C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Ethyl-, Propyl-, Butyl-, Pentyl-, Hexyl-, Isopropyl-, Isobutyl-, sek-Butyl- oder t-Butylgruppe. Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff Acyl auf eine Gruppierung der Formel -C(O)R', wobei R' Alkyl; Aryl, Alkaryl, Aralkyl, heteroaromatisch, Alkoxyalkyl, einschließlich Methoxymethyl; Arylalkyl, einschließlich Benzyl; Aryloxalkyl, wie Phenoxymethyl; Aryl, einschließlich Phenyl, gegebenenfalls substituiert mit Halogen, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkoxy, oder der Rest einer Aminosäure ist. Der Begriff Acyl umfasst insbesondere Acetyl, Propionyl, Butyryl, Pentanoyl, 3-Methylbutyryl, Hydrogensuccinat, 3-Chlorbenzoat, Benzoyl, Acetyl, Pivaloyl, Mesylat, Propionyl, Valeryl, Capronat, Caprylat, Caprinat, Laurinat, Myristinat, Palmitinat, Stearinat und Oleinat, ist jedoch nicht darauf begrenzt.

**[0032]** Das L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleosid kann durch Umsetzung mit einem entsprechenden Verestungsmittel, beispielsweise einem Säurehalogenid oder Anhydrid, in einen pharmazeutisch verträglichen Ester umgewandelt werden. Das Nukleosid oder sein pharmazeutisch verträgliches Prodrug kann auf herkömmliche Weise, beispielsweise durch Behandlung mit einer entsprechenden Base oder Säure, in ein pharmazeutisch verträgliches Salz davon umgewandelt werden. Der Ester oder das Salz kann beispielsweise durch Hydrolyse in das Eltern-Nukleosid umgewandelt werden.

**[0033]** Wie hier verwendet, bezieht sich der Begriff pharmazeutisch verträgliche Salze oder Komplexe auf Salze oder Komplexe des L-(2'- oder 3')-A-5-FddC, die die gewünschte biologische Aktivität der Elternverbindung beibehalten und minimale, sofern überhaupt, unerwünschte toxikologische Nebenwirkungen zeigen. Nicht einschränkende Beispiele für solche Salze sind (a) Säure-Additionssalze, gebildet mit anorganischen Säuren (beispielsweise Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Salpetersäure und dergleichen), und Salze, gebildet mit organischen Säuren, wie Essigsäure, Oxalsäure, Weinsäure, Succinsäure, Äpfelsäure, Ascorbinsäure, Benzoësäure, Gerbsäure, Pamoasäure, Alginsäure, Polyglutaminsäure, Naphthalinsulfonsäuren, Naphthalindisulfonsäuren und Polygalacturonsäure; (b) Base-Additionsalze, die mit Kationen gebildet werden, wie Natrium, Kalium, Zink, Calcium, Wismut, Barium, Magnesium, Aluminium, Kupfer, Kobalt, Nickel, Cadmium, Natrium, Kalium und dergleichen, oder mit einem organischen Kation, gebildet aus N,N-Dibenzylethyldiamin, Ammonium oder Ethylendiamin; oder (c) Kombinationen von (a) und (b); z.B. ein Zinktannatsalz oder dergleichen.

**[0034]** Der Begriff Prodrug, wie hier verwendet, bezieht sich auf eine Verbindung, die bei Verabreichung in vivo in das Nukleosid übergeführt wird oder die an sich Aktivität aufweist. Nichteinschränkende Beispiele sind pharmazeutisch verträgliche Salze (alternativ als "physiologisch verträgliche Salze" bezeichnet) und die 5'- und N<sup>4</sup>-acylierten oder alkylierten Derivate der aktiven Verbindung sowie die 5'-Monophosphat-, -Diphosphat- oder -Triphosphat-derivate oder stabilisierte Phosphat-Prodrugs (alternativ als "physiologisch oder pharmazeutisch verträgliche Derivate" bezeichnet) oder Phosphatlipid-Prodrugs, wie hier beschrieben.

**[0035]** Modifikationen der wirksamen Verbindungen, insbesondere an den N<sup>4</sup>- und 5'-O-Positionen, können die Bioverfügbarkeit und die Metabolismusgeschwindigkeit der wirksamen Spezies beeinflussen und somit eine Kontrolle über die Abgabe der wirksamen Spezies bereitstellen.

**[0036]** Ein bevorzugtes Ausführungsbeispiel der vorliegenden Verbindung ist eine Verwendung zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von HIV-Infektionen in Menschen oder anderen Wirtstieren, wobei das Medikament in wirksamer Menge ein oder mehrere eines L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleosids, ausgewählt

aus der Gruppe, bestehend aus L-2'-A-5-FddC und L-3'-A-5-FddC, oder ein physiologisch verträgliches Prodrug davon, einschließlich eines Phosphats, eines 5'- und/oder N<sup>4</sup>-alkylierten oder -acylierten Derivats, oder ein physiologisch verträgliches Salz davon gegebenenfalls in einem pharmazeutisch verträglichen Träger umfasst. Die erfindungsgemäßen Verbindungen besitzen entweder eine Anti-HIV-Aktivität oder werden zu einer Verbindung oder zu Verbindungen metabolisiert, die Anti-HIV-Aktivität aufweisen. Bei einem bevorzugten Ausführungsbeispiel wird das L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleosid im Wesentlichen in Form eines einzigen Isomers, d.h. zu mindestens etwa 95 % in der bezeichneten Stereokonfiguration, verabreicht.

#### Kombinationstherapie oder alternierende Therapie

**[0037]** Es ist bekannt, dass Arzneimittel-resistente Varianten von HIV nach verlängerter Behandlung mit einem antiviralen Mittel auftreten können. Die Arzneimittelresistenz tritt besonders typisch durch Mutation eines Gens auf, das ein Enzym codiert, das im Lebenszyklus des Virus eingesetzt wird. Neuerdings wurde gezeigt, dass die Wirksamkeit eines Arzneimittels gegen HIV-Infektion durch Verabreichung der Verbindung in Kombination oder alternierend mit einer zweiten und vielleicht einer dritten antiviralen Verbindung, die eine von der durch das Hauptarzneimittel verursachte unterschiedliche Mutation auslöst, verlängert, gesteigert oder wiederhergestellt werden kann. Alternativ können Pharmakokinetik, Biodistribution oder ein anderer Parameter des Arzneimittels durch eine solche Kombinations- oder alternierende Therapie geändert werden. Im Allgemeinen ist die Kombinationstherapie typischerweise gegenüber der alternierenden Therapie bevorzugt, da sie mehrere gleichzeitige Belastungen auf das Virus auslöst.

**[0038]** Das zweite antivirale Mittel zur Behandlung von HIV kann bei einem Ausführungsbeispiel ein Reverse Transkriptase-Inhibitor (ein "RTI") sein, der entweder ein synthetisches Nukleosid (ein "NRTI") oder eine Nicht-Nukleosidverbindung (ein "NNRTI") sein kann. Bei einem alternativen Ausführungsbeispiel kann im Falle von HIV das zweite (oder dritte) antivirale Mittel ein Proteaseinhibitor sein. Bei anderen Ausführungsbeispielen kann die zweite (oder dritte) Verbindung ein Pyrophosphat-Analogon- oder ein Fusionsbindungsinhibitor sein. Eine Liste, die die Resistenzdaten zusammenfasst, die in vitro und in vivo für eine Anzahl von antiviralen Verbindungen gesammelt wurden, wird bei Schinazi et al., Mutations in retroviral genes associated with drug resistance, International Antiviral News, Band 1 (4), International Medical Press 1996, gefunden.

**[0039]** Bevorzugte Beispiele für antivirale Mittel, die in Kombination oder abwechselnd mit den hier offebarten Verbindungen für die HIV-Therapie verwendet werden können, umfassen 2-Hydroxymethyl-5-(5-fluorcytosin-1-yl)-1,3-oxathiolan (FTC); das (–)-Enantiomer von 2-Hydroxymethyl-5-(cytosin-1-yl)-1,3-oxathiolan (3TC); Carbovir, Acyclovir, Interferon, AZT, DDI, DDC, D4T, CS-92 (3'-Azido-2',3'-dideoxy-5-methyl-cytidine) und β-D-Dioxolan-Nukleoside, wie β-D-Dioxolanyl-guanin (DXG), β-D-Dioxolanyl-2,6-diaminopurin (DAPD) und β-D-Dioxolanyl-6-chlorpurin (ACP), MKC-442 (6-Benzyl-1-(ethoxymethyl)-5-isopropyluracil).

**[0040]** Bevorzugte Proteaseinhibitoren umfassen Crixivan (Merck), Nelfinavir (Agouron), Ritonavir (Abbot), Saquinavir (Roche) und DMP-450 (DuPont Merck).

**[0041]** Nichteinschränkende Beispiele für Verbindungen, die in Kombination oder alternierend mit einer der erfindungsgemäßen β-L-(2'- oder 3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosine verabreicht werden können, umfassen (1S,4R)-4-[2-Amino-6-cyclopropyl-amino]-9H-purin-9-yl]-2-cyclopenten-1-methanolsuccinat ("1592", ein Carbovir-Analogen; Glaxo Wellcome); 3TC: (–)-β-L-2',3-dideoxy-3'-thiacytidin (Glaxo Wellcome); a-APA R18893: a-Nitroanilinophenylacetamid; A-77003; C2-Symmetrie-basierender Proteaseinhibitor (Abbott); A-75925: C2-Symmetrie-basierender Proteaseinhibitor (Abbott); AAP-BHAP: Bis(heteroaryl)piperazin-Analogen (Upjohn); ABT-538: C2-Symmetrie-basierender Proteaseinhibitor (Abbott); AzddU: 3'-Azido-2',3'-dideoxyuridine; AZT: 3'-Azido-3'-deoxythymidin (Glaxo Wellcome); AZT-p-ddl: 3'-Azido-3'-deoxythymidilyl-(5',5')-2',3'-dideoxyinosinsäure (Ivax); BHAP: Bis(heteroaryl)piperazin; BILA 1906: N-{1S-[[[3-[2S-((1,1-Dimethylethyl)amino]carbonyl)-4R]-3-pyridinylmethyl]thio]-1-piperidinyl}-2R-hydroxy-1S-(phenylmethyl)propyl]amino]carbonyl-2-methylpropyl}-2-chinolincarboxamid (Bio Mega/Boehringer Ingelheim); BILA 2185: N-(1,1-Dimethylethyl)-1-[2S-[[2-2,6-dimethoxyphenoxy)-1-oxoethyl]amino]-2R-hydroxy-4-phenylbutyl]-4R-pyridinyl-thio)-2-piperidincarboxamid (Bio Mega/Boehringer Ingelheim); BM+51.0836: Thiazolo-isoindolinon-Derivat; BMS 186,318: Aminodiol-Derivat-HIV-1-Proteaseinhibitor (Bristol-Myers-Squibb); d4API: 9-[2,5-Dihydro-5-(phosphonomethoxy)-2-furanel]adenin (Gilead); d4C: 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxycytidine; d4T: 2',3'-Didehydro-3'-deoxythymidin (Bristol-Myers-Squibb); ddc: 2',3'-Dideoxycytidine (Roche); ddl: 2',3'-Dideoxyinosine (Bristol-Myers-Squibb); DMP-266: ein 1,4-Dihydro-2H-3,1-benzoxazin-2-on; DMP-450: {[4R-(4-a,5-a,6-b,7-b)]-hexahydro-5,6-bis(hydroxy)-1,3-bis(3-amino)phenyl]-methyl}-4,7-bis(phenylmethyl)-2-N-1,3-diazepin-2-on}-bismesylat (Avid); DXG: (–)-β-D-Dioxolan-guanosin (Triangle); EBU-dM: 5-Ethyl-1-etho-

xymethyl-6-(3,5-dimethylbenzyl)uracil; E-EBU: 5-Ethyl-1-ethoxymethyl-6-benzyluracil; DS: Dextransulfat; E-EPSeU: 1-(Ethoxymethyl)-(6-phenylselenyl)-5-ethyluracil; E-EPU: 1-(Ethoxymethyl)-(6-phenyl-thio)-5-ethyluracil; FTC:  $\beta$ -2',3'-Dideoxy-5-fluor-3'-thiacytidin (Triangle); HBY097: S-4-Isopropoxycarbonyl-6-methoxy-3-(methylthio-methyl)-3,4-dihydrochinoxalin-2-(1H)-thion; HEPT: 1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio)thymin; HIV-I: Human Immunodeficiency Virus Typ 1; JM2763: 1,1'-(1,3-Propandiyil)-bis-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan (Johnson Matthey); JM3100: 1,1'-[1,4-Phenylen-bis(methylene)]-bis-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecan (Johnson Matthey); KNI-272: (2S,3S)-3-Amino-2-hydroxy-4-phenylbuttersäure-enthaltendes Tripeptid; L-697,593: 5-Ethyl-6-methyl-3-(2-phthalimido-ethyl)pyridin-2-(1H)-on; L-735,524: Hydroxy-aminopen-tanamid-HIV-1-Proteaseinhibitor (Merck); L-697,661: 3-{{(-4,7-Dichlor-1,3-benzoxazol-2-yl)methyl} amino}-5-ethyl-6-methylpyridin-2-(1H)-on; L-FDDC: (-)- $\beta$ -L-S-Fluor-2',3'-dideoxycytidin; L-FDOC: (-)- $\beta$ -L-5-Fluor-dioxolancytosin; MKC442: 6-Benzyl-1-ethoxymethyl-5-isopropyluracil (I-EBU; Triangle/Mitsubishi); Nevirapin: 11-Cyclopropyl-5,11-dihydro-4-methyl-6H-dipyridol[3,2-b:2',3'-e]diazepin-6-on (Boehringer-Ingelheim); NSC648400: 1-Benzylxymethyl-5-ethyl-6-(alphapyridylthio)uracil (E-BPTU); P9941: [2-Pyridylacetyl-IlePhe-Ala-y(CHOH)]2 (Dupont Merck); PFA: Phosphonoformiat (Foscarnet; Astra); PMEA: 9-(2-Phosphonylmethoxyethyl)adenin (Gilead); PMPA: (R)-9-(2-Phosphonylmethoxypropyl)adenin (Gilead); Ro 31-8959: Hydroxyethyl-amin-Derivat-HIV-1-Proteaseinhibitor (Roche); RPI-312: Peptidylproteaseinhibitor, 1-[(3s)-3-(n-alpha-Benzoyloxycarbonyl)-1-asparginy]-amino-2-hydroxy-4-phenylbutyryl-n-tert-butyl-1-prolinamid; 2720: 6-Chlor-3,3-dime-thyl-4-(isopropenyloxycarbonyl)-3,4-dihydrochinoxalin-2-(1H)-thion; SC-52151: Hydroxyethylharnstoffisoster-Proteaseinhibitor (Searle); SC-55389A: Hydroxyethylharnstoffisoster-Proteaseinhibitor (Searle); TIBO R82150: (+)-(5S)-4,5,6,7-Tetrahydro-5-methyl-6-(3-methyl-2-but enyl)imidazo[4,5,1-jk][1,4]-benzodiazepin-2-(1H)-thion (Janssen); TIBO 82913: (+)-(5S)-4,5,6,7-Tetrahydro-9-chlor-5-methyl-6-(3-methyl-2-but enyl)imidazo[4,5,1-jk]-[1,4]benzo-diazepin-2-(1H)-thion (Janssen); TSAO-m3T: [2',5-Bis-O-(tert.-butyldimethylsilyl)-3'-spiro-5'-(4'-amino-1',2'-oxathiol-2',2'-dioxid)]-b-D-pentofuranosyl-N3-methylthymin; U90152: 1-[3-[(1-Methylethyl)-amino]-2-pyridinyl]-4-[[5-[(methylsulfonyl)-ainino]-1H-indol-2yl]carbonyl]piperazin; UC: Thiocarboxanilid-Derivate (Uniroyal); UC-781: =N-[4-Chlor-3-(3-methyl-2-butenyloxy)phenyl]-2-methyl-3-fu-rancarbothioamid; UC-82: =N-[4-Chlor-3-(3-methyl-2-butenyloxy)phenyl]-2-methyl-3-thiophencarbothioamid; VB 11,328: Hydroxyethylsulfonamid-Proteaseinhibitor (Vertex); VX-478: Hydroxyethylsulfonamide-Proteasein-hibitor (Vertex); XM 323: cyclischer Harnstoff-Proteaseinhibitor (Dupont Merck) oder DMP-266 (Efavirenz, Sus-tiva).

### Herstellung der wirksamen Verbindungen

#### Stereochemie

**[0042]** Da die 1'- und 4'-Kohlenstoffe der Zucker- oder Dioxolanylgruppierung (nachstehend generisch als Zuckergruppierung bezeichnet) der Nukleoside chiral sind, können ihre Nicht-Wasserstoffsubstituenten ( $\text{CH}_2\text{OR}$  und die Pyrimidin- bzw. Purinbase) entweder cis (auf der gleichen Seite) oder trans (auf gegenüberliegenden Seiten) bezüglich des Zucker-Ringsystems liegen. Die vier optischen Isomere werden darum durch die folgenden Konfigurationen dargestellt (bei Orientierung der Zuckergruppierung in einer horizontalen Ebene derart, dass der "primäre" Sauerstoff (derjenige zwischen dem C1'- und C4'-Atom) nach hinten zeigt): " $\beta$ " oder "cis" (wobei beide Gruppen "nach oben" weisen, was der Konfiguration von natürlich vorkommenden Nukleosiden entspricht, das heißt die D-Konfiguration), " $\beta$ " oder cis (beide Gruppen weisen nach "unten", was eine nicht natürlich vorkommende Konfiguration ist, das heißt die L-Konfiguration), "a" oder "trans" (wobei der C2-Sub-stituent nach "oben" und der C5-Substituent nach "unten" weist) und trans (wobei der C2-Substituent nach "unten" und der C5-Substituent nach "oben" weist).

**[0043]** Die erfindungsgemäßen wirksamen Nukleoside liegen in der  $\beta$ -L-Konfiguration vor, mit der Azidogrup-pe in der Ribosylkonfiguration.

#### Nukleotid-Prodrugs

**[0044]** Jedes der hier beschriebenen Nukleoside kann als stabilisiertes Nukleotid-Prodrug verabreicht wer-den, um die Aktivität, die Bioverfügbarkeit oder die Stabilität zu erhöhen oder die Eigenschaften des Nukleosids anderweitig zu verändern. Eine Anzahl von Nukleotid-Prodrug-Liganden ist bekannt. Im Allgemeinen erhöhen Alkylierung, Acylierung oder eine andere lipophile Modifikation des Mono-, Di- oder Triphosphats des Nukleo-sids die Stabilität des Nukleotids. Beispiele für Substituentengruppen, die ein oder mehrere Wasserstoffe an der Phosphatgruppierung ersetzen können, sind Alkyl, Aryl, Steroide, Kohlehydrate, einschließlich von Zu-ckern, 1,2-Diacylglycerin und Alkoholen. Viele sind bei R. Jones und N. Bischofsberger, Antiviral Research, 27 (1995) 1-17, beschrieben. Jedes von ihnen kann in Kombination mit den offebarten Nukleosiden verwendet werden, um eine gewünschte Wirkung zu erreichen.

**[0045]** Bei einer Ausführungsbeispiel wird das L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleosid als lipophiles 5'-Hydroxyl-Prodrug, d. h. als 5'-Etherlipid oder 5'-Phosphoetherlipid, bereitgestellt. Nichteinschränkende Beispiele der US-Patentschriften, die geeignete lipophile Substituenten, die kovalent in das Nukleosid vorzugsweise an der 5'-OH-Position des Nukleosids eingebaut werden können, oder lipophile Präparationen offenbaren, umfassen die US-Patentschriften Nrn. 5,149,794 (22. Sep. 1992, Yatvin et al.); 5,194,654 (16. März 1993, Hostetler et al., 5,223,263 (29. Juni 1993, Hostetler et al.); 5,256,641 (26 Okt. 1993, Yatvin et al.); 5,411,947 (2. Mai 1995, Hostetler et al.); 5,463,092 (31. Okt. 1995, Hostetler et al.); 5,543,389 (6. Aug. 1996, Yatvin et al.); 5,543,390 (6. Aug. 1996, Yatvin et al.); 5,543,391 (6. Aug. 1996, Yatvin et al.); und 5,554,728 (10. Sep. 1996; Basava et al.).

**[0046]** Ausländische Patentanmeldungen, die lipophile Substituenten, die an das erfindungsgemäße L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleosidderivat gebunden werden können, oder lipophile Präparationen offenbaren, umfassen WO 89/02733, WO 90/00555, WO 91/16920, WO 91/189, WO 93/00910, WO 94/26273, WO 96/15132, EP 0 350 287, EP 93917054.4 und WO 91/19721.

**[0047]** Zusätzliche Nichteinschränkende Beispiele für L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleoside sind diejenigen, die Substituenten enthalten, wie in den folgenden Veröffentlichungen beschrieben. Diese derivatisierten Nukleoside können für die in dem Text beschriebenen Indikationen oder anderweitig als antivirale Mittel, einschließlich als Anti-HIV-Mittel angewandt werden. Ho, D.H.W. (1973) Distribution of Kinase and deaminase of 1b-D-arabinofuranosylcytosine in tissues of man and mouse. *Cancer Res.* 33, 2816-2820; Holy, A. (1993) Isopolar phosphorous-modified nucleotide analogues. In: De Clercq (Hrsg.), *Advances in Antiviral Drug Design*, Band. I, JAI Press, Ss. 179-231; Hong, C.I., Nechaev, A. und West, C.R. (1979a) Synthesis and antitumor activity of 1b-D-arabinofuranosylcytosine conjugates of cortisol and cortisone. *Biochem. Biophys. Rs. Commun.* 88, 1223-1229; Hong, C.I., Nechaev, A., Kirisits, A.J. Buchheit, D.J. und West, C.R. (1980) Nukleoside conjugates as potential antitumor agents. 3. Synthesis and antitumor activity of 1-(b-D-arabinofuranosyl)cytosine conjugates of corticosteroids and selected lipophilic alcohols. *J. Med. Chem.* 28, 171-177; Hostetler, K.Y., Stuhmiller, L.M., Lenting, H.B.M., van den Bosch, H. und Richman, D.D. (1990) Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides. *J. Biol. Chem.* 265, 6112-6117; Hostetler, K.Y., Carson, D.A. und Richman, D.D. (1991) Phosphatidylazidothymidine: mechanism of antiretroviral action in CEM cells. *J. Biol. Chem.* 266, 11714-11717; Hostetler, K.Y., Korba, B., Sridhar, C., Gardener, M. (1994a) Antiviral activity of phosphatidyl-dideoxycytidine in hepatitis B-infected cells and enhanced hepatic uptake in mice. *Antiviral Res.* 24, 59-67; Hostetler, K.Y., Richman, D.D., Sridhar, C.N. Felgner, P.L., Felgner, J., Ricci, J., Gardener, M.F., Selleseth, D.W. und Ellis, M.N. (1994b) Phosphatidylazidothymidine and phosphatidyl-ddC: Assessment of uptake in mouse lymphoid tissues and antiviral activities in human immunodeficiency virus-infected cells and in rauscher leukemia virus-infected mice. *Antimicrobial Agents Chemother.* 38, 2792-2797; Hunston, R.N., Jones, A.A. McGuigan, C., Walker, R.T., Balzarini, J. und De Clercq, E. (1984) Synthesis and biological properties of some cyclic phosphotriesters derived from 2'-deoxy-5-fluorouridine. *J. Med. Chem.* 27, 440-444; Ji, Y.H., Moog, C., Schmitt, G., Bischoff, P. und Luu, B. (1990) Monophosphoric acid diesters of 7b-hydroxycholesterol and of pyrimidine nucleosides as potential antitumor agents: synthesis and preliminary evaluation of antitumor activity. *J. Med. Chem.* 33, 2264-2270; Jones, A.S., McGuigan, C., Walker, R.T., Balzarini, J. und DeClercq, E. (1984) Synthesis, properties, and biological activity of some nucleoside cyclic phosphoramidates. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I*, 1471-1474; Juodka, B.A. und Smart, J. (1974) Synthesis of ditribonucleoside a(P→N) amino acid derivatives. *Coll. Czech. Chem. Comm.* 39, 363-968; Kataoka, S., Imai, J., Yamaji, N., Kato, M., Saito, M., Kawada, T. und Imai, S. (1989) Alkylated cAMP derivatives: selective synthesis and biological activities. *Nucleic Acids Res. Sym. Ser.*, 21, 1-2; Kataoka, S., Uchida, R. und Yamaji, N. (1991) A convenient synthesis of adenosine 3',5' cyclic phosphate (cAMP) benzyl and methyl triesters. *Heterocycles* 32, 1351-1356; Kinchington, D., Harvey, J.J., O'Connor, T.J., Jones, B.C.N.M., Devine, K.G., Taylor-Robinson, D., Jeffries, D.J. und McGuigan, C. (1992) Comparison of antiviral effects of zidovudine phosphoramidate and phosphordiamidate derivatives against HIV and ULV in vitro. *Antiviral Chem. Chemother.* 3, 107-112; Kodama, K., Morozumi, M., Saitoh, K.I., Kuninaka, H., Yoshino, H. und Saneyoshi, M. (1989) Antitumor activity and pharmacology of 1-b-D-arabinofuranosylcytosine-5'-stearylphosphate; an orally active derivative of 1-b-D-arabinofuranosylcytosine. *Jpn. J. Cancer Res.* 80, 679-685; Korty, M. und Engels, J. (1979) The effects of adenosine- and guanosine 3',5'-phosphoric and acid benzyl esters on guinea-pig ventricular myocardium. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 310, 103-111; Kumar, A., Goe, P.L., Jones, A.S., Walker, R.T., Balzarini, J. und De Clercq, E. (1990) Synthesis and biological evaluation of some cyclic phosphoramidate nucleoside derivatives. *J. Med. Chem.* 33, 2368-2375; LeBec, C. und Huynh-Dinh, T. (1991) Synthesis of lipophilic phosphate triester derivatives of 5-fluorouridine and arabinocytidine as anticancer prodrugs. *Tetrahedron Lett.* 32, 6553-6556; Lichtenstein, J., Barner, H.D. und Cohen, S.S. (1960) The metabolism of exogenously supplied nucleotides by *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* 235, 457-465; Lucthy, J., Von Daeniken, A., Friederich, J., Manthey, B., Zweifel, J., Schlatter, C. und Benn, M.H. (1981) Synthesis and toxicological properties of three

naturally occurring cyanoepithioalkanes. Mitt. Geg. Lebensmittelunters. Hyg. 72, 131-133 (Chem. Abstr. 95, 127093); McGuigan, C., Tollerfield, S.M. und Riley, P. A. (1989) Synthesis and biological evaluation of some phosphate triester derivatives of the anti-viral drug Ara. Nucleic Acids Res. 17, 6065-6075; McGuigan, C., Devine, K.G., O'Connor, T.J., Galpin, S.A., Jeffries, D. J. und Kinchington, D. (1990a) Synthesis and evaluation of some novel phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) as anti-HIV compounds. Antiviral Chem. Chemother. 1, 107-113; McGuigan, C., O'Connor, T.J., Nicholls, S.R., Nickson, C. und Kinchington, D. (1990b) Synthesis and anti-HIV activity of some novel substituted dialkyl phosphate derivatives of AZT and ddCyd. Antiviral Chem. Chemother. 1, 355-360; McGuigan, C., Nicholls, S.R., O'Connor, T.J. und Kinchington, D. (1990c) Synthesis of some novel dialkyl phosphate derivative of 3'-modified nucleosides as potential anti-AIDS drugs. Antiviral Chem. Chemother. 1, 25-33; McGuigan, C., Devine, K.G., O'Connor, T.J. und Kinchington, D. (1991) Synthesis and anti-HIV activity of some haloalkyl phosphoramidate derivatives of 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT); potent activity of the trichloroethyl methoxyalaninyl compound. Antiviral Res. 15, 255-263; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Mahmood, N., Devine, K.G. und Hay, A.J. (1992) Aryl phosphate derivatives of AZT retain activity against HIV-1 in cell lines which are resistant to the action of AZT. Antiviral Res. 17, 311-321; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Choi, S.M., Kinchington, D. und O'Connor, T.J. (1993a) Phosphoramidate derivatives of AZT as inhibitors of HIV; studies on the carboxyl terminus. Antiviral Chem. Chemother. 4, 97-101; McGuigan, C., Pathirana, R.N., Balzarini, J. und De Clercq, E. (1993b) Intracellular delivery of bioactive AZT nucleotides by aryl phosphate derivatives of AZT. J. Med. Chem. 36, 1048-1052.

**[0048]** Die L-(2'- oder 3')-A-5-FddC-Nukleoside einer anderen Ausführungsform können als 5'-Etherlipid oder ein 5'-Phospholipidether bereitgestellt sein, wie in den folgenden Druckschriften offenbart: Kucera, L.S., N. Lyer, E. Leake, A. Raben, Modest E.J., D.L.W. und C. Piantadosi. 1990. Novel membrane-interactive ether lipid analogs that inhibit infectious NIV-1 production and induce defective virus formation. AIDS Res Hum Retroviruses. 6: 491-501; Piantadosi, C., J. Marasco C.J., S.L. morris-Natschke, K.L. Meyer, F. Gumus, J.R. Surles, K.S. Ishaq, L.S. Kucera, N. Iyer, C.A. Wallen, S. Piantadosi und E.J. Modest. 1991 – Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV activity. J Med Chem. 34: 1408-1414; Hostetler, K.Y., D.D. Richman, D.A. Carson, L.M. Stuhmiller, G.M.T. van Wijk und H. van den Bosch. 1992. Greatly enhanced inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication in CEM and HT4-6C cells by 31-deoxythymidine diphosphate dimyristoylglycerol, a lipid prodrug of 31-deoxythymidine. Antimicrob Agents Chemother. 36: 2025-2029; Hostetler, K.Y., L.M. Stuhmiller, H.B. Lenting, H. van den Bosch und D.D. Richman. 1990. Synthesis and antiretroviral activity of phospholipid analogs of azidothymidine and other antiviral nucleosides. J. Biol. Chem. 265: 6112-7.

**[0049]** The question of chair-twist equilibria for the phosphate rings of nucleoside cyclic 3',5'-monophosphates. <sup>1</sup>HNMR and x-ray crystallographic study of the diasteromers of thymidine phenyl cyclic 3',5'-monophosphate. J. Am. Chem. Soc. 109, 4058-4064; Nerbonne, J.M., Richard, S., Nargeot, J. und Lester, H.A. (1984) New photoactivatable cyclic nucleotides produce intracellular jumps in cyclic AMP and cyclic GMP concentrations. Nature 301, 74-76; Neumann, J.M., Hervé, M., Debouzy, J.C., Guerra, F.I., Gouyette, C., Dupraz, B. und Huynh-Dinh, T. (1989) Synthesis and transmembrane transport studies by NMR of a glucosyl phospholipid of thymidine. J. Am. Chem. Soc. 111, 4270-4277; Ohno, R., Tatsumi, N., Hirano, M., Imai, K. Mizoguchi, H., Nakamura, T., Kosaka, M., Takatuski, K., Yamaya, T., Toyama, K., Yoshida, T., Masaoka, T., Hashimoto, S., Oshima, T., Kimura, I., Yamada, K. und Kimura, J. (1991) Treatment of myelodysplastic syndromes with orally administered 1-b-D-rabinofuranosylcytosine-5'-stearylphosphate. Oncology 48, 451-455. Palomino, E., Kessle, D. und Horwitz, J.P. (1989) A dihydropyridine carrier system for sustained delivery of 2',3'-dideoxynucleosides to the brain. J. Med. Chem. 32, 622-625; Perkins, R.M., Barney, S., Wittrock, R., Clark, P.H., Levin, R. Lambert, D.M., Petteway, S.R., Serafinowska, H.T., Bailey, S.M., Jackson, S., Harnden, M.R. Ashton, R., Sutton, D., Harvey, J.J. und Brown, A.G. (1993) Activity of BRL47923 and its oral prodrug, SB203657A against a rauscher murine leukemia virus infection in mice. Antiviral Res. 20 (Suppl. I). 84; Piantadosi, C., Marasco, C.J., Jr., Morris-Natschke, S.L., Meyer, K.L., Gumus, F., Surles, J.R., Ishaq, K.S., Kucera, L.S. Iyer, N., Wallen, C.A., Piantadosi, S. und Modest, E.J. (1991) Synthesis and evaluation of novel ether lipid nucleoside conjugates for anti-HIV-1 activity. J. Med. Chem. 34, 1408-1414; Pompon, A., Lefebvre, I., Imbach, J.L., Kahn, S. und Farquhar, D. (1994) Decomposition pathways of the mono-and bis(pivaloyloxymethyl) esters of azidothymidine-5'-monophosphate in cell extract and in tissue culture medium; an application of the 'on-line ISRP-cleaning' HPLC technique. Antiviral Chem. Chemother. 5, 91-98; Postemark, T. (1974) Cyclic AMP and cyclic GMP. Annu. Rev. Pharmacol. 14, 23-33; Prisbe, E.J., Martin, J. C.M., McGee, D.P.C., Barker, M.F., Smee, D.F. Duke, A.E., Matthews, T.R. und Verheyden, J.P.J. (1986) Synthesis and antiherpes virus activity of phosphate and phosphonate derivatives of 9-[(1,3-dihydroxy-2-propoxy)methyl]guanine. J. Med. Chem. 29, 671-675; Pucch, F., Gosselin, G., Lefebvre, I., Pompon, A., Aubertin, A.M. Dirn, A. und Imbach, J.L. (1993) Intracellular delivery of nucleoside monophosphate through a reductase-mediated activation process. Antiviral Res. 22, 155-174; Pu-gaeva, V.P., Klochkeva, S.I., Mashbits, F.D. und Eizengart, R.S. (1969). Toxicological assessment and health

standard ratings for ethylene sulfide in the industrial atmosphere. Gig. Trf. Prof. Zabol. 13, 47-48 (Chem. Abstr. 72, 212); Robins, R.K. (1984) The potential of nucleotide analogs as inhibitors of retroviruses and tumors. Pharm. Res. 11-18; Rosowsky, A., Kim, S.H., Ross und J. Wick, M.M. (1982) Lipophilic 5'-alkylphosphate esters of 1-b-D-arabinofuranosylcytosine and its N<sup>4</sup>-acyl and 2,2'-anhydro-3'0-acyl derivatives as potential prodrugs. J. Med. Chem. 25, 171-178; Ross, W. (1961) Increased sensitivity of the Walker tumor towards aromatic nitrogen mustards carrying basic side chains following glucose pretreatment. Biochem. Pharm. 8, 235-240; Ryu, E.K., Ross, R.J. Matsushita, T., MacCoss, M., Hong, C.I. und West, C.R. (1982). Phospholipid-nucleoside conjugates. 3. Synthesis and preliminary biological evaluation of 1-b-D-arabinofuranosylcytosine 5'-diphosphate[-], 2-diacylglycerols. J. Med. Chem. 25, 1322-1329; Saffhill, R. und Hume, W.J. (1986) The degradation of 5-iododeoxyuridine and 5-bromodeoxyuridine by serum from different sources and its consequences for the use of these compounds for incorporation into DNA. Chem. Biol. Interact. 57, 347-355; Saneyoshi, M., Morozumi, M., Kodama, K., Machida, J., Kuninaka, A. und Yoshino, H. (1980) Synthetic nucleosides and nucleotides. XVI. Synthesis and biological evaluations of a series of 1-b-D-arabinofuranosylcytosine 5'-alkyl or aryl-phosphates. Chem. Pharm. Bull. 28, 2915-2923; Sastry, J.K., Nehete, P.N., Khan, S., Nowak, B.J., Plunkett, W., Arlinghaus, R.B. und Farquhar, D. (1992) Membrane-permeable dideoxyuridine 5'-monophosphate analogue inhibits human immunodeficiency virus infection. Mol. Pharmacol. 41, 441-445; Shaw, J.P., Jones, R.J. Arimilli, M.N., Louie, M.S., Lee, W.A. und Cundy, K.C. (1994) Oral bioavailability of PMEA from PMEA prodrugs in male Sprague-Dawley rats. 9th Annual AAPS Meeting. San Diego, CA (Abstract). Shuto, S., Ueda, S., Ima-mura, S., Fukukawa, K. Matsuda, A. und Ueda, T. (1987) A facile one-step synthesis of 5'-phosphatidylnucleosides by an enzymatic two-phase reaction. Tetrahedron Lett. 28, 199-202; Shuto, S., Itoh, H., Ueda, S., Ima-mura, S., Kukukawa, K., Tsujino, M., Matsuda, A. und Ueda, T. (1988) A facile enzymatic synthesis of 5'-(3-sn-phosphatidyl)nucleosides and their antileukemic activities. Chem. Pharm. Bull. 36, 209-217. One preferred phosphate prodrug group is the S-acyl-2-thioethyl group, also referred to as "SATE."

**[0050]** Ein allgemeines Verfahren für die stereospezifische Synthese von 3'-substituierten β-L-Dideoxynukleosiden ist in [Fig. 1](#) gezeigt. Ein allgemeines Verfahren für die stereospezifische Synthese von 2'-substituierten β-L-Dideoxynukleosiden ist in [Fig. 2](#) gezeigt. Eine ausführliche Synthese von β-L-(3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin ist in [Fig. 3](#) und in Beispiel 1 nachstehend bereitgestellt. Eine ausführliche Synthese von β-L-(2'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin ist in [Fig. 4](#) und in Beispiel 2 nachstehend bereitgestellt.

#### Beispiel 1 Herstellung von R-L-(3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin

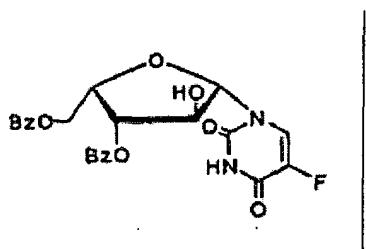
**[0051]** Die Schmelzpunkte wurden in offenen Kapillarröhrchen auf einem Gallenkamp MFB-595-010 M Gerät bestimmt und sind unkorrigiert. Die UV-Absorptionsspektren wurden auf einem Uvikon 931 (KONTRON) Spektralphotometer in Ethanol aufgenommen. Die <sup>1</sup>H-NMR-Spektren wurden bei Raumtemperatur in DMSO-d<sub>6</sub> mit einem Bruker AC 250- oder 400-Spektrometer aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben, wobei DMSO-d<sub>6</sub> bei 2,49 ppm als Referenz eingestellt wurde. Deuteriumaustausch-Entkopplungs-experimente oder 2D-COSY wurden zur Bestätigung der Protonenzuordnungen durchgeführt. Die Signalmultiplizitäten werden durch s (Singulett), d (Dublett), dd (Doppeldublett), t (Triplet), q (Quadruplett), br (breit), m (Multiplett) angegeben. Alle J-Werte sind in Hz angegeben. Die FAB-Massenspektren wurden im positiven (FAB > 0) oder negativen (FAB < 0) Ionenmodus auf einem JEOL DX 300-Massenspektrometer aufgezeichnet. Die Matrix war 3-Nitrobenzylalkohol (NBA) oder ein Gemisch (50:50, Vol./Vol.) von Glycerin und Thioglycerin (GT). Die spezifischen Rotationen wurden auf einem Perkin-Elmer 241-Spektralpolarimeter (Weglänge 1 cm) gemessen und sind in den Einheiten 10<sup>-1</sup> deg cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup> angegeben. Die Elementaranalysen wurden von "Service de Microanalyses du CNRS, Division de Venaissin" (Frankreich) durchgeführt. Die durch die Symbole der Elemente angegebenen Analysen oder Funktionen lagen innerhalb von ± 0,4 % der theoretischen Werte. Die Dünnschichtchromatographie wurde auf vorbeschichteten Silica-Gel 60 F<sub>254</sub>-Aluminiumfolien (Merck, Art. 5554) durchgeführt, wobei die Sichtbarmachung der Produkte durch UV-Extraktion und anschließende Verkohlung mit 10 % ethanolischer Schwefelsäure und Erhitzen erreicht wurde. Die Säulenchromatographie wurde auf Silica-Gel 60 (Merck, Art. 9385) unter Atmosphärendruck durchgeführt.

#### 1-(2-O-Acetyl-3,5-di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)-5-fluoruracil (2)

**[0052]** Eine Suspension von 5-Fluoruracil (5,0 g, 38,4 mmol) wurde 18 h unter Rückfluss mit Hexamethyldisilazan (HMDS, 260 ml) und einer katalytischen Menge von Ammoniumsulfat behandelt. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Gemisch unter reduziertem Druck eingedampft, und der als farbloses Öl erhaltene Rückstand wurde mit wasserfreiem 1,2-Dichlorethan (260 ml) verdünnt. Der resultierenden Lösung wurden 1,2-Di-O-acetyl-3,5-di-O-benzoyl-L-xylofuranose 1 (11,3 g, 25,6 mmol) [Ref.: Gosselin, G.; Bergogne, M.-C.; Imbach, J.-L., "Synthesis and Antiviral Evaluation of β-L-Xylofuranosyl Nucleosides of the Five Naturally Occurring Nucleic Acid Bases", Journal of Heterocyclic Chemistry, 1993,30 (Okt.-Nov.), 1229-1233] in wasser-

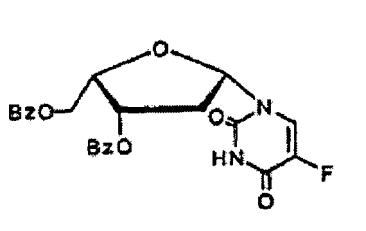
freiem 1,2-Dichlorethan (130 ml) und anschließend Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSTf, 9,3 ml, 51,15 mmol) zugesetzt. Die Lösung wurde 6 h bei Raumtemperatur unter einer Argonatmosphäre gerührt, anschließend mit Chloroform (1 l) verdünnt und mit dem gleichen Volumen einer gesättigten wässrigen Natriumhydrogencarbonatlösung und schließlich mit Wasser ( $2 \times 800$  ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und anschließend unter reduziertem Druck eingedampft. Das resultierende Rohmaterial wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-4 %) in Methylenechlorid] unter Erhalt von 2 (11,0 g, 84 % Ausbeute) als weißer Schaum gereinigt. Fp. = 96-98°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}} = 228$  nm ( $\epsilon = 25900$ ) 266 nm ( $\epsilon = 9000$ ),  $\lambda_{\text{min}} = 250$  nm ( $\epsilon = 7200$ );  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  11,1 (br s, 1H, NH), 8,05 (1H, H-6,  $J_{6-\text{F5}} = 6,8$  Hz), 7,9-7,4 (m, 10H, 2 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO), 5,99 (d, 1H, H-1',  $J_{1'-2'} = 3,1$  Hz), 5,74 (dd, 1H, H-3',  $J_{3'-2'} = 4,2$  Hz und  $J_{3'-4'} = 2,3$  Hz), 5,54 (t, 1H, H-2',  $J_{2'-1'} = J_{2'-3'} = 2,9$  Hz), 4,8-4,6 (m, 3H, H-4', H-5' und H-5"); MS: FAB > 0 (Matrix GT) m/z 513 (M+H)<sup>+</sup>, 383 (S)<sup>+</sup>, 105 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>; FAB < 0 (Matrix GT) m/z 511 (M-H)<sup>-</sup>, 469 (M-CH<sub>3</sub>CO)<sup>-</sup>, 129 (B)<sup>-</sup>, 121 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -91$  (c, 0,88 DMSO); Anal. C<sub>25</sub>H<sub>21</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>9</sub> (C, H, N, F).

### 1-(3, 5-Di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)-5-fluoruracil 3



**[0053]** Hydrazinhydrat (2,80 ml, 57,4 mmol) wurde einer Lösung von 1-(2-O-Acetyl-3,5-di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)-5-fluoruracil 2 (9,80 g, 19,1 mmol) in Essigsäure (35 ml) und Pyridin (150 ml) zugesetzt. Die resultierende Lösung wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Aceton (50 ml) wurde zugesetzt, und das Gemisch wurde 2 h gerührt. Das Reaktionsgemisch wurde auf ein kleines Volumen konzentriert und zwischen Ethylacetat (200 ml) und Wasser (200 ml) verteilt. Die Schichten wurden getrennt, und die organische Phase wurde mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 200$  ml) und schließlich mit Wasser ( $2 \times 200$  ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und anschließend unter reduziertem Druck eingedampft. Der resultierende Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-5 %) in Methylenechlorid] gereinigt, um reines 3 (7,82 g, 87 %) zu erhalten, welches aus Methylenechlorid auskristallisiert wurde; Fp. = 93-97°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}} = 227$  nm ( $\epsilon = 22800$ ) 267 nm ( $\epsilon = 8200$ ),  $\lambda_{\text{min}} = 249$  nm ( $\epsilon = 5900$ );  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  11,9 (br s, 1H, NH), 8,06 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F5}} = 6,9$  Hz), 8,0-7,4 (m, 10H, 2 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO), 6,35 (d, 1H, OH-2',  $J_{\text{OH}-2'} = 3,8$  Hz), 5,77 (d, 1H, H-1',  $J_{1'-2'} = 3,3$  Hz), 5,43 (dd, 1H, H-3',  $J_{3'-2'} = 3,1$  Hz und  $J_{3'-4'} = 1,9$  Hz) 4,8-4,6 (m, 3H, H-4', H-5' und H-5"), 4,43 (t, 1H, H-2',  $J = 2,3$  Hz); MS: FAB > 0 (Matrix GT) m/z 941 (2M+H)<sup>+</sup>, 471 (M+H)<sup>+</sup>, 341 (S)<sup>+</sup>, 131 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 105 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>; FAB < 0 (Matrix GT) m/z 939 (2M-H)<sup>-</sup>, 469 (M-H)<sup>-</sup>, 129 (B)<sup>-</sup>, 121 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = 110$  (c, 1,55 DMSO).

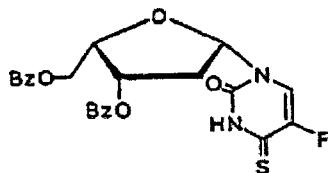
### 1-(2-Deoxy-3,5-di-O-benzoyl-β-L-threo-pentofuranosyl)-5-fluoruracil 5



**[0054]** Einer Lösung von 1-(3,5-Di-O-benzoyl-β-L-xylofuranosyl)-5-fluoruracil 3 (15,4 g, 32,7 mmol) in wasserfreiem Acetonitril (650 ml) wurden O-Phenylchlorthionoformiat (6,80 ml, 49,1 mmol) und 4-Dimethylaminopyridin (DMAP, 12,0 g, 98,2 mmol) zugesetzt. Die resultierende Lösung wurde 1 h bei Raumtemperatur unter Argon gerührt und anschließend unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde in Methylenechlorid (350 ml) gelöst, und die organische Lösung wurde nacheinander mit Wasser ( $2 \times 250$  ml), eiskalter 0,5 N Chlorwasserstoffsäure (250 ml) und Wasser ( $2 \times 250$  ml) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Das rohe Material 4 wurde mehrmals zusammen mit wasserfreiem Dioxan eingedampft und in diesem Lösungsmittel (265 ml) gelöst. Der resultierenden Lösung wurden unter Argon Tris(trimethylsilyl)silanhydrid (12,1 ml, 39,3 mmol) und  $\alpha,\alpha'$ -Azoisobutyronitril (AIBN, 1,74 g, 10,8 mmol) zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde erhitzt und bei 100°C 2,5 h unter Argon gerührt, anschließend auf Raumtempe-

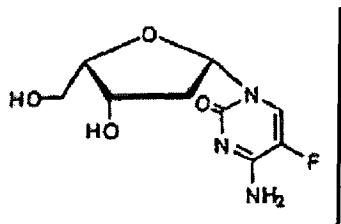
ratur abgekühlt und unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-2 %) in Chloroform] gereinigt, um reines 5 (13,0 g, 87 %) zu ergeben, welches aus einem Diethylether/Methanol-Gemisch auskristallisiert wurde; Fp. = 182-184°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  = 229 nm (s = 25800), 269 nm ( $\epsilon$  = 9300),  $\lambda_{\text{min}}$  = 251 nm ( $\epsilon$  = 6500);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  11,8 (br s, 1H, NH), 8,05 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F}5}$  = 7,0 Hz), 8,0-7,4 (m, 10H, 2 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO), 6,15 (d, 1H, H-1',  $J_{1'-2'}$  = 7,4 Hz), 5,68 (t, 1H, H-3',  $J_{3'-2'} = J_{3'-4'} = 4,2$  Hz), 4,8-4,6 (m, 2H, H-5' und H"-5), 4,6 (m, 1H, H-4'), 3,0-2,8 (m, 1H, H-2'), 2,5-2,3 (d, 1H, H-2",  $J$  = 14,8 Hz); MS: FAB > 0 (Matrix GT) m/z 455 (M+H)<sup>+</sup>, 325 (S)<sup>+</sup>, 131 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 105 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>; FAB < 0 (Matrix GT) m/z 452 (M-H)<sup>-</sup>, 129 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -125$  (c 1,05 DMSO); Anal. C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (C, H, N, F).

### 1-(2-Deoxy-3,5-di-O-benzoyl-β-L-threo-pentofuranosyl)-4-thio-5-fluoruracil 6

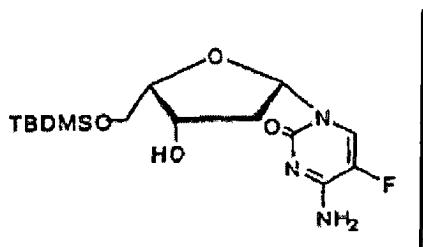


**[0055]** Lawesson-Reagenz (3,1 g, 7,70 mmol) wurde unter Argon zu einer Lösung von 5 (5,0 g, 11,0 mmol) in wasserfreiem 1,2-Dichlorethan (200 ml) zugesetzt, und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht unter Rückfluss gerührt. Anschließend wurde das Lösungsmittel unter reduziertem Druck eingedampft, und der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von methanol (0-2 %) in Chloroform] gereinigt, um die 4-Thio-Zwischenstufe 6 (80 % Ausbeute) als gelben Schaum zu ergeben; Fp. = 178-179°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  = 230 nm ( $\epsilon$  = 24900), 273 nm ( $\epsilon$  = 6900), 333 nm ( $\epsilon$  = 19200),  $\lambda_{\text{min}}$  = 258 nm ( $\epsilon$  = 5900), 289 nm ( $\epsilon$  = 5300);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  13,1 (br s, 1H, NH), 8,10 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F}5}$  = 4,6 Hz), 8,1-7,4 (m, 10H, 2 C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO), 6,09 (d, 1H, H-1',  $J_{1'-2'} = 7,3$  Hz), 5,68 (t, 1H, H-3',  $J_{3'-2'} = J_{3'-4'} = 4,1$  Hz), 4,9-4,8 (m, 2H, H-5' und H-5"), 4,7 (m, 1H, H-4'), 2,9 (m, 1H, H-2'), 2,5 (m, 1H, H-2"); MS: FAB > 0 (Matrix GT) m/z 941 (2M+H)<sup>+</sup>, 471 (M+H)<sup>+</sup>, 325 (S)<sup>+</sup>, 147 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 105 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>; FAB < 0 (Matrix GT) m/z 469 (M-H)<sup>-</sup>, 145 (B)<sup>-</sup>, 121 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -271$  (c, 0,90 DMSO); Anal. C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>S (C, H, N, F).

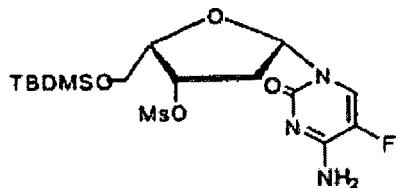
### 1-(2-Deoxy-β-L-threo-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 7



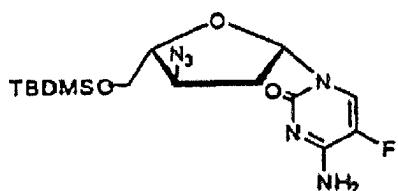
**[0056]** Eine Lösung dieser 4-Thio-Zwischenstufe 6 (1,0 g, 2,13 mmol) in methanolischem Ammoniak (zuvor bei -10°C gesättigt und fest verschlossen) (60 ml) wurde bei 100°C in einer Edelstahlbombe 3 h erhitzt und sodann auf 0°C abgekühlt. Die Lösung wurde unter reduziertem Druck zur Trockne eingedampft und der Rückstand mehrmals zusammen mit Methanol eingedampft. Das Rohmaterial wurde in Wasser gelöst, und die resultierende Lösung wurde viermal mit Methylenechlorid gewaschen. Die wässrige Schicht wurde unter reduziertem Druck eingedampft und der Rückstand durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (3-20 %) in Methylenchlorid] gereinigt. Schließlich wurden die entsprechenden Fraktionen unter reduziertem Druck eingedampft, mit Methanol verdünnt und über eine Millex-HV-4-Einheit (0,45 µm, Millipore) filtriert, um 0,44 g 7 (Ausbeute 84 %) bereitzustellen, welches aus einem Gemisch von Ethylacetat/Methanol auskristallisiert wurde. Fp. = 199-201°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  = 226 nm (s = 7700), 281 nm ( $\epsilon$  = 8500),  $\lambda_{\text{min}}$  = 262 nm ( $\epsilon$  = 6300);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  7,99 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F}5}$  = 7,4 Hz), 7,7-7,4 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,98 (d, 1H, H-1',  $J_{1'-2'} = 8,1$  Hz), 5,25 (d, 1H, OH-3',  $J_{\text{OH}-3'} = 3,4$  Hz), 4,71 (t, 1H, OH-5',  $J_{\text{OH}-5'} = J_{\text{OH}-5''} = 5,6$  Hz), 4,2 (m, 1H, H-3'), 3,8-3,6 (m, 3H, H-4', H-5'und H-5"), 2,5 (m, 1H, H-2'), 1,8 (m, 1H, H-2"); MS: FAB > 0 (Matrix GT) m/z 491 (2M+H)<sup>+</sup>, 246 (M+H)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 (Matrix GT) m/z 489 (2M-H)<sup>-</sup>, 244 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -21$  (c, 0,92 DMSO); Anal. C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (C, H, N, F).

1-(2-Deoxy-5-O-t-butyldimethylsilyl- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 8

**[0057]** Einer Lösung von 7 (1,69 g, 6,89 mmol) in trockenem Pyridin (35 ml) wurde unter einer Argonatmosphäre t-Butyldimethylsilylchlorid (1,35 g, 8,96 mmol) zugetropft, und das Gemisch wurde 5 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Gemisch auf eine gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (100 ml) gegossen und mit Chloroform ( $3 \times 150$  ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser ( $2 \times 200$  ml) gewaschen und sodann über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (2-10 %) in Methylenechlorid] gereinigt, um reines 8 (2,94 g, 87 %) als weißen Feststoff zu ergeben. Fp. = 177-179°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  241 nm ( $\epsilon$  9900), 282 nm ( $\epsilon$  10000),  $\lambda_{\text{min}}$  226 nm ( $\epsilon$  8200), 263 nm ( $\epsilon$  7600);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  7,95 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F5}} = 7,3$  Hz), 7,8-7,3 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,00 (dd, 1H, H-1',  $J_{1'-2'} = 6,1$  Hz und  $J_{1'-2''} = 1,9$  Hz), 5,3 (br s, 1H, OH-3'), 4,2 (br s, 1H, H-3'), 3,9-3,7 (m, 3H, H-4', H-5' und H-5''), 2,5 (m, 1H, H-2'), 1,81 (br d, 1H, H-2'',  $J = 14,6$  Hz), 0,86 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-Si), 0,05 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 719 (2M+H)<sup>+</sup>, 360 (M+H)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 115 (TBDMS)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 717 (2M-H)<sup>-</sup>, 358 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -23$  (c, 0,96 DMSO).

1-(2-Deoxy-3-O-mesyl-5-O-t-butyldimethylsilyl- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 9

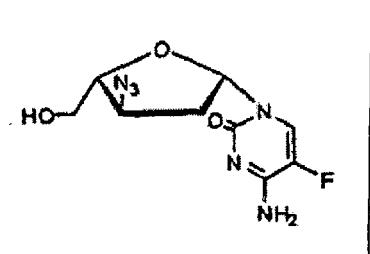
**[0058]** Eine Suspension von 8 (0,70 g, 1,96 mmol) in trockenem Pyridin (30 ml) wurde unter Argon gerührt und auf 0°C abgekühlt. Methansulfonylchlorid (MsCl, 0,46 ml, 5,88 mmol) wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch 5 h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde das Gemisch auf Eis/Wasser (100 ml) gegossen und mit Chloroform ( $3 \times 100$  ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit 5 % wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (100 ml) und Wasser ( $2 \times 100$  ml) gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Der resultierende Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (8-12 %) in Toluol] gereinigt, um reines 9 (0,56 g, 65 %) als weißen Feststoff zu ergeben: Fp. 83-84°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  242 nm ( $\epsilon$  8500), 282 nm ( $\epsilon$  8800),  $\lambda_{\text{min}}$  225 nm ( $\epsilon$  6400), 264 nm ( $\epsilon$  6300);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  7,8-7,3 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 7,60 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F5}} = 7,0$  Hz), 5,93 (dd, 1H, H-1',  $J_{1'-2'} = 4,5$  Hz und  $J_{1'-2''} = 2,0$  Hz), 5,2 (m, 1H, H-3'), 4,1 (m, 1H, H-4'), 3,9-3,7 (m, 2H, H-5' und H-5''), 3,17 (s, 3H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 2,7 (m, 1H, H-2'), 2,1 (m, 1H, H-2''), 0,99 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-Si), 0,05 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 875 (2M+H)<sup>+</sup>, 438 (M+H)<sup>+</sup>, 342 (M-CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 873 (2M-H)<sup>-</sup>, 436 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>, 95 (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -28$  (c, 0,96 DMSO).

1-(2,3-Dideoxy-3-azido-5-O-t-butyldimethylsilyl- $\beta$ -L-erythro-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 10

**[0059]** Einer Lösung von 9 (520 mg, 1,19 mmol) in wasserfreiem Dimethylformamid (12 ml) wurde Lithiumazid, angefeuchtet mit 10 % Methanol (300 mg, 5,31 mmol), zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2,5 h bei 100°C gerührt und sodann auf Raumtemperatur abgekühlt, auf Eis/Wasser (200 ml) gegossen und mit Chloroform ( $3 \times 100$  ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit gesättigter wässriger Natriumhydrogencar-

bonatlösung ( $2 \times 100$  ml) und Wasser ( $5 \times 100$  ml) gewaschen und sodann über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Methanol (4 %) in Chloroform] gereinigt, um reines 10 (327 mg, 72 %) zu ergeben, welches aus einem Diethylether/Methanol-Gemisch auskristallisiert wurde: Fp. 146-147°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  243 nm ( $\epsilon$  8700), 283 nm ( $\epsilon$  8400),  $\lambda_{\text{min}}$  226 nm ( $\epsilon$  7200), 264 nm ( $\epsilon$  6700);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  7,90 (d, 1H, H-6, J<sub>6-F5</sub> = 7,0 Hz), 7,8-7,5 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,0 (m, 1H, H-1'), 4,3 (m, 1H, H-3'), 3,9-3,7 (m, 3H, H-4', H-5' und H"-5), 2,4-2,2 (m, 2H, H-2' und H-2"), 0,87 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-Si), 0,05 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 769 (2M+H)<sup>+</sup>, 385 (M+H)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 383 (M-H)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -67$  (c, 0,96 DMSO).

### 1-(2,3-Dideoxy-3-azido-β-L-erythro-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 11 (3'-N<sub>3</sub>-β-L-5-FddC)



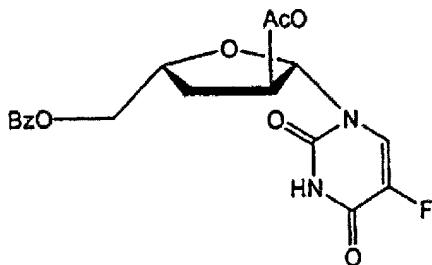
**[0060]** Eine 1 M Lösung von Tetrabutylammoniumtrifluorid in Tetrahydrofuran (TBAF/THF, 1,53 ml, 1,53 mmol) wurde einer Lösung von 10 (295 mg, 0,67 mmol) in wasserfreiem THF (4 ml) zugesetzt. Das resultierende Gemisch wurde 1,5 h bei Raumtemperatur gerührt und unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (4-8%) in Chloroform] gereinigt. Die entsprechenden Fraktionen wurden schließlich unter reduziertem Druck eingedampft, mit Methanol verdünnt und über eine Millex HV-4-Einheit (0,45 µm, Millipore) filtriert, um reines 11 (199 mg, 96 %) zu ergeben, welches aus Ethanol auskristallisiert wurde: Fp. 188-189°C (Lit.: Fp. 164-166°C für das D-Enantiomer); UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  243 nm ( $\epsilon$  8700), 283 nm ( $\epsilon$  8100),  $\lambda_{\text{min}}$  226 nm ( $\epsilon$  7100), 264 nm ( $\epsilon$  6500);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8,08 (d, 1H, H-6, J<sub>6-F5</sub> = 7,3 Hz), 7,8-7,5 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,0 (m, 1H, H-1'), 5,3 (br s, 1H, OH-5'), 4,4 (m, 1H, H-3'), 3,8 (m, 1H, H-4'), 3,7-3,5 (m, 2H, H-5' und H-5"), 2,3 (m, 2H, H-2' und H-2"); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 811 (3M+H)<sup>+</sup>, 725 (2M+2G+H)<sup>+</sup>, 633 (2M+G+H)<sup>+</sup>, 541 (2M+H)<sup>+</sup>, 363 (M+G+H)<sup>+</sup>, 271 (M+H)<sup>+</sup>, 142 (S)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 647 (2M+T-H)<sup>-</sup>, 539 (2M-H)<sup>-</sup>, 377 (M+T-H)<sup>-</sup>, 269 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -31$  (c, 0,90 DMSO); Anal., (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N, F.

### Analysedaten

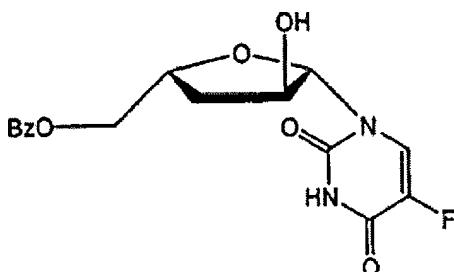
Verbind ung	Formel	Anal. berechnet				Anal. gefunden			
		C	H	N	F	C	H	N	F
2	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>9</sub>	58,59	4,13	5,47	3,71	58,33	4,25	4,24	3,49
5	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	60,79	4,21	6,17	4,18	61,22	4,26	6,18	3,90
6	C <sub>23</sub> H <sub>19</sub> FN <sub>2</sub> O <sub>6</sub> S	58,71	4,07	5,96	4,04	58,25	4,10	5,91	4,00
7	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> FN <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	44,08	4,87	17,17	7,75	43,87	5,13	16,81	7,42
11	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> FN <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	40,00	4,10	31,10	7,03	40,35	3,83	31,38	7,12

### Beispiel 2 Herstellung von β-L-(2'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin

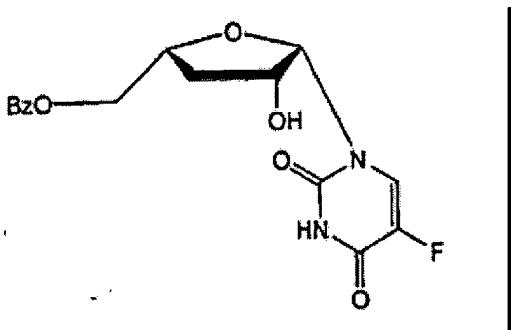
**[0061]** Die allgemeinen Vorgehensweisen und Instrumente, die verwendet wurden, wurden bereits in Beispiel 1 in den Experimentprotokollen der Synthese des 3'-Isomers (3'-N<sub>3</sub>-β-L-FddC) beschrieben.

1-(2-O-Acetyl-3-deoxy-5-O-benzoyl- $\beta$ -L-erythro-pentofuranosyl)-5-fluoruracil 13

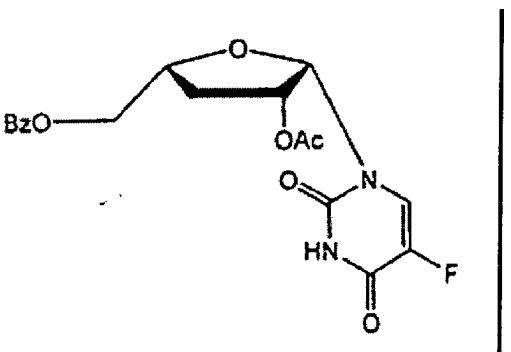
**[0062]** Eine Suspension von 5-Fluoruracil (5,15 g, 39,6 mmol) wurde 18 h unter Rückfluss mit Hexamethyldisilazan (HMDS, 257 ml) und einer katalytischen Menge von Ammoniumsulfat behandelt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wurde das Gemisch unter reduziertem Druck eingedampft, und der als farbloses Öl erhaltene Rückstand wurde mit wasserfreiem 1,2-Dichlorethan (290 ml) verdünnt. Der resultierenden Lösung wurden 1,2-Di-O-acetyl-3-deoxy-5-O-benzoyl-L-erythro-pentofuranose 12 (8,5 g, 26,4 mmol) [Ref.: Mathé, C., Ph.D. Dissertation, Université de Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier (Frankreich), 13. September 1994; Gosselin, G.; Mathé, C.; Bergogne, M.-C.; Aubertin, A.M.; Kirn, A.; Sommadossi, J.P.; Schinazi, R.F.; Imbach, J.L., "2'- and/or 3'-deoxy- $\beta$ -L-pentofuranosyl nucleoside derivatives: stereospecific synthesis and antiviral activities," Nucleosides & Nucleotides, 1994, 14 (3-5), 611-617] in wasserfreiem 1,2-Dichlorethan (120 ml) und anschließend Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSTf, 9,6 ml, 52,8 mmol) zugesetzt. Die Lösung wurde 5 h bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre gerührt und sodann mit Chloroform (200 ml) verdünnt, mit dem gleichen Volumen an gesättigter wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung und schließlich mit Wasser (2 × 300 ml) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und sodann unter reduziertem Druck eingedampft. Das resultierende Rohmaterial wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-6%) in Methylenechlorid] gereinigt, um reines 13 (8,59 g, 83 %) zu ergeben, welches aus Toluol auskristallisiert wurde: Fp. 65-68°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  228 nm ( $\epsilon$  11200) 268 nm ( $\epsilon$  14000),  $\lambda_{\text{min}}$  242 mit ( $\epsilon$  7800);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  11,9 (br s, 1H, NH), 8,0-7,5 (m, 6H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO und H-6), 5,8 (m, 1H, H-1'), 5,3 (m, 1H, H-2'), 4,6-4,5 (m, 3H, H-4', H-5' und H-5"), 2,4-2,3 (m, 1H, H-3'), 2,1-2,0 (m, 4H, H-3" und CH<sub>3</sub>CO); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 393 (M+H)<sup>+</sup>, 263 (S)<sup>+</sup>, 105 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 391 (M-H)<sup>-</sup>, 331 (M-[CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>H]-H)<sup>-</sup>, 129 (B)<sup>-</sup>, 121 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -8$  (c, 1,00 DMSO); Anal. (C<sub>18</sub>H<sub>17</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>; 2/3 C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>) C, H, N, F.

1-(3-Deoxy-5-O-benzoyl- $\beta$ -L-erythro-pentofuranosyl)-5-fluoruracil 14

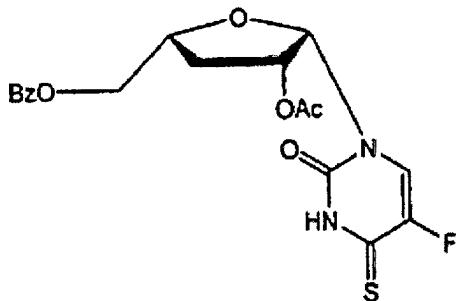
**[0063]** Einer Lösung von 13 (5,90 g, 15,0 mmol) in Tetrahydrofuran (THF, 175 ml) wurde Natriummethoxid (2,84 g, 52,6 mmol) zugesetzt. Die resultierende Suspension wurde 5 h bei Raumtemperatur gerührt und so dann durch Zugabe von Dowex 50 W X 2 (H<sup>+</sup>-Form) neutralisiert. Das Harz wurde abfiltriert und mit warmem Methanol gewaschen, und die vereinigten Filtrate wurden zur Trockene eingedampft. Die Säulenchromatographie des Rückstandes über Kieselgel [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-8%) in Methylenechlorid] lieferte 14 (4,11 g, 78 %), welches aus einem Methylenechlorid/Methanol-Gemisch auskristallisiert wurde: Fp. 154-156°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  226 nm ( $\epsilon$  23000), 268 nm ( $\epsilon$  16000),  $\lambda_{\text{min}}$  246 nm ( $\epsilon$  8900);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  11,8 (br s, 1H, NH), 8,0-7,5 (m, 6H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO und H-6), 5,6 (br s, 2H, H-1' und OH-2'), 4,5 (m, 3H, H-4', H-5' und H-5"), 4,3 (m, 1H, H-2'), 2,1-2,0 (m, 1H, H-3'), 1,9 (m, 1H, H-3"); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 701 (2M+H)<sup>+</sup>, 351 (M+H)<sup>+</sup>, 221 (S)<sup>+</sup>, 131 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 105 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Co)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 1049 (3M-H)<sup>-</sup>, 699 (2M-H)<sup>-</sup>, 441 (M+G-H)<sup>-</sup>, 349 (M-H)<sup>-</sup>, 129 (B)<sup>-</sup>, 121 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -3$  (c, 1,04 DMSO); Anal. (C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>FN<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) C, H, N, F.

1-(3-Deoxy-5-O-benzoyl- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-5-fluoruracil 15

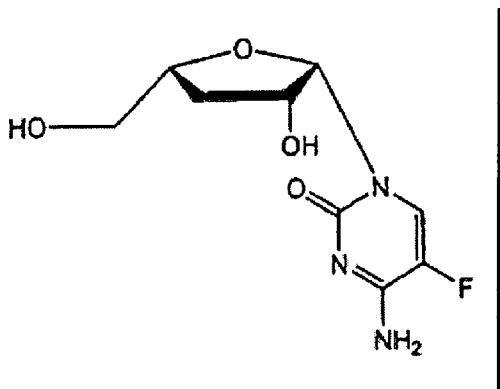
**[0064]** Dicyclohexylcarbodiimid (DCC, 3,53 g, 17,1 mmol) und Dichloressigsäure (0,235 ml, 2,56 mmol) wurden einer Lösung von 14 (2,00 g, 5,71 mmol) in wasserfreiem Benzol (50 ml), DMSO (35 ml) und Pyridin (0,46 ml) zugesetzt. Die resultierende Lösung wurde 4 h bei Raumtemperatur unter Argon gerührt und mit Ethylacetat (300 ml) verdünnt. In Methanol (4,6 ml) gelöste Oxalsäure (1,54 g, 17,1 mmol) wurde zugesetzt, und das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und sodann zur Beseitigung des ausgefallenen Dicyclohexylharnstoffs (DCU) filtriert. Das Filtrat wurde mit Salzlösung (3 × 300 ml), mit einer gesättigten wässrigen Natriumhydrogencarbonatlösung (2 × 300 ml) und schließlich mit Wasser (3 × 200 ml) gewaschen, bevor es über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft wurde. Der resultierende Rückstand wurde mehrmals zusammen mit absolutem Ethanol eingedampft und in einem Gemisch von absolutem Ethanol (31 ml) und wasserfreiem Benzol (15 ml) gelöst. Dann wurde die resultierende Lösung auf 0°C abgekühlt, und Natriumborhydrid ( $\text{NaBH}_4$ , 0,32 g, 8,56 mmol) wurde zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h unter Argon bei Raumtemperatur gerührt und mit Ethylacetat (300 ml) verdünnt und filtriert. Das Filtrat wurde mit gesättigter Natriumchloridlösung (3 × 300 ml) und mit Wasser (2 × 200 ml) gewaschen, bevor es über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft wurde. Der resultierende Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-6 %) in Chloroform] gereinigt, um reines 15 (1,10 g, 55 %) als weißen Schaum zu ergeben: Fp. 171-172°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\max}$  228 nm ( $\epsilon$  14700) 270 nm ( $\epsilon$  9100),  $\lambda_{\min}$  248 nm ( $\epsilon$  5000);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  11,8 (br s, 1H, NH), 8,0-7,5 (m, 6H,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$  und H-6), 5,90 (dd, 1H, H-1', J<sub>1'-2'</sub> = 4,1 Hz und J<sub>1'-F5</sub> = 1,8 Hz), 5,5 (br s, 1H, OH-2'), 4,7 (br q, 1H, H-4', J = 11,7 Hz und J = 7,0 Hz), 4,4-4,3 (m, 3H, H-2', H-5' und H-5"); 2,4 (m, 1H, H-3'), 1,9-1,8 (m, 1H, H-3"); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 701 (2M+H)<sup>+</sup>, 351 (M+H)<sup>+</sup>, 221 (S)<sup>+</sup>, 131 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 105 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ )<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 1049 (3M-H)<sup>-</sup>, 699 (2M-H)<sup>-</sup>, 349 (M-H)<sup>-</sup>, 129 (B)<sup>-</sup>, 121 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2$ )<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -101$  (c, 0,70 DMSO).

1-(2-O-Acetyl-3-deoxy-5-O-benzoyl- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-5-fluoruracil 16

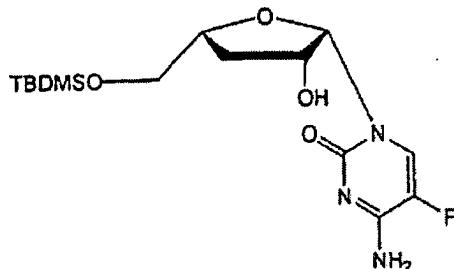
**[0065]** Essigsäureanhydrid (0,88 ml, 9,28 mmol) wurde unter Argon einer Lösung von 15 (2,50 g, 7,14 mmol) in trockenem Pyridin (50 ml) zugesetzt, und das resultierende Gemisch wurde 22 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde Ethanol zugesetzt, und die Lösungsmittel wurden unter reduziertem Druck verdampt. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-2%) in Methylenechlorid] gereinigt, um reines 16 (2,69 g, 96 %) als weißen Schaum zu ergeben; Fp. = 68-70°C (Schaum); UV (Ethanol):  $\lambda_{\max}$  = 239 nm ( $\epsilon$  = 15000) 267 nm ( $\epsilon$  = 8800),  $\lambda_{\min}$  = 248 nm ( $\epsilon$  = 5600);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  ppm 11,9 (br s, 1H, NH), 8,1-7,5 (m, 6H,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$  und H-6), 6,10 (d, 1H, H-1', J<sub>1'-2'</sub> = 4,3 Hz), 5,4 (m, 1H, H-2'), 4,6-4,4 (m, 3H, H-4', H-5' und H-5"), 2,6 (m, 1H, H-3'), 2,03 (m, 1H, H-3"), 1,86 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{CO}$ ); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 785 (2M+H)<sup>+</sup>, 393 (M+H)<sup>+</sup>, 263 (S)<sup>+</sup>, 131 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 105 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}$ )<sup>+</sup>, 43 ( $\text{CH}_3\text{CO}$ )<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 391 (M-H)<sup>-</sup>, 129 (B)<sup>-</sup>, 121 ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2$ )<sup>-</sup>, 59 ( $\text{CH}_3\text{CO}_2$ );  $[\alpha]_D^{20} = -81$  (c, 0,95 DMSO).

1-(2-O-Acetyl-3-deoxy-5-O-benzoyl- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-4-thio-5-fluoruracil 17

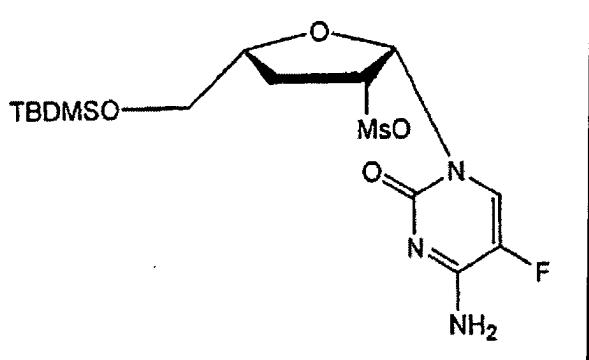
**[0066]** Lawesson-Reagenz (1,9 g, 4,69 mmol) wurde unter Argon einer Lösung von 16 (2,63 g, 6,70 mmol) in wasserfreiem 1,2-Dichlorethan (165 ml) zugesetzt, und das Reaktionsgemisch wurde über Nacht unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wurde anschließend unter reduziertem Druck eingedampft, und der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (0-3%) in Methylenechlorid] gereinigt, um das 4-Thioderivat 17 (2,65 g, 96 % Ausbeute) als gelben Schaum zu ergeben; Fp. = 78-79°C (Schaum); UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  = 230 nm ( $\epsilon$  = 15900) 334 nm ( $\epsilon$  = 15600),  $\lambda_{\text{min}}$  = 288 nm ( $\epsilon$  = 3200); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  ppm 13,2 (br s, 1H, NH), 8,1-7,5 (m, 6H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO und H-6), 6,08 (d, 1H, H-1', J<sub>1'-2'</sub> = 4,3 Hz), 5,4 (m, 1H, H-2'), 4,7-4,4 (m, 3H, H-4', H-5' und H-5"), 2,6 (m, 1H, H-3'), 2,0 (m, 1H, H-3"), 1,84 (s, 3H, CH<sub>3</sub>CO); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 409 (M+H)<sup>+</sup>, 263 (S)<sup>+</sup>, 147 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 105 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sup>+</sup>, 43 (CH<sub>3</sub>CO)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 407 (M-H)<sup>-</sup>, 145 (B)<sup>-</sup>, 121 (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>-</sup>, 59 (CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20}$  = -155 (c, 1,00 DMSO).

1-(3-Deoxy- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 18

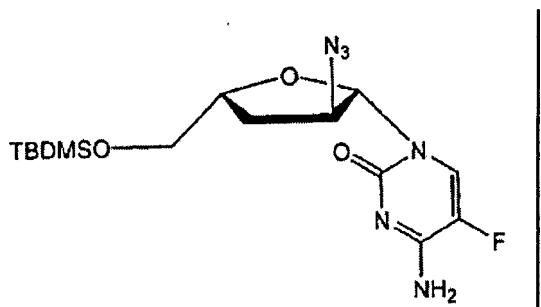
**[0067]** Eine Lösung des 4-Thioderivats 17 (0,86 g, 2,19 mmol) in methanolischem Ammoniak (zuvor gesättigt bei -10°C und fest verschlossen) (44ml) wurde in einer Edelstahlbombe 3 h bei 100°C erhitzt und sodann auf 0°C abgekühlt. Die Lösung wurde unter reduziertem Druck zur Trockene eingedampft und der Rückstand mehrmals zusammen mit Methanol verdampft. Das Rohmaterial wurde in Wasser gelöst, und die resultierende Lösung wurde viermal mit Methylenechlorid gewaschen. Die wässrige Schicht wurde unter reduziertem Druck eingedampft, und der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (3-12 %) in Chloroform] gereinigt. Schließlich wurden die entsprechenden Fraktionen unter reduziertem Druck eingedampft, mit Methanol verdünnt und über eine Millex HV-4-Einheit (0,45 µm, Millipore) filtriert, um 0,46 g 18 (86 % Ausbeute) bereitzustellen, welche aus einem Gemisch von Methylenechlorid/Methanol auskristallisiert wurde; Fp. = 137-138°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  = 240 nm ( $\epsilon$  = 8300) 284 nm ( $\epsilon$  = 8100),  $\lambda_{\text{min}}$  = 226 nm ( $\epsilon$  = 7300) 263 nm ( $\epsilon$  = 5500); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  ppm 8,34 (d, 1H, H-6, J<sub>6-F5</sub> = 7,5 Hz), 7,7-7,4 (br pd, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,83 (dd, 1H, H-1', J<sub>1'-2'</sub> = 4,4 Hz, J<sub>1'-F5</sub> = 1,9 Hz), 5,22 (d, 1H, OH-2', J<sub>OH-2'</sub> = 5,1 Hz), 5,15 (t, 1H, OH-5', J<sub>OH-5'</sub> = J<sub>OH-5"</sub> = 4,8 Hz), 4,3 (m, 1H, H-2'), 4,0 (m, 1H, H-4'), 3,6-3,5 (m, 2H, H-5' und H-5") 2,2 (m, 1H, H-3'), 1,7 (m, 1H, H-3"); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 491 (2M+H)<sup>+</sup>, 246 (M+H)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 244 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20}$  = -135 (c, 0,89 DMSO), Elementaranalyse, C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, 1/2 H<sub>2</sub>O; berechnet: C = 42,52; H = 5,15; N = 16,53; F = 7,47; gefunden: C = 43,16; H = 5,32; N = 16,97; F = 6,92.

1-(3-Deoxy-S-O-t-butyldimethylsilyl- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 19

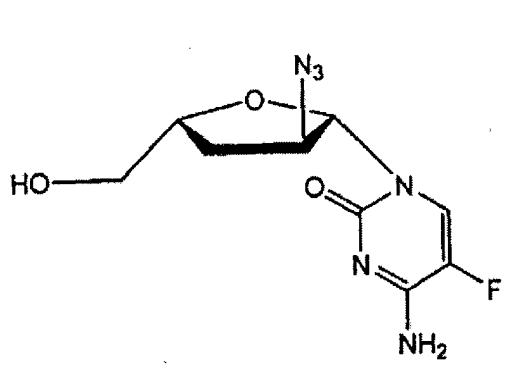
**[0068]** Einer Lösung von 18 (1,38 g, 5,63 mmol) in trockenem Pyridin (30 ml) wurde unter Argonatmosphäre t-Butyldimethylsilylchlorid (1,10 g, 7,32 mmol) zugetropft, und das Gemisch wurde 10 h bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wurde das Gemisch auf eine gesättigte wässrige Natriumhydrogencarbonatlösung (100 ml) gegossen und mit Chloroform (3 × 150 ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit Wasser (2 × 200 ml) gewaschen und sodann über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (2-10%) in Methylchlorid] gereinigt, um reines 19 (1,74 g, 86 % Ausbeute) als weißen Feststoff zu ergeben; Fp. 202-204°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  241 nm ( $\epsilon$  7800), 284 nm ( $\epsilon$  7800),  $\lambda_{\text{min}}$  226 nm ( $\epsilon$  6600), 263 nm ( $\epsilon$  5400); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  7,77 (d, 1H, H-6,  $J_{6-F5}$  = 7,1 Hz), 7,7-7,3 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,88 (dd, 1H, H-1',  $J_{1'-2'}$  = 4-9 Hz und  $J_{1'-F5}$  = 1,9 Hz), 5,24 (d, 1H, OH-3',  $J_{OH-3'}$  = 4,6 Hz), 4,4 (m, 1H, H-2'), 4,0 (m, 1H, H-4'), 3,8-3,7 (m, 2H, H-5' und H-5''), 2,2 (m, 1H, H-3'), 1,7 (m, 1H, H-3''), 0,84 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-Si), 0,06 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 1437 (4M+H)<sup>+</sup>, 1078 (3M+H)<sup>+</sup>, 719 (2M+H)<sup>+</sup>, 360 (M+H)<sup>+</sup>, 231 (S)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>, 115 (TB-DMS)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 1076 (3M-H)<sup>-</sup>, 717 (2M-H)<sup>-</sup>, 358 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -107$  (c, 0,88 DMSO).

1-(3-Deoxy-2-O-mesyl-5-O-t-butyl dimethylsilyl- $\beta$ -L-threo-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 20

**[0069]** Eine Suspension von 19 (1,70 g, 4,73 mmol) in trockenem Pyridin (80 ml) wurde unter Argon gerührt und auf 0°C abgekühlt. Methansulfonylchlorid (MsCl, 1,21 ml, 15,6 mmol) wurde zugetropft und das Reaktionsgemisch 5 h bei 0°C gerührt. Anschließend wurde das Gemisch auf Eis/Wasser (300 ml) gegossen und mit Chloroform (3 × 300 ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit 5 % wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung (300 ml) und Wasser (2 × 300 ml) gewaschen und sodann über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Der resultierende Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (8-12 %) in Toluol] gereinigt, um reines 20 (1,41 g, 68 % Ausbeute) als weißen Feststoff zu ergeben; Fp. 75-76°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  243 nm ( $\epsilon$  8100), 282 nm ( $\epsilon$  7300),  $\lambda_{\text{min}}$  225 nm ( $\epsilon$  6000), 265 nm ( $\epsilon$  6000); <sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  7,9-7,6 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 7,85 (d, 1H, H-6,  $J_{6-F5}$  = 7,0 Hz), 6,08 (dd, 1H, H-1',  $J_{1'-2'}$  = 5,2 Hz und  $J_{1'-F5}$  = 1,6 Hz), 5,4 (m, 1H, H-2'), 4,1 (m, 1H, H-4'), 3,9 (m, 1H, H-5'), 3,7 (m, 1H, H-5''), 3,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>), 2,47 (m, 1H, H-3'), 2,0 (m, 1H, H-2''), 0,85 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-Si), 0,05 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 1312 (3M+H)<sup>+</sup>, 875 (2M+H)<sup>+</sup>, 438 (M+H)<sup>+</sup>, 309 (S)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 1310 (2M-H)<sup>-</sup>, 873 (2M-H)<sup>-</sup>, 436 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>, 95 (CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = -84$  (c, 0,84 DMSO).

1-(2,3-Dideoxy-2-azido-5-O-t-butyldimethylsilyl- $\beta$ -L-erythro-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 21

**[0070]** Einer Lösung von 20 (442 mg, 1,01 mmol) in wasserfreiem Dimethylformamid (12 ml) wurde Lithiumazid, angefeuchtet mit 10 % Methanol, (265 mg, 4,87 mmol) zugesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde 2,5 h bei 100°C gerührt und sodann auf Raumtemperatur abgekühlt, auf Eis/Wasser (200 ml) gegossen und mit Chloroform ( $3 \times 100$  ml) extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung ( $2 \times 100$  ml) und mit Wasser ( $5 \times 100$  ml) gewaschen und sodann über Natriumsulfat getrocknet und unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Methanol (4 %) in Chloroform] gereinigt, um reines 21 (291 mg, 75 % Ausbeute) als weißen Feststoff zu ergeben; Fp. 147-148°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  242 mit ( $\epsilon$  7700), 283 nm ( $\epsilon$  7400),  $\lambda_{\text{min}}$  226 nm ( $\epsilon$  6600), 264 nm ( $\epsilon$  5800);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8,05 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F}5} = 7,0$  Hz), 7,9-7,4 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,7 (br s, 1H, H-1'), 4,37 (d, 1H, H-2',  $J_{2'-3'} = 5,5$  Hz), 4,3 (m, 1H, H-4'), 4 (m, 1H, H-5'), 3,7 (m, 1H, H-5''), 2,0 (m, 1H, H-3'), 1,8 (m, 1H, H-3''), 0,88 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C-Si), 0,05 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Si); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 769 (2M+H)<sup>+</sup>, 385 (M+H)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 1151 (3M-H)<sup>-</sup>, 767 (2M-H)<sup>-</sup>, 383 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = +25$  (c, 0,95 DMSO).

1-(2,3-Dideoxy-2-azido- $\beta$ -L-erythro-pentofuranosyl)-5-fluorcytosin 22 2'-N<sub>3</sub>- $\beta$ -L-5-FddC

**[0071]** Eine 1 M Lösung von Tetrabutylammoniumtrifluorid in Tetrahydrofuran (TBAF/THF, 1,90 ml, 1,90 mmol) wurde einer Lösung von 21 (480 mg, 1,25 mmol) in wasserfreiem THF (8 ml) zugesetzt. Das resultierende Gemisch wurde 1,5 h bei Raumtemperatur gerührt und unter reduziertem Druck eingedampft. Der Rückstand wurde durch Kieselgelsäulenchromatographie [Elutionsmittel: Stufengradient von Methanol (4-8%) in Chloroform] gereinigt. Schließlich wurden die entsprechenden Fraktionen unter reduziertem Druck eingedampft, mit Methanol verdünnt und über eine Millex HV-4-Einheit (0,45 µm, Millipore) filtriert, um reines 22 (304 mg, 90 % Ausbeute) zu ergeben, welches aus Ethanol auskristallisiert wurde; Fp. 219-221°C; UV (Ethanol):  $\lambda_{\text{max}}$  241 nm ( $\epsilon$  7700), 284 nm ( $\epsilon$  7300),  $\lambda_{\text{min}}$  225 nm ( $\epsilon$  6500), 263 nm ( $\epsilon$  5400);  $^1\text{H-NMR}$  (DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  8,31 (d, 1H, H-6,  $J_{6-\text{F}5} = 7,4$  Hz), 7,9-7,4 (br d, 2H, NH<sub>2</sub>), 5,65 (m, 1H, H-1'), 5,32 (br s, 1H, OH-5'), 4,35 (d, 1H, H-2',  $J_{2'-3'} = 5,6$  Hz), 4,2 (m, 1H, H-4'), 3,8 (m, 1H, H-5'), 3,6 (m, 1H, H-5''), 2,1 (m, 1H, H-3'), 1,8 (m, 1H, H-2''); MS (Matrix GT): FAB > 0 m/z 541 (2M+H)<sup>+</sup>, 363 (M+G+H)<sup>+</sup>, 271 (M+H)<sup>+</sup>, 130 (BH<sub>2</sub>)<sup>+</sup>; FAB < 0 m/z 539 (2M-H)<sup>-</sup>, 269 (M-H)<sup>-</sup>, 128 (B)<sup>-</sup>;  $[\alpha]_D^{20} = +29$  (c, 0,85 DMSO); Anal. (C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>3</sub>) C, H, N, F

## Analysedaten

Verbin-dung	Formel	Anal. berechnet				Anal. gefunden			
		C	H	N	F	C	H	N	F
<u>13</u>	$C_{18}H_{17}FN_2O_7$ , 2/3 $C_7H_8$	59,99	4,96	6,18	4,19	59,60	4,96	6,02	3,76
<u>14</u>	$C_{16}H_{15}FN_2O_6$	54,86	4,32	8,00	5,42	54,75	4,16	7,78	5,49
<u>22</u>	$C_9H_{11}FN_6O_3$	40,00	4,10	31,10	7,03	40,07	4,16	31,10	6,99

## Anti-HIV-Aktivität der wirksamen Verbindungen

**[0072]** Die antiviralen Zubereitungen können in vitro durch verschiedene experimentelle Techniken auf die Hemmung von HIV gescreent werden. Eine solche Technik umfasst das Messen der Hemmung der Virusreplikation in menschlichen peripheren mononuklearen Blutzellen (PBM). Die Menge an produziertem Virus wird durch Messen der Menge an Virus-codierter Reverser Transkriptase (RT), ein Enzym, welches in Retroviren gefunden wird und im Zellkulturmedium vorhanden ist, bestimmt.

**[0073]** Drei Tage alte Phytohämagglutinin-stimulierte PBM-Zellen ( $10^6$  Zellen/ml) aus Hepatitis B- und HIV-1-seronegativen gesunden Spendern wurden mit HIV-1 (Stamm LAV) mit einer Konzentration von etwa dem 100fachen der 50%igen Gewebekultur-infektionsdosis (TICD 50) pro ml infiziert und in Gegenwart und Abwesenheit von verschiedenen Konzentrationen von antiviralen Verbindungen kultiviert.

**[0074]** Etwa 1 Stunde nach der Infektion wurde das Medium mit der zu testenden Verbindung (2-fache Endkonzentration im Medium) oder ohne Verbindung, den Kolben (5 ml, Endvolumen 10 ml) zugesetzt. AZT wurde als positive Kontrolle verwendet. Die Zellen wurden dem Virus (etwa  $2 \times 10^5$  dpm/ml, wie durch den Reverse-Transkriptase-Test bestimmt) ausgesetzt und sodann in einen  $CO_2$ -Inkubator verbracht. HIV-1 (Stamm LAV) wurde von Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia, erhalten. Die zum Kultivieren der PBM-Zellen, Ernten des Virus und Bestimmen der Reverse-Transkriptase-Aktivität angewandten Methoden waren diejenigen, die von McDougal et al. (J. Immun. Meth. 76, 171-183, 1985) und Spira et al. (J. Clin. Meth. 25, 97-99, 1987) beschrieben wurden, außer dass kein Fungizon im Medium eingeschlossen war (siehe Schinazi, et al., Antimicrob. Agents Chemother. 32, 1784-1787 (1988); Antimicrob. Agents Chemother., 34: 1061-1067 (1990)).

**[0075]** Am Tag 6 wurden Zellen und Überstand in 15-ml-Röhrchen übergeführt und bei etwa  $900 \times g$  10 min zentrifugiert. 5 ml Überstand wurden entfernt, und das Virus wurde durch Zentrifugation bei 40000 U/min 30 min (Beckman 70.1 Ti-Rotor) konzentriert. Das solubilisierte Viruspellet wurde zur Bestimmung der Reverse-Transkriptase-Spiegel bearbeitet. Die Ergebnisse sind in dpm/ml Überstandsprobe ausgedrückt. Virus aus kleineren Volumina an Überstand (1 ml) kann auch durch Zentrifugation vor dem Solubilisieren und Bestimmen der Reverse-Transkriptase-Spiegel konzentriert werden.

**[0076]** Die mittlere wirksame ( $EC_{50}$ ) Konzentration wurde durch das Verfahren der mittleren Wirkung (Antimicrob. Agents Chemother. 30, 491-498 (1986)) bestimmt. Kurz gesagt wurde die prozentuale Hemmung an Virus, wie bestimmt aus Messungen der Reversen Transkriptase, gegen die mikromolare Konzentration der Verbindung aufgetragen. Die  $EC_{50}$  ist die Konzentration an Verbindung, bei der eine 50%ige Hemmung des viralen Wachstums vorliegt.

**[0077]** Mitogen-stimulierte uninizierte menschliche PBM-Zellen ( $3,8 \times 10^5$  Zellen/ml) wurden in Gegenwart und Abwesenheit von Arzneimittel unter ähnlichen Bedingungen wie diejenigen, die für den vorstehend beschriebenen antiviralen Test angewandt wurden, kultiviert. Die Zellen wurden nach 6 Tagen unter Verwendung eines Hämagglutinationstestes und des Trypanblau-Ausschlussverfahrens, wie von Schinazi et al., Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 22 (3), 499 (1982) beschrieben, gezählt. Die  $IC_{50}$  ist die Konzentration der Verbindung, die 50 % des normalen Zellwachstums hemmt.

Beispiel 3 Anti-HIV-Aktivität von  $\beta$ -L-(2'- oder 3')-A-5-FddC

**[0078]** Die Anti-HIV-Aktivität von L-2'-A-5-FddC und L-3'-A-5-FddC wurde in CEM- und PBM-Zellen getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 bereitgestellt.

Tabelle 1

Verbindung	antivirale Aktivität EC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Cytotoxizität IC <sub>50</sub> ( $\mu$ M)	Selektivitätsindex IC <sub>50</sub> /EC <sub>50</sub>
L-2'-A-5-FddC (CEM)	3,90	>100	>30
L-3'-A-5-FddC (CEM)	0,29	>100	>344
L-2'-A-5-FddC (PBM)	1,00	>100	>100
L-3'-A-5-FddC (PBM)	0,05	>100	>2647

## Herstellung pharmazeutischer Zusammensetzungen

**[0079]** Menschen, die an einer der hier beschriebenen Störungen leiden, einschließlich von AIDS, können durch Verabreichung an den Patienten einer wirksamen Menge von  $\beta$ -L-(2'- oder 3')-A-5-FddC, wie hier beschrieben, oder eines pharmazeutisch verträglichen Prodrug oder Salzes davon in Gegenwart eines pharmazeutisch verträglichen Trägers oder Verdünnungsmittels behandelt werden. Die wirksamen Materialien können durch jeden entsprechenden Weg, beispielsweise oral, parenteral, intravenös, intradermal, subkutan oder topisch, in flüssiger oder fester Form verabreicht werden.

**[0080]** Die wirksame Verbindung ist in dem pharmazeutisch verträglichen Träger oder Verdünnungsmittel in einer Menge eingeschlossen, die ausreicht, um an einen Patienten eine therapeutisch wirksame Menge der Verbindung abzugeben, um die Virusreplikation in vivo zu hemmen, ohne schwerwiegende toxische Wirkungen in dem behandelten Patienten hervorzurufen.

**[0081]** "Inhibitorische Menge" bedeutet eine Menge an Wirkstoff, die ausreicht, um eine inhibitorische Wirkung hervorzurufen, wie beispielsweise gemessen durch einen Test, wie die hier beschriebenen Tests.

**[0082]** Eine bevorzugte Dosis der Verbindung für alle oben erwähnten Zustände liegt im Bereich von etwa 1 bis 50 mg/kg, vorzugsweise von 1 bis 20 mg/kg Körpergewicht pro Tag, allgemeiner von 0,1 bis etwa 100 mg pro Kilogramm Körpergewicht des Empfängers pro Tag. Der wirksame Dosisbereich des pharmazeutisch verträglichen Prodrug kann auf der Grundlage des Gewichts des abzugebenden Eltern-Nukleosids berechnet werden. Wenn das Prodrug Aktivität an sich aufweist, kann die wirksame Dosis wie oben unter Verwendung des Gewichts des Prodrugs oder durch andere den Fachleuten bekannte Mittel abgeschätzt werden.

**[0083]** Die Verbindung wird zweckmäßigerweise in jeder geeigneten Dosierungseinheitsform verabreicht, einschließlich, jedoch nicht begrenzt auf diejenige, die 7 bis 3000 mg, vorzugsweise 70 bis 1400 mg, Wirkstoff pro Dosierungseinheit enthält. Im Allgemeinen ist eine orale Dosis von 50 bis 1000 mg und typischerweise von 50 bis 500 mg zweckmäßig.

**[0084]** Idealerweise sollte der Wirkstoff verabreicht werden, um Plasma-Peak-Konzentrationen der aktiven Verbindung von etwa 0,2 bis 70  $\mu$ M, vorzugsweise von etwa 1,0 bis 10  $\mu$ M zu erreichen. Dies kann beispielsweise durch die intravenöse Injektion einer 0,1- bis 5%igen Lösung der Wirksubstanz, gegebenenfalls in Salzlösung, oder verabreicht als Bolus des Wirkstoffs, erreicht werden.

**[0085]** Die Konzentration an wirksamer Verbindung in der Arzneimittelzusammensetzung hängt von der Absorptions-Inaktivierungs- und Exkretionsgeschwindigkeit des Arzneimittels sowie von anderen den Fachleuten bekannten Faktoren ab. Es sei angemerkt, dass die Dosierungswerte auch mit der Schwere des zu lindernden Zustands schwanken. Es ist weiterhin selbstverständlich, dass für jedes bestimmte Individuum spezielle Dosierungsvorgaben zeitlich eingestellt werden sollten, je nach individuellem Bedürfnis und professioneller Ein-

schätzung der verabreichenden Person oder der Person, die die Verabreichung der Zubereitungen überwacht, und dass die hier angegebenen Konzentrationsbereiche nur beispielhaft sind und nicht den Umfang oder die Praxis der beanspruchten Zubereitung einschränken sollen. Der Wirkstoff kann auf einmal verabreicht werden oder kann in einer Anzahl von kleineren Dosen, die in variierenden Zeitabständen zu verabreichen sind, aufgeteilt werden.

**[0086]** Eine bevorzugte Verabreichungsweise der aktiven Verbindung ist oral. Orale Zubereitungen umfassen im Allgemeinen ein inertes Verdünnungsmittel oder einen essbaren Träger. Sie können in Gelatinekapseln eingeschlossen oder zu Tabletten verdichtet sein. Für den Zweck der oralen therapeutischen Verabreichung kann die wirksame Verbindung in Exzipientien eingearbeitet sein und in Form von Tabletten, Lutschpastillen oder Kapseln verwendet werden. Pharmazeutisch kompatible Bindemittel und/oder Adjuvansmaterialien können als Teil der Zubereitung eingeschlossen werden.

**[0087]** Die Tabletten, Pillen, Kapseln, Lutschpastillen und dergleichen können jeden der folgenden Bestandteile oder Verbindungen von ähnlicher Natur enthalten: Ein Bindemittel, wie mikrokristalline Cellulose, Tragantgummi oder Gelatine; ein Exziopiens, wie Stärke oder Lactose, eine Zerfallshilfe, wie Alginäsäure, Primogel oder Maisstärke; ein Gleitmittel, wie Magnesiumstearat oder Sterote; ein Gleitmittel, wie kolloidales Siliciumdioxid; ein Süßungsmittel, wie Saccharose oder Saccharin; oder ein Aromastoff, wie Pfefferminze, Methylsalicylat oder Orangenaroma. Ist die Darreichungsform eine Kapsel, kann sie zusätzlich zu dem Material des obigen Typs einen flüssigen Träger, wie ein Fettöl enthalten. Zusätzlich können die Darreichungsformen verschiedene andere Materialien enthalten, die die physikalische Form der Darreichungsform modifizieren, beispielsweise Überzüge aus Zucker, Schellack oder anderen magensaftresistenten Mitteln.

**[0088]** Die Verbindung kann als Komponente eines Elixiers, einer Suspension, eines Sirups, Wassers, Kaugummis oder dergleichen verabreicht werden. Ein Sirup kann zusätzlich zu den wirksamen Verbindungen Saccharose als Süßungsmittel und bestimmte Konservierungsstoffe, Farbstoffe und Farbmittel und Aromastoffe enthalten.

**[0089]** Die Verbindung oder ein pharmazeutisch verträgliches Derivat oder Salz davon kann auch mit anderen wirksamen Materialien, die die beschriebene Wirkung nicht beeinträchtigen, oder mit Materialien, die die gewünschte Wirkung ergänzen, wie Antibiotika, Fungizide, Entzündungshemmer, Proteaseinhibitoren oder andere Nukleosid- oder Nicht-Nukleosid-Antivirusmitteln vermischt werden. Lösungen oder Suspensionen, die zur parenteralen, intradermalen, subkutanen oder topischen Anwendung verwendet werden, können die folgenden Komponenten einschließen: Ein steriles Verdünnungsmittel, wie Wasser zur Injektion, Salzlösung, nicht-flüssige Öle, Propylenglycole, Glycerin, Propylenglycol oder andere synthetische Lösungsmittel; antibakterielle Mittel, wie Benzylalkohol oder Methylparabene; Antioxidantien, wie Ascorbinsäure oder Natriumbisulfit; Chelatbildner, wie Ethylendiamintetraessigsäure; Puffer, wie Acetate, Citrate oder Phosphate, und Mittel zur Einstellung der Tonizität, wie Natriumchlorid oder Dextrose. Die parenterale Zubereitung kann in Ampullen, Einmalspritzen oder Mehrdosis-Röhrchen, die aus Glas oder Kunststoff hergestellt sind, eingeschlossen sein.

**[0090]** Bei intravenöser Verabreichung sind bevorzugte Träger physiologische Salzlösung oder phosphatgepufferte Salzlösung (PBS).

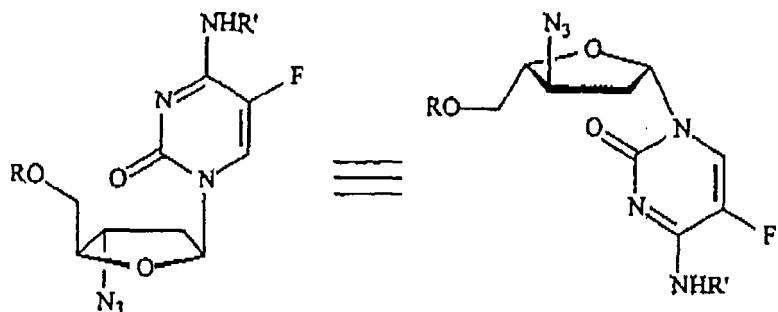
**[0091]** Bei einer bevorzugten Ausführungsform werden die wirksamen Verbindungen mit Trägern hergestellt, die die Verbindung gegen schnelle Ausscheidung aus dem Körper schützen, wie eine Formulierung zur kontrollierten Freisetzung, einschließlich von Implantaten und mikroverkapselften Abgabesystemen. Es können biologisch abbaubare biokompatible Polymere verwendet werden, wie Ethylenvinylacetat, Polyanhydride, Polyglycolsäure, Collagen, Polyorthoester und Polymilchsäure. Verfahren zur Herstellung solcher Formulierungen sind den Fachleuten bekannt. Die Materialien können auch von der Firma Alza Corporation im Handel erhalten werden.

**[0092]** Liposomensuspensionen (einschließlich von Liposomen, die auf infizierte Zellen gerichtet sind, mit monoklonalen Antikörpern gegen die viralen Antigene) werden ebenfalls als pharmazeutisch verträgliche Träger bevorzugt. Diese können nach den Verfahren hergestellt werden, die den Fachleuten bekannt sind, beispielsweise wie in der US-Patentschrift Nr. 4,522,811 beschrieben. Beispielsweise können Liposomenformulierungen durch Auflösen entsprechender Lipid(e) (wie Stearylphosphatidylethanolamin, Stearylphosphatidylcholin, Arachadylphosphatidylcholin und Cholesterin) in einem anorganischen Lösungsmittel, das sodann verdampft wird, wobei ein Dünnfilm von getrocknetem Lipid auf der Oberfläche des Behälters zurückbleibt, hergestellt werden. Sodann wird in den Behälter eine wässrige Lösung der wirksamen Verbindung oder ihres Monophosphat-, Diphosphat- und/oder Triphosphat-Derivats eingebracht. Der Behälter wird anschließend per

Hand geschwenkt, um das Lipidmaterial von den Seiten des Behälters freizusetzen und Lipidaggregate zu dispergieren und dadurch die Liposomensuspension zu bilden.

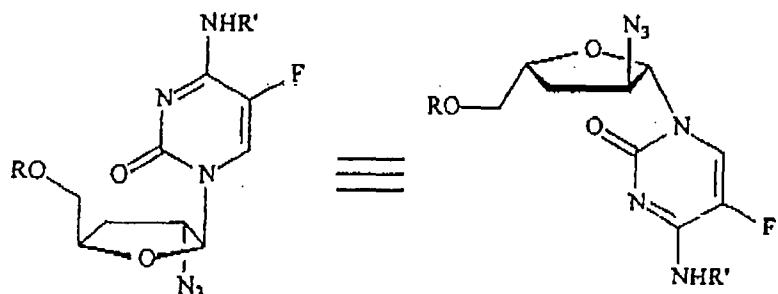
#### Patentansprüche

1. Verwendung einer  $\beta$ -L-(3'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin-Verbindung oder eines pharmazeutisch verträglichen Esters, Salzes oder eines Prodrug davon der Formel



wobei R H, Acyl, Monophosphat, Diphosphat oder Triphosphat oder ein stabilisiertes Phosphatderivat (zur Bildung eines stabilisierten Nukleotid-Prodrug) ist und R' H, Acyl oder Alkyl ist, zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung von HIV bei einem Menschen oder einem anderen tierischen Wirt.

2. Verwendung einer  $\beta$ -L-(2'-Azido)-2',3'-dideoxy-5-fluorcytosin-Verbindung oder eines pharmazeutisch verträglichen Esters, Salzes oder eines Prodrug davon der Formel



wobei R H, Acyl, Monophosphat, Diphosphat oder Triphosphat oder ein stabilisiertes Phosphatderivat (zur Bildung eines stabilisierten Nukleotid-Prodrug) ist und R' H, Acyl oder Alkyl ist, zur Herstellung eines Medikaments zur Behandlung der HIV-Infektion bei einem Menschen oder einem anderen tierischen Wirt.

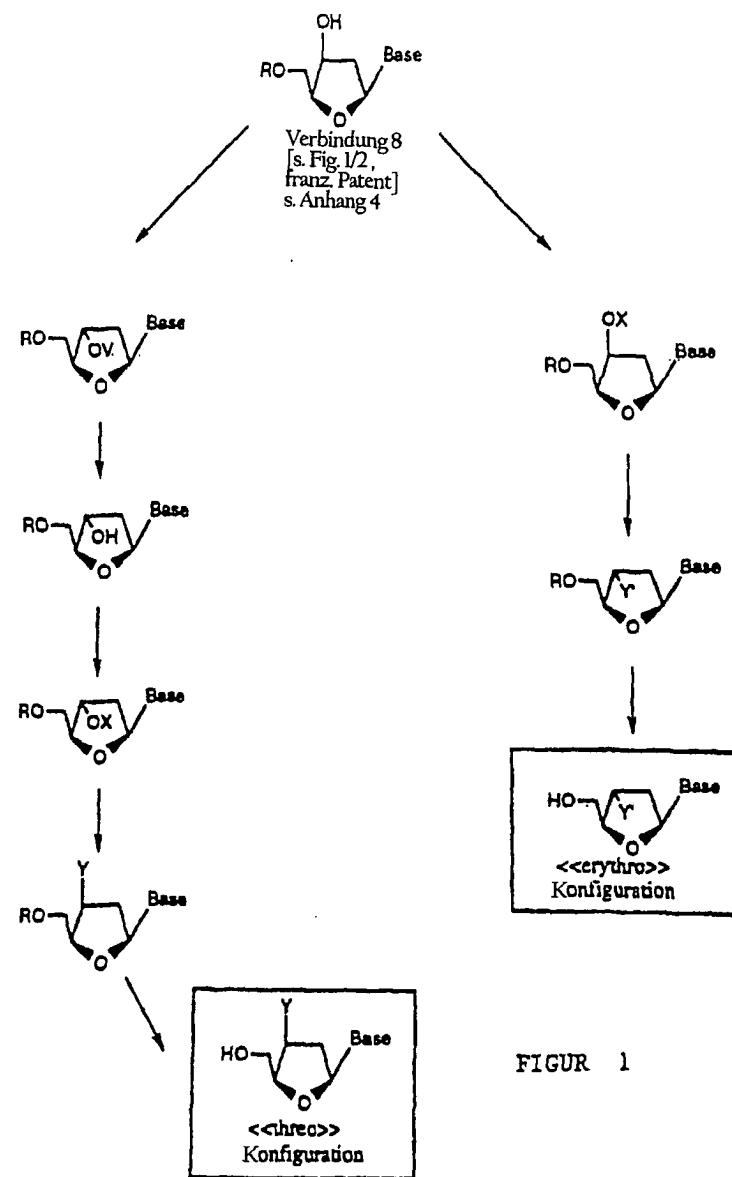
3. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R H ist.
4. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R Acyl ist.
5. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R Monophosphat ist.
6. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R Diphosphat ist.
7. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R Triphosphat ist.
8. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R ein stabilisiertes Phosphatderivat ist.
9. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R' H ist und R H ist.
10. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R' H ist.
11. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R' Acyl ist und R H ist.
12. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R' Acyl ist.
13. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R' Alkyl ist und R H ist.

14. Verwendung nach Anspruch 1 oder 2, wobei R' Alkyl ist.

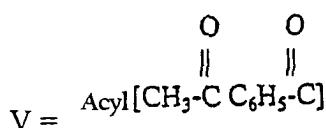
Es folgen 4 Blatt Zeichnungen

## Anhängende Zeichnungen

Allgemeines Schema zur stereospezifischen Synthese von 3'-substituierten  $\beta$ -L-Dideoxynucleosiden



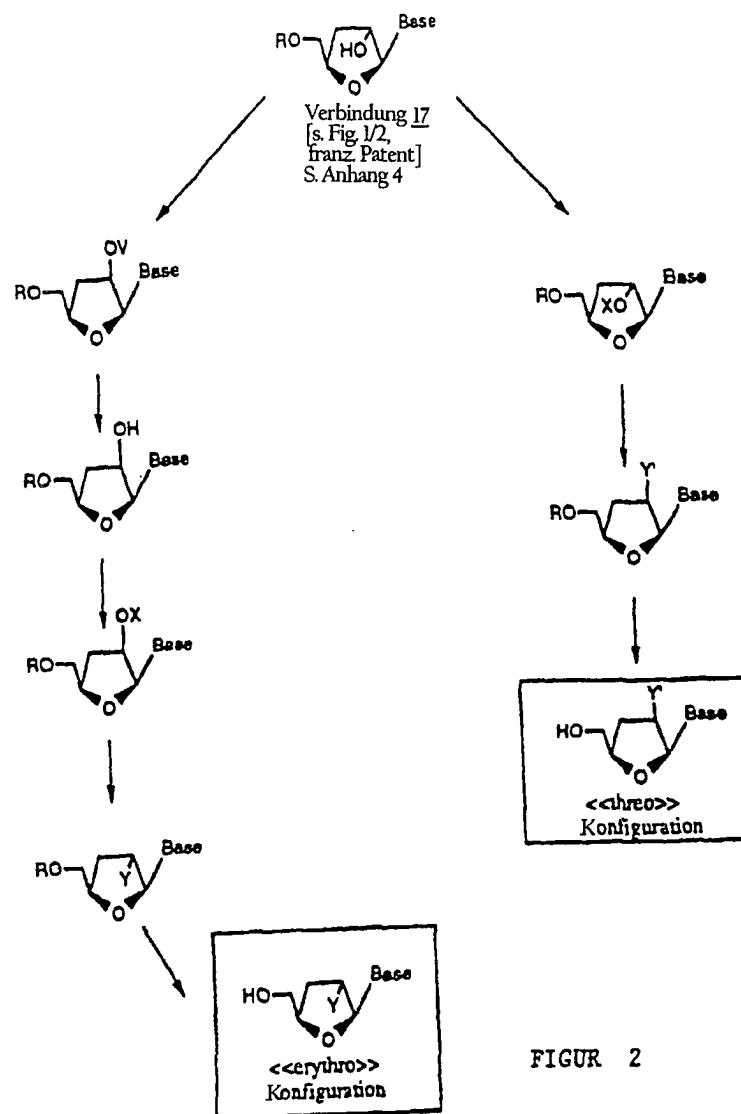
FIGUR 1



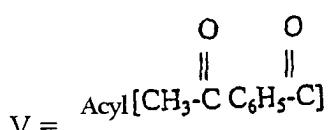
X = Abgangsgruppe [CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>, CF<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>]

Y, Y' = F, N<sub>3</sub>; NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> [R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = H, Alkyl, Aryl], NO<sub>2</sub>, NOR [R = H, Alkyl, Acyl], O-Alkyl, O-Aryl, etc.

Allgemeines Schema zur stereospezifischen Synthese von 2'-substituierten  $\beta$ -L-Dideoxynucleosiden

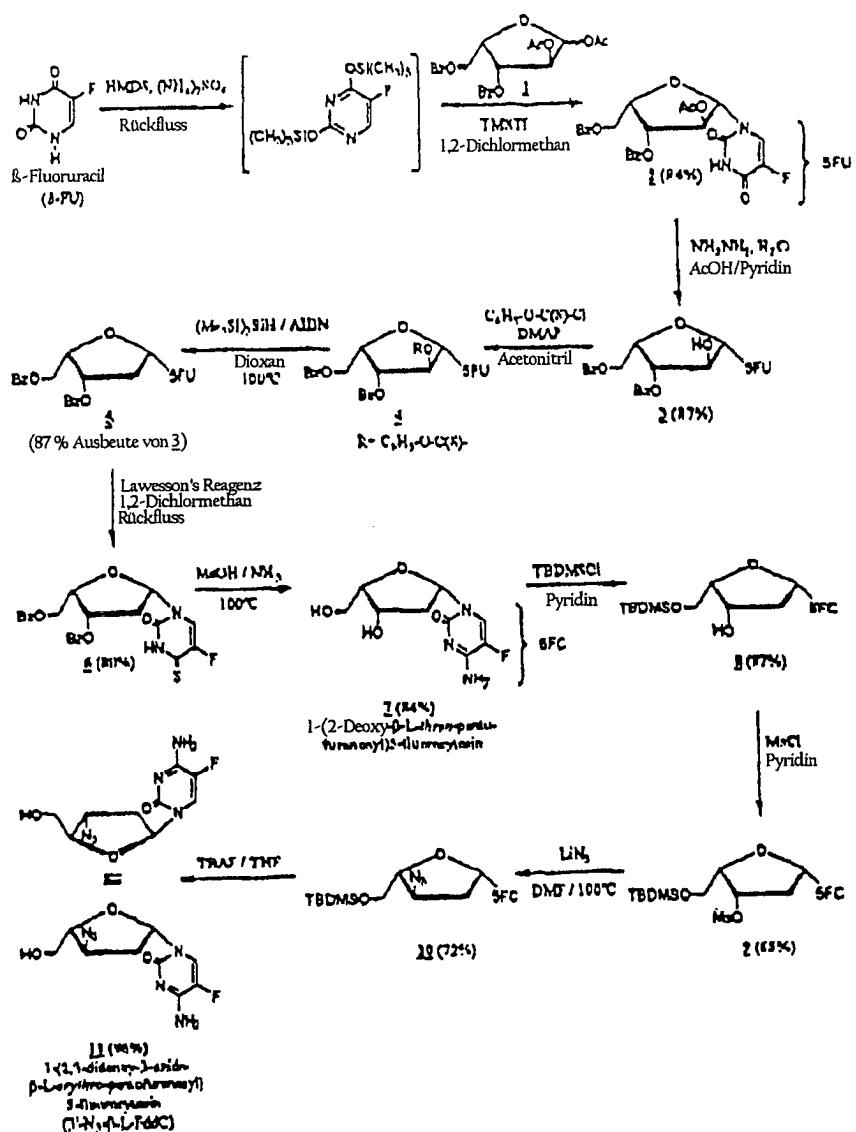


FIGUR 2

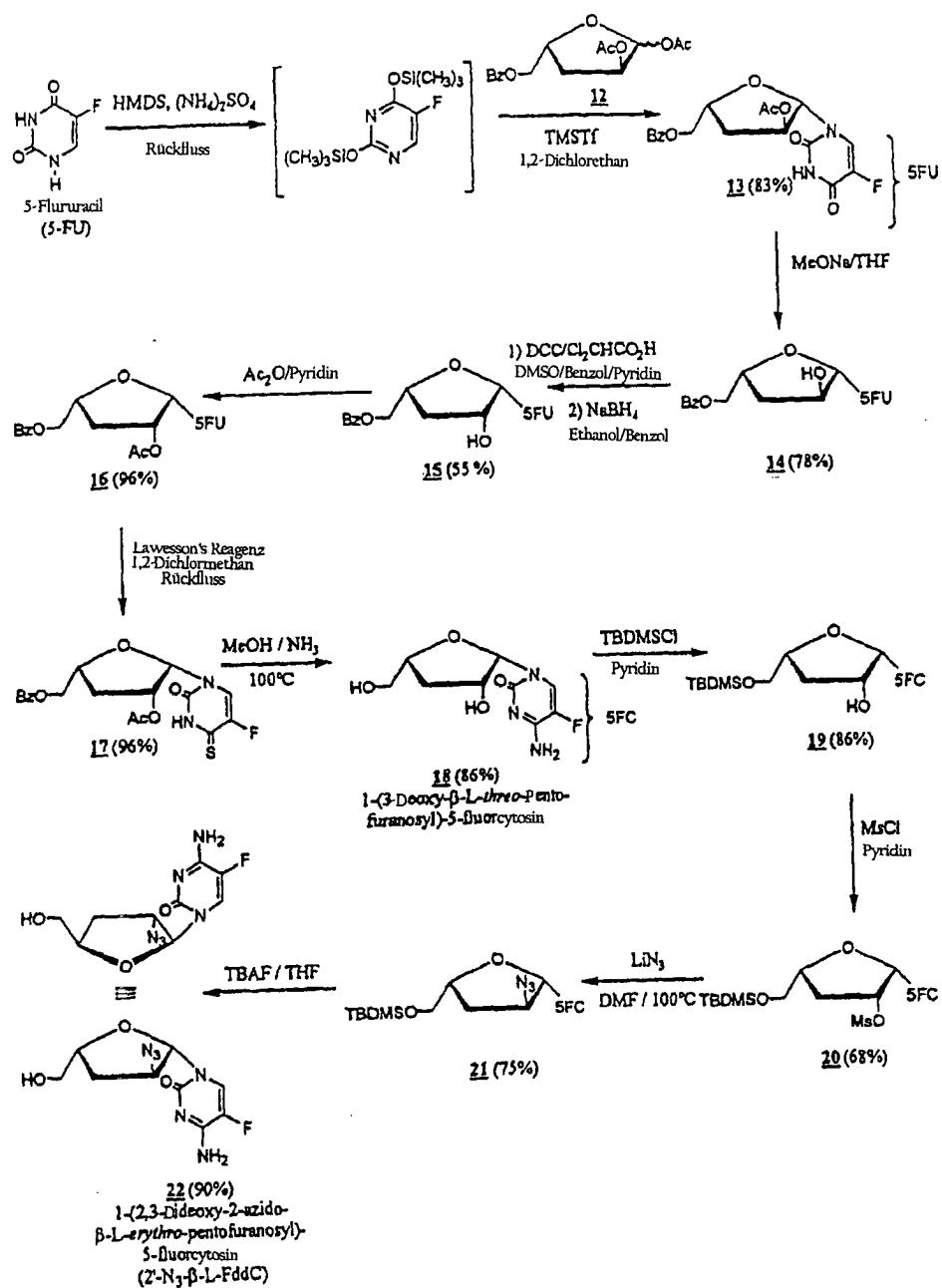


X = Abgangsgruppe [ $\text{CH}_3\text{SO}_2$ ,  $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2$ ,  $\text{CF}_3\text{SO}_2$ ]

Y,  $\text{Y}' = \text{F}, \text{N}_3; \text{NR}_1\text{R}_2 [\text{R}_1, \text{R}_2 = \text{H, Alkyl, Aryl}], \text{NO}_2, \text{NOR} [\text{R} = \text{H, Alkyl, Acyl}], \text{O-Alkyl, O-Aryl, etc.}$



Figur 3



Figur 4