



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41261 (13) C2

(51) 7 C07H19/073, 19/173, 19/23

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗБАГАЧЕНИХ БЕТА-АНОМЕРОМ НУКЛЕОЗИДІВ

(21) 93003070

(22) 18.06.1993

(24) 17.09.2001

(31) 07/902.112, 07/902.135, 07/902.150,
07/902.302, 07/902.312, 07/902.313, 08/044.312,
08/044.315, 08/044.343, 08/044.345, 08/044.996,
6/08/044.309(32) 22.06.1992, 22.06.1992, 22.06.1992,
22.06.1992, 22.06.1992, 22.06.1992, 07.04.1993,
07.04.1993, 07.04.1993, 07.04.1993, 07.04.1993,
07.04.1993

(33) US, US, US, US, US, US, US, US, US, US, US, US

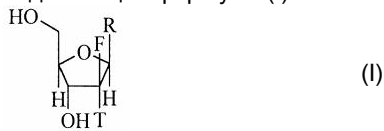
(46) 17.09.2001, Бюл. № 8, 2001 р.

(72) Та-Сен Чоу, US, Лаурі Мішель Потіт, US, Ду-
глас Петтон К'елл, US, Кора Сю Гроссман, US,
Ларрі Вейн Хертел, US, Річард Елмер Холмс, US,
Чарлз Девід Джоунс, US, Томас Едвард Мебрі, US

(73) ЕЛІ ЛІЛЛІ ЕНД КОМПАНІ, US

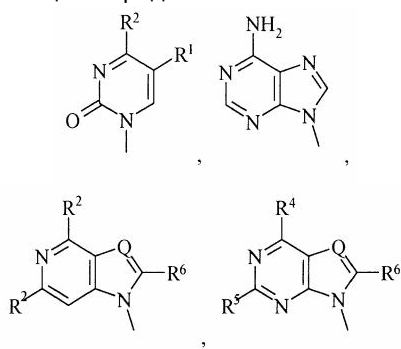
(56) Патент US № 4965374, C07D307/32,
23.10.1990.

Патент US № 5256798, C07D307/20, 26.10.1993

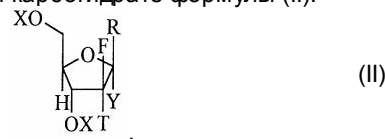
(57) 1. Способ получения обогащенных бета-
аномером нуклеозидов общей формулы (I):

где

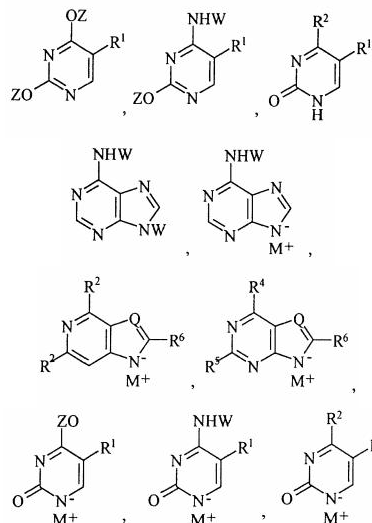
T- фтор,

R представляет нуклеозид, выбранный из груп-
пы, состоящей из радикалов

где

R¹ выбран из группы, состоящей из водорода,
алкила, замещенного алкила и галогена,R² выбран из группы, состоящей из гидроксигруппы, га-
логена, первичного амина или вторичного амина,
R⁴, R⁵ и R⁶ независимо выбраны из группы, со-
стоящей из водорода, -OH, -NH₂, -N(алкил)W, га-
логена,Q выбран из группы, состоящей из CH, CR⁸ или
N, где R⁸ выбран из группы, состоящей из галогена
или циано,**отличающийся** тем, что осуществляют S_N2 за-
мещение, необязательно в подходящем раствори-
теле, сульфонилоксигруппы (Y) в обогащенном
альфа-аномером карбогидрате формулы (II):

где

X независимо выбран из гидроксизащитных
групп,T имеет значения, определенные выше,
по крайней мере молярным эквивалентом нук-
леоснования (R⁹), выбранного из группы, состоя-
щей из

где

R¹, R², R⁴, R⁵, R⁶ и Q имеют значения, опреде-
ленные выше,

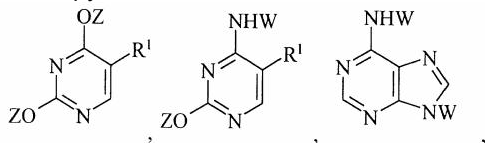
Z представляет собой гидроксизащитную группу,

W представляет аминозащитную группу,

M⁺ представляет катион,

причем SN_2 замещение проводят при температуре 17...(-120)°C и деблокирование с образованием соединения формулы (I).

2. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что R" выбрано из группы, состоящей из



где

R¹ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила и галогена,

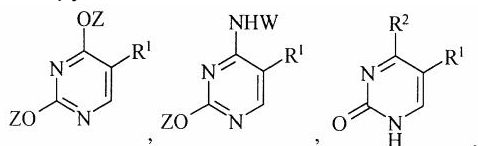
Z представляет гидроксизащитную группу,

W представляет аминозащитную группу,

Y выбран из группы, состоящей из алкилсульфонилокси, арилсульфонилокси, замещенной алкилсульфонилокси и замещенной арилсульфонилокси группы,

причем процесс осуществляют в растворе, имеющем концентрацию карбогидрата более 20 мас. % на единицу объема растворителя, а в качестве растворителя используют инертный растворитель с температурой кипения более 70°C.

3. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что R" выбран из группы, состоящей из



где

R¹ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила и галогена,

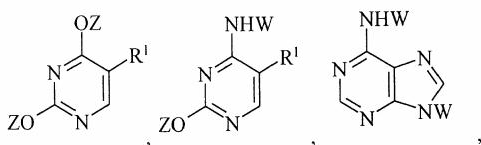
R² выбран из группы, состоящей из гидрокси, галогена, первичного amino или вторичного amino,

Z представляет гидроксизащитную группу,

W представляет аминозащитную группу,

Y выбран из группы, состоящей из трифторметансульфонилокси, 1,1,1-трифторэтансульфонилокси, октафторбутансульфонилокси и нонафторбутансульфонилокси, причем SN_2 замещение проводят при температуре от (-120) до 25°C с использованием низкотемпературного инертного растворителя.

4. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что R" выбран из группы, состоящей из



где

R¹ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила и галогена,

Z представляет гидроксизащитную группу,

W представляет аминозащитную группу,

Y выбран из группы, состоящей из алкилсульфонилокси, арилсульфонилокси, замещенного алкилсульфонилокси и замещенного арилсульфонилокси,

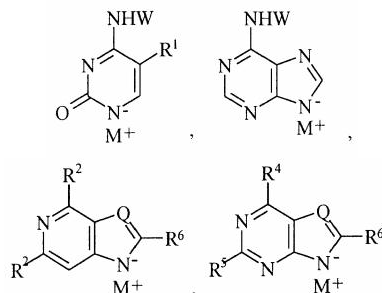
причем процесс проводят в присутствии катализатора.

5. Способ по п. 4, **отличающийся** тем, что катализатор выбирают из высокоионизированных солей,

которые являются по существу растворимыми в растворителе и содержат ненуклеофильный анион.

6. Способ по п. 4 или 5, **отличающийся** тем, что растворитель выбирают из полярных, ненуклеофильных растворителей.

7. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что R" выбран из группы, состоящей из



где

R² выбран из группы, состоящей из гидрокси, галогена, первичного amino или вторичного amino,

R⁴, R⁵, R⁶ независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, -OH, -NH₂, -N(алкил)W, галогена,

Q выбран из группы, состоящей из CH, CR⁸ и N, где R⁸ выбран из группы, состоящей из галогена или циано,

Z представляет гидроксизащитную группу,

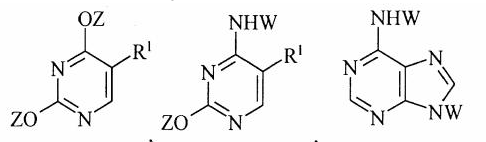
W представляет аминозащитную группу,

M⁺ представляет катион,

Y выбран из группы, состоящей из трифторметансульфонилокси, 1,1,1-трифторэтансульфонилокси, октафторбутансульфонилокси и нонафторбутансульфонилокси,

и растворителем является инертный растворитель с температурой замерзания ниже 26°C.

8. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что процесс осуществляют в отсутствии растворителя и R" выбирают из группы, состоящей из



где

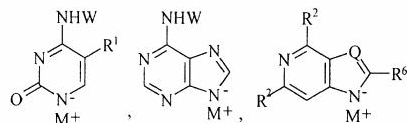
R¹ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила и галогена,

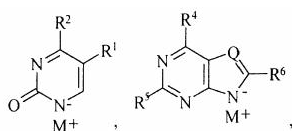
Z представляет собой гидроксизащитную группу,

W представляет аминозащитную группу, где Y выбран из группы, состоящей из алкилсульфонилокси, арилсульфонилокси, замещенного алкилсульфонилокси и замещенного арилсульфонилокси.

9. Способ по п. 8, **отличающийся** тем, что реакцию проводят при температуре от 100 до 160°C.

10. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что R" выбирают из группы, состоящей из





где

R^1 выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила и галогена,

R^2 выбран из группы, состоящей из гидроксигруппы, галогена, первичного амина и вторичного амина,

R^4 , R^5 , R^6 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, $-OH$, $-NH_2$, $-N(алкил)W$, галогена,

Q выбран из группы, состоящей из CH , CR^8 и N , где R^8 выбран из группы, состоящей из галогена или циано,

Z представляет гидроксизащитную группу,

W представляет аминозащитную группу,

Y выбран из группы, состоящей из алкилсульфонилокси, арилсульфонилокси, замещенного алкилсульфонилокси и замещенного арилсульфонилокси.

11. Способ по любому из пп. 1-10, **отличающийся** тем, что гидроксизащитная группа X соединения формулы (II) представляет бензоил.

12. Способ по любому из пп. 1-10, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

мулы (II) представляет собой метансульфонилокси.

13. Способ по п. 2, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

14. Способ по п. 4, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

15. Способ по п. 5, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

16. Способ по п. 6, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

17. Способ по п. 8, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

18. Способ по п. 9, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

19. Способ по п. 10, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет метансульфонилокси.

20. Способ по п. 1, **отличающийся** тем, что сульфонилоксигруппа Y соединения формулы (II) представляет трифторметансульфонилокси.

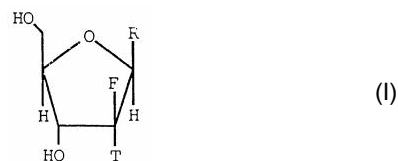
Данное изобретение относится к процессу стереоселективного гликозилирования для получения 2'-дезоксифторнуклеозидов и к промежуточным продуктам данного процесса.

Непрерывный интерес, проявляемый к синтезу 2'-дезоксифторнуклеозидов и их аналогов, основывается на их успешном использовании в качестве терапевтических агентов для лечения вирусных и раковых заболеваний. Соединением, представляющим особый интерес, является гемцитабин; см. европейское патентное описание № 211354 и патент США 4526988. Поскольку эти соединения являются бета-нуклеозидами, существует потребность в предоставлении таких соединений с высоким выходом.

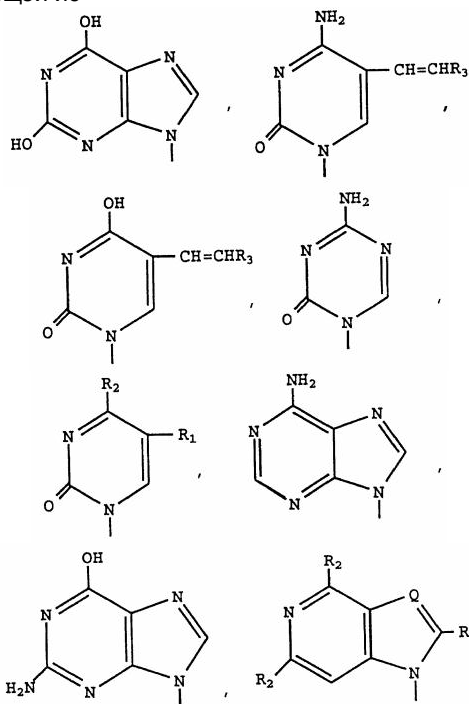
Существенной стадией в процессе синтеза 2'-дезоксифторнуклеозидов является конденсация или гликозилирование нуклеос основания и карбогидрата (углевода) с образованием N-гликозидной связи.

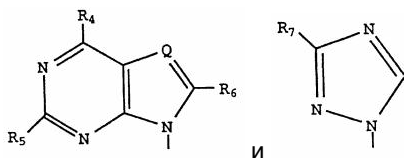
Однако процессы синтеза 2'-дезоксинуклеозидов, как правило, являются нестереоселективными и приводят к образованию смесей альфа- и бета-нуклеозидов. Например, процесс по патенту США 4526988 не приводил к стереоселективному получению 2-дезоксидефтор-2,2-дифтор-бета-нуклеозидов, а вместо этого давал 4:1 аномерное отношение α и β 2-дезоксидефтор-2,2-дифторнуклеозидов. Даже оптимизация защитных групп не смогла увеличить соотношение альфа и бета за пределы 1:1; см. патент США 4965374, по которому использовались карбогидрат с бензоильными защитными или блокирующими группами.

Согласно настоящему изобретению предлагается стереоселективный процесс гликозилирования для получения обогащенного бета-аномером нуклеозидов формулы:



где T выбран из водорода или фтора, и R представляет нуклеозид, выбранный из группы, состоящей из





где

R₁ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила, замещенного алкила и галоида;

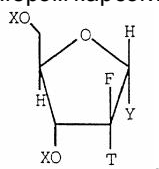
R₂ выбран из группы, состоящей из гидрокси, галоида, азидо, первичного амина и вторичного амина;

R₃ выбран из группы, состоящей из водорода, алкила и галоида;

R₄, R₅, R₆ независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, -OH, -NH₂, N (алкила), галоида, алкокси и тиоалкила;

R₇ выбран из группы, состоящей из водорода, галоида, циано, алкила, алкокси, алкоксикарбонила, тиоалкила, тиокарбоксимида и карбоксимида;

Q выбран из группы, состоящей из CH, CR₈ и N; где R₈ выбран из группы, состоящей из галоида, карбоксимида, тиокарбоксимида, алкоксикарбонила и нитрила, включающий S_N2 нуклеофильное замещение сульфилокси группы (Y) обогащенного альфа-аномером карбогидрата формулы:

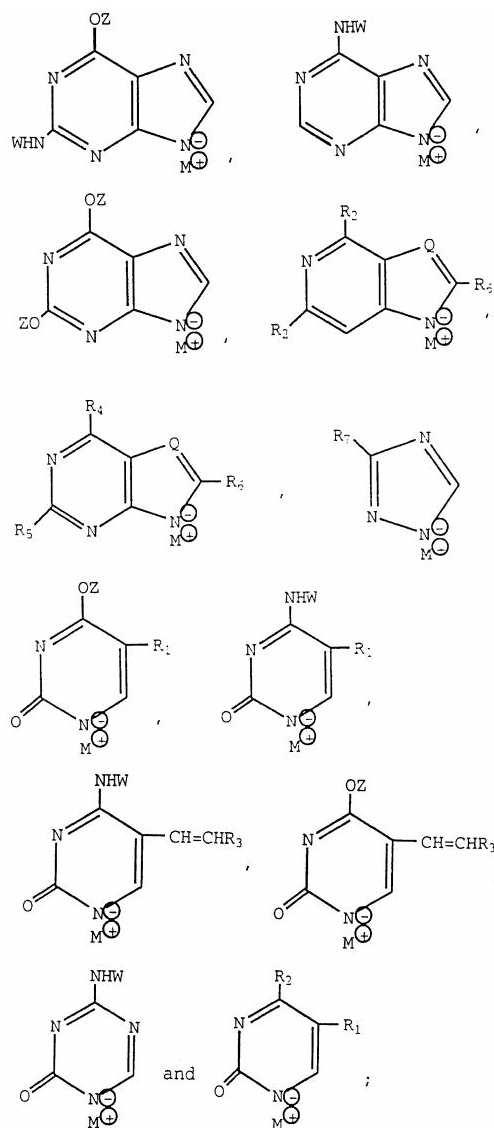
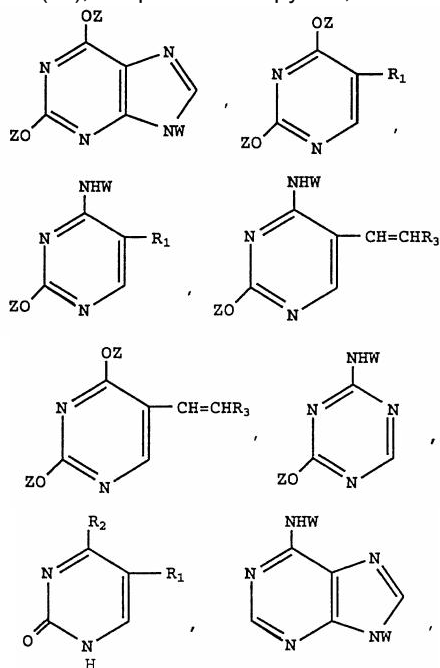


(II)

где

X независимо выбран из гидрокси-защитных групп, и

T имеет значения, определенные выше; по крайней мере, молярным эквивалентом нуклеооснования (R''), выбранного из группы, состоящей из:



где:

R₁-R₇ и Q имеют значения, определенные выше; Z представляет гидрокси-защитную группу (т.е. группу, защищающую гидрокси-группу);

W представляет amino-защитную группу и

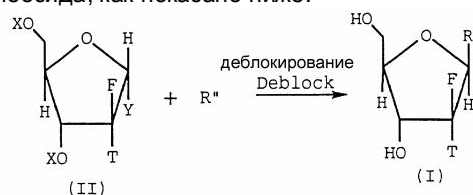
M⁺ представляет катион; и деблокирование с образованием соединения формулы (I).

На протяжении данного описания все температуры представлены в градусах Цельсия, все пропорции, процентные содержания и аналогичные выражены в весовых единицах, а все смеси - в объемных единицах, если не указано иное. Аномерные смеси выражены в виде соотношения вес/вес или в процентах.

Термин "лактол" один или в сочетании с другими относится к 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозе или 2-дезоксид-2-фтор-D-рибофуранозе. Термин "ксилотол" сам по себе или в сочетании относится ко всем изомерам ксилотол и их смесям. Термин "карбогидрат" один или в сочетании относится к активированному лактолу, в котором гидрокси группа в C-1 положении замещена желаемой удаляемой или уходящей группой. Термин "галоид" сам по себе или в сочетании относится к хлору, йоду, фтору или бром. Термин "алкил" сам по

себе или в сочетании относится к алифатическим углеводородным группам с прямой, циклической и разветвленной цепью, которые содержат от 1 до 7 атомов углерода, и предпочтительно, содержат до 4 атомов углерода, таким как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, н-пентил, н-гексил, 3-метилпентил и аналогичные группы, или к замещенным алифатическим углеводородным группам с прямой, циклической или разветвленной цепью, таким как хлорэтил, 1,2-дихлорэтил и аналогичные. Термин "алкокси" один или в сочетании относится к соединениям общей формулы АО; где А представляет алкил. Термин "арил" один или в сочетании относится к карбоциклическим или гетероциклическим группам, таким как фенил, нафтил, тиенил и их замещенные производные. Термин "тиоалкил" один или в сочетании относится к общей формуле BS; где В представляет алкил или водород. Термин "сложный эфир" один или в сочетании относится к общей формуле EООС, где Е представляет алкил или арил. Термин "ароматический" один или в сочетании относится к бензольно/подобным структурам, содержащим $(4n+2)$ делокализованных π электронов. Термины "сульфонат" или "сульфонилокси" сами по себе или в сочетании относятся к соединениям общей формулы BSO₃, где В представляет алкил, замещенный алкил, арил или замещенный арил. Термин "замещенный" один или в сочетании относится к замещению одной или большим числом групп, выбранных из циано, галоида, карбоалкокси, толуоила, нитро, алкокси, алкила и диалкиламино. Фраза "обогащенный аномером" одна или в сочетании относится к аномерной смеси, в которой соотношение конкретных аномеров составляет выше чем 1:1 и включает по существу чистый аномер. Термин "концентрированный" один или в сочетании относится к раствору, в котором весовое содержание карбогидрата, растворенного в растворителе, составляет выше чем 20% по весу на единицу объема растворителя. Например, растворение 100 грамм карбогидрата в 200 миллилитрах растворителя даст 50-процентный раствор карбогидрата. Термин "сопряженный анион" относится к аниону общей формулы BSO₃⁻, где В имеет значения, определенные выше. Термин "аномеризация" один или в сочетании относится к эпимеризации в С-1 положении рибофуранолильного производного.

В соответствии с настоящим процессом гликозилирования обогащенные бета-аномером 2'-дезоксид-2', 2'-дифторнуклеозиды и 2'-дезоксид-2'-фторнуклеозиды формулы (I) получаются с помощью взаимодействия обогащенного альфа-аномером карбогидрата формулы (II) с, по крайней мере, молярным эквивалентом нуклеоснования (R") и деблокирования получающегося в результате нуклеозида, как показано ниже:

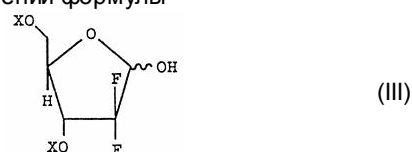


где Y, X, T, R" и R имеют значения, определенные выше.

Считается, что реакция гликозилирования протекает через S_N2 замещение (вытеснение). Следовательно, обогащенные бета-аномером нуклеозидные продукты настоящего изобретения получают стереоселективно в результате реакции нуклеоснования с обогащенным альфа-аномером карбогидратом.

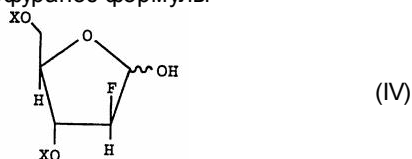
Лактольные исходные материалы, подходящие для использования при получении обогащенного альфа-аномером карбогидрата формулы (II), используемого в настоящем процессе гликозилирования, являются известными и свободно синтезируются с помощью стандартных процедур, обычно применяемых специалистами в данной области техники.

Например, в патенте США 4526988, упомянутом здесь для сведения, раскрывается синтез 2,2-дифтор-2-дезоксид-D-рибофуранозных промежуточных соединений формулы



где X представляет гидрокси-защитную группу.

Кроме того, авторы Reichman и др., Carbohydr. Res., 42, 233 (1975) раскрывают синтез 2-дезоксид-2-фтор-D-рибофураноз формулы



где X представляет гидрокси-защитную группу.

В предпочтительном воплощении настоящего процесса применяется обогащенное альфа-аномером 2,2-дифтор-2-дезоксид-D-рибофуранозо-3,5-дibenзоатное промежуточное соединение формулы (III).

Ключевой основой настоящего изобретения является обнаружение того, что новое обогащенное альфа-аномером карбогидратное промежуточное соединение формулы (III) или (IV) может вводиться в реакцию в условиях нуклеофильного замещения, которые благоприятствуют инверсии (т.е. S_N2), давая обогащенные бета-аномером нуклеозиды формулы (I).

Для достижения эффективной реакции между нуклеоснованием и обогащенным альфа-аномером карбогидратом формулы (II) к лактолу должна быть присоединена стереоселективно соответствующая удаляемая группа (V) для активации лактола и генерирования обогащенного альфа-аномером карбогидрата формулы (II). Однако конкретная выбранная удаляемая группа зависит от выбранного нуклеоснования и выбранных условий реакции гликозилирования.

Получение обогащенного альфа-аномером карбогидратного промежуточного соединения формулы (II) предпочтительно осуществляется по методике, описанной в двух находящихся совместно на рассмотрении заявках США 07/902301 и 07/902305.

В заявке № 07/902301 описывается стереоселективный процесс получения обогащенного α-

аномером промежуточного соединения формулы (II), где Т представляет фтор, с помощью взаимодействия лактола формулы (III) с аминовым основанием, имеющим показатель рКа от 8 до 20, в низко замерзающем инертном растворителе; доведения температуры реакционной смеси до примерно -40°C ... -120°C ; и добавления сульфонирующего реагента.

Аминовое основание предпочтительно выбирается из группы, состоящей из триэтиламина, трибутиламина, дибутиламина, диэтилметиламина, диметилэтиламина, бензилметиламина, N-метилморфолина, трипропиламина, дипропилэтиламина, N,N-диметилбензиламина, диизопропилэтиламина, диэтиламина, 1,8-диазацикло (5.4.0) ундец-7-ена и 1,5-диазацикло (4.3.0) нон-5-ена. Количество основания, предпочтительно применяемое, изменяется в пределах примерно от 1 молярного эквивалента до 2 молярных эквивалентов и более, предпочтительно примерно от 1,2 молярного эквивалента до 1,5 молярных эквивалентов.

Реакция осуществляется в инертном растворителе, имеющем точку заморозания предпочтительно ниже -78°C . Предпочтительные растворители выбираются из группы, состоящей из дихлорметана, 1,2-дихлорэтана, дихлорфторметана, ацетона, толуола, анизола, хлорбензола, и их смесей.

Температура смеси растворителей составляет предпочтительно примерно ниже -78°C . Например, соединение формулы III, в которой Х представляет бензил, добавлялось к дихлорметану и триэтиламину при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем температура реакции понижалась. Данные ^{19}F ЯМР снимались при различных температурах и показали, что по мере того как температура понижалась, происходило увеличение α : β аномерного отношения ионизированного лактола:

Температура	Соотношение альфа/бета
19°C	2,0:1
-3°C	2,3:1
-23°C	2,5:1
-43°C	3,0:1
-63°C	3,6:1
-83°C	4,4:1

Ионизированный лактол затем захватывается в растворе при более низкой температуре и более высоком отношении альфа-аномера добавлением сульфонирующего (сульфирующего) агента, образуя обогащенный α -аномером карбогидрат формулы (II).

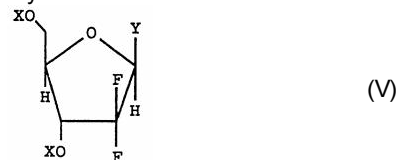
Таким образом, с помощью соответствующего подбора температуры можно варьировать соотношение α и β карбогидратного промежуточного исходного материала.

Удаляемая группа (V) присоединяется к лактолу с помощью сульфирования. Сульфорирующие реагенты предпочтительно выбираются из группы, состоящей из замещенных и незамещенных сульфорирующих алкилгалогенидов, замещенных и незамещенных арил-сульфирующих галогенидов и ангидридов алкилсульфокислот и ангидридов арилсульфокислот, таких как метансульфонилгалогенид, этансульфониогалогенид, 2-хлор-1-этансульфонилгалогенид, п-нитробензолсульфонилгалогенид, 2,4-динитробензолсульфонилгалогенид, бромбензолсульфонилгалогенид, дибромбензолсульфонилгалогенид, ангидрид бензолсульфокислоты, ангидрид п-бромбензолсульфокислоты и ангидрид метансульфокислоты, и замещенных и незамещенных фторалкил- и фторарил сульфорирующих галогенидов и ангидридов фторалкил- и фторарил-сульфокислот, таких как трифторметансульфонилангидрид, трифторметансульфонилгалогенид, 1,1,1-трифторэтансульфонилгалогенид, 1,1,1-трифторэтансульфонил ангидрид, галоидангидрид октафтор-замещенной кислоты, ангидрид октафтор-замещенной кислоты, галоидангидрид и ангидрид нонафтор-замещенной кислоты, в зависимости от желаемой удаляемой группы; более предпочтительным является метансульфонилгалогенид. Обогащенные α -аномером карбогидратные промежуточные продукты, полученные из нонизированных лактолов, особенно карбогидраты, содержащие трифторметансульфонилокси, являются нестабильными при комнатной температуре и поэтому предпочтительно подвергаются реакции с нуклеосоединением на месте.

Вследствие реакционной способности сульфорирующих реагентов может быть также желательным осуществлять реакцию гликозилирования периодическим или непрерывным способом для операций в крупном масштабе.

Обогащенные α -аномером промежуточные соединения формулы (II), в которой Т представляет водород, могут получаться аналогичным образом, за исключением того, что в качестве исходного материала используется лактол формулы (IV).

В заявке США 07/902305 описывается еще один стереоселективный процесс получения обогащенных α -аномером промежуточных соединений формулы (II), где Т представляет фтор, с помощью обработки бета-аномера рибофуранозилсульфоната формулы



где Y представляет сульфонат и каждый X независимо выбран из гидрокси-защитных групп, источником сопряженного аниона сульфокислоты, при повышенных температурах, в инертном растворителе.

Сопряженный анион сульфокислоты может получаться с помощью ряда приемов, известных специалистам в данной области. Они включают:

(а) нейтрализацию алкил- или арил-сульфокислоты, такой как 1-метансульфокислота, п-метилбензолсульфокислота, этансульфокислота, п-толуолсульфокислота, бензолсульфокислота, п-бромбензолсульфокислота и камфорсульфокислота, щелочнометаллическим основанием, таким как гидроокись натрия, гидрид натрия, гидроокись калия, трет-бутилат калия, метилат натрия и аналогичные;

(б) нейтрализацию алкил или арил-сульфокислот аминовым основанием, таким как триэтиламин, триметиламин, N,N-диметилбензиламин или N-метилморфолин, или ароматическим азотным основанием, таким как пиридин.

Примеры сопряженных анионов сульфокислот, получаемых с помощью данного метода, включают триэтиламмоний-метан-сульфонат, метансульфонат триметиламмония, метансульфонат N,N-диметилбензиламмония, пиридинийметан-сульфонат, триэтиламмоний (п-бромбензол)сульфонат, тетраэтиламмоний (п-бромбензол)сульфонат, тетраэтиламмоний (п-толуол)сульфонат, пиридиний (п-толуол)сульфонат и пиридиний-3-нитро-бензолсульфонат; более предпочтительным является метансульфонат триэтиламмония; и, наконец

(с) сопряженный анион сульфокислоты может получаться на месте по реакции 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозы с сульфоновым ангидридом, таким как бензолсульфоновый ангидрид, п-бромбензолсульфоновый ангидрид или метансульфо ангидрид, в основании, таком как триэтиламин. Продукты реакции представляют собой, например, 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-О-бензоил-1-метансульфонат и триэтиламмонийметансульфонат.

Бета-аномерный рибофуранозилсульфонат и сопряженный анион сульфокислоты нагреваются при температуре примерно от 50°C до 130°C и более предпочтительно до температуры дефлегмации смеси растворителей.

Растворители, подходящие для использования в процессе аномеризации должны быть инертными по отношению к условиям реакции; предпочтительными являются ацетонитрил, 1,2-дихлорэтан, 1,1,2-трихлорэтан, хлорбензол, бромбензол, дихлорбромметан, анизол, глим, диглим, метил трет-бутиловый эфир, тетрагидрофуран, диоксан, этилацетат, толуол, ксилолы, пиридин, N-метилпирролидинон, N,N-диметилформамид, 1,3-диметил-2-имидазолидинон, N,N-диметилацетамид, и их смеси; наиболее предпочтительными являются анизол, толуол, глим, ацетонитрил и их смеси.

Для увеличения растворимости и нуклеофильности металлических солей, используемых в качестве источника сопряженного аниона сульфокислоты может добавляться катализатор, выбранный из кроун-эфиров или катализаторов переноса фаз; предпочтительные катализаторы выбираются из 18-Кроун-6, 15-Кроун-5, 12-Кроун-4 и трис [2-(2-метоксисетокси)-этил]амин.

Данный процесс осуществляется в атмосферных условиях и предпочтительно безводных, и по существу завершается за период примерно от 15 минут до 24 часов. Получающиеся в результате обогащенные α-аномером карбогидраты формулы (II) получают с аномерным отношением примерно от 2,3:1 до 3,0:1 альфа к бета.

Обогащенные α-аномером промежуточные соединения формулы (II), где Т представляет водород, могут получаться аналогичным образом, за исключением того, что в качестве исходного материала используется лактол формулы (IV).

Реакции гликозирования обычно требуют защиты гидрокси групп лактола перед их использованием для того, чтобы воспрепятствовать реакции их гидрокси групп с нуклеоснованием, или разложению каким-либо образом. Гидрокси-защитными группами (X), подходящими для использования, в настоящем процессе гликозирования

являются группы, независимо выбранные из известных защитных групп, используемых в синтетической органической химии. Каждая выбранная гидрокси-защитная группа предпочтительно способна эффективно вводиться в лактол и легко удаляется из него после того, как реакция гликозирования завершается. Гидрокси-защитные группы, известные в технике, описываются в гл. 3 работы Protective Groups in Organic Chemistry, McOmil изд. Пленум Пресс, Нью-Йорк (1973) и гл. 2 работы Protective Groups in Organic Synthesis, Green, John, J.Wiley and Sons, Нью-Йорк (1981); предпочтительными являются сложные эфир-образующие группы, такие как формил, ацетил, замещенный ацетил, пропионил, бутинил, пиваламидо, 2-хлорацетил, бензоил, замещенный бензоил, феноксикарбонил, метоксиацетил; карбонатные производные, такие как феноксикарбонил, этоксикарбонил, трет-бутоксикарбонил, винилоксикарбонил, 2,2,2-трихлорэтоксикарбонил и бензилоксикарбонил; алкильные простой эфир-образующие группы, такие как бензил, дифенилметил, трифенилметил, трет-бутил, метоксиметил, тетрагидропиранил, аллил, тетрагидротиенил, 2-метоксизтилокси-метил; и силильные простой эфир-образующие группы, такие как триалкилсиллил, триметилсиллил, изопропидиалкилсиллил, алкилдиизопропилоиллил, триизопропилсиллил, трет-бутилдидиалкилсиллил и 1,1,3,3-тетраизопропилдидилоксанил; карбаматы, такие как N-фенилкарбамат и N-имидазоил-карбамат; однако более предпочтительными являются бензоил, монозамещенный бензоил и дизамещенный бензоил, ацетил, пивалоил, трифенилметилэфиры, и силильные простой эфир-образующие группы, особенно, трет-бутилдидиметилсиллил; причем наиболее предпочтительной является бензоил.

При присоединении гидрокси-защитных групп к лактолу применяются обычные условия реакции и зависят от характера выбранной конкретно гидрокси-защитной группы. Типичные реакционные условия описаны в патенте США 4526988.

В соответствии с настоящим процессом применяется, по крайней мере, эквивалентное количество нуклеоснования (R') относительно количества применяемого карбогидрата. Однако более предпочтительно использовать избыток нуклеоснования в пределах примерно от 1 молярного эквивалента до 30 молярных эквивалентов; более предпочтительно примерно от 10 молярных эквивалентов до 20 молярных эквивалентов и наиболее предпочтительно примерно от 15 до 20 молярных эквивалентов.

Применяемые здесь нуклеоснования (R') обычно известны химикам-органикам и нет необходимости в обсуждении их синтеза. Однако для того, чтобы быть полезными в настоящем процессе гликозирования, нуклеоснования или их тауомерные эквиваленты, которые несут амино или гидрокси группы, должны предпочтительно содержать защитные группы, такие как первичные amino-защитные группы (W) и/или гидрокси-защитные группы (Z), в зависимости от характера нуклеоснования. Защищающие группы препятствуют гидрокси или амино группам давать возможность конкурентных реакционных участков для обогащенного α-аномером карбогидрата. Защит-

ные группы присоединяются к нуклеоснованию (R") перед тем, как оно подвергается реакции с обогащенным альфа-аномером карбогидратом формулы II, и после этого они удаляются. Процедура присоединения защитных групп к нуклеоснованиям описывается в патенте США 4526988.

Предпочтительные amino-защитные группы (W) для пиримидиновых нуклеоснований выбираются из группы, состоящей из силильных образующих простой эфир-групп, таких как триалкилсилил, трет-бутилдиалкилсилил и трет-бутилдиарилсилил; карбаматов, таких как трет-бутоксикарбонил бензилоксикарбонил, 4-метоксибензилоксикарбонил и 4-нитробензилоксикарбонил; формила, ацетила, бензоила и пиваламида; образующих простой эфир-групп, таких как метоксиметил, трет-бутил, бензил, аллил и тетрагидропиранил; более предпочтительной группой является триметилсилил. Предпочтительные amino-защитные группы (W) для пуриновых нуклеоснований выбираются из группы, состоящей из алкилкарбоксамидов, галоидалкилкарбоксамидов и арилкарбоксамидов, таких как 2-триалкилсилилэтоксиметил, 4-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, трет-бутил, фталамидо, тетрагидропиранил, тетрагидрофуранил, метоксиметил, тритил, пиваламидо, трет-бутилдиметилсилил, трет-гексилдиметилсилил, триизопропилсилил, трихлорэтоксикарбонил, трифторацетил, нафтоил, формил, ацетил; сульфонамидов, таких как сульфонамидо и арилсульфонамидо, и более предпочтительной является пиваламидо. Помимо того, что она служит в качестве группы, защищающей amino-группу, пиваламидо защитная группа увеличивает растворимость заведомо нерастворимых производных пуриновых нуклеоснований и направляет реакцию N-гликозидного сочетания пуриновых оснований в сторону 9 региоизомера в противоположность 7 региоизомеру.

Предпочтительные гидроксид-защитные группы (Z) для пиримидиновых нуклеоснований выбираются из силильных образующих простой эфир-групп, таких как триалкилсилил; карбаматов, таких как трет-бутоксикарбонил, бензилоксикарбонил, 4-метоксибензилоксикарбонил и 4-нитробензилоксикарбонил; карбоциклических сложных эфиров, таких как формил, ацетил и пиваламидо; предпочтительной является триметилсилил. Предпочтительные гидроксид-защитные группы (Z) для пуриновых нуклеоснований выбираются из группы, состоящей из образующих простой эфир-групп, таких как бензил, трет-бутил, тритил, тетрагидропиранил, тетрагидрофуранил, метоксиметил, тритил; сложных эфиров, таких как формил, ацетилпропионил, пиваламидо, бензоил, замещенный бензоил; карбонатов, таких как карбобензоксид, трет-бутоксикарбонил, карбэтоксид, винилоксикарбонил; карбаматов, таких как N,N-диалкилкарбамид; триалкилсилиловых эфиров, таких как трет-бутилтриметилсилил, трет-гексилдиметилсилил, триизопропилсилил; более предпочтительной является пиваламидо.

Давая защитные группы нуклеоснованиям настоящего процесса, данные защитные группы сами по себе могут быть защищены. Например, N-ацетилцитозин может защищаться триметилсилилом, давая бис-триметилсилил-N-ацетилцитозин.

В дополнение к изложенному часто целесообразно превращать любые кето-кислородные атомы нуклеоснования в энольную форму. Это делает нуклеоснование более ароматическим и усиливает реакционную способность нуклеоснования по отношению к обогащенному альфа-аномером карбогидрату формулы (II). Наиболее удобно энolisировать кето-кислородные атомы и обеспечивать их силильными защитными группами.

Хотя и не существенно, целесообразно, чтобы реакция между обогащенным α -аномером карбогидратом формулы (II) и нуклеоснованием осуществлялась в сухой атмосфере, например, в сухом воздухе, азоте или аргоне. Это объясняется тем, что некоторые производные нуклеоснований, такие как силилированные производные нуклеоснований, являются чувствительными к влаге.

Любые растворители, используемые для получения нуклеоснования, могут перед реакцией гликозилирования удаляться или смешиваться с реакционным растворителем при условии, что данная смесь является инертной по отношению к реакции гликозилирования.

В случае, когда реакция гликозилирования осуществляется в реакционном растворителе, растворитель должен быть инертным по отношению к реакции гликозилирования.

Однако, как упоминалось ранее, конкретный применяемый растворитель для реакции будет зависеть от условий реакции гликозилирования (например, температуры реакции, растворителя), удаляемой группы и применяемого нуклеоснования.

Реакция гликозилирования может осуществляться при температуре в пределах примерно от 170°C до -120°C в атмосферных условиях и обычно в основном завершается примерно через 5 минут - 20 часов.

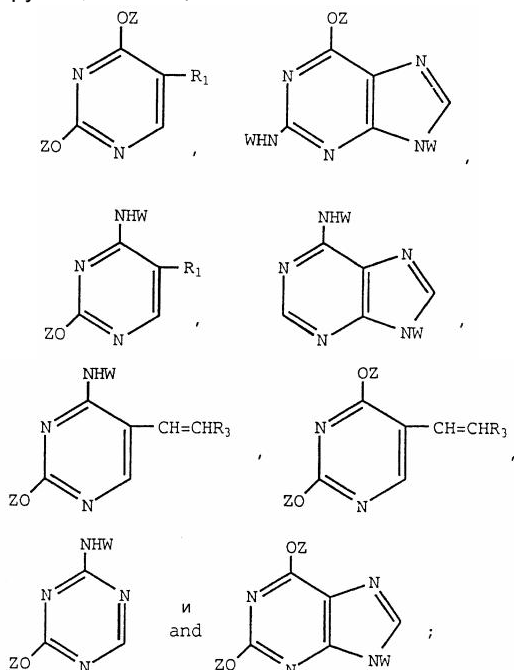
За ходом настоящего процесса можно следить с помощью процедур, хорошо известных специалистам в данной области техники, таких как жидкостная хроматография высокого давления (HPLC) или тонкослойная хроматография, которые могут использоваться для обнаружения образования нуклеозидного продукта.

Когда реакция проводится в растворе, предпочтается, чтобы использовался высококипящий инертный растворитель и раствор, имеющий концентрацию карбогидрата, по крайней мере, 20 процентов карбогидрата. Предпочтается концентрация карбогидрата примерно от 20% до 70%; и наиболее предпочтительно примерно от 30% до 50%. Подходящий интервал реакционных температур составляет примерно от 70°C до 170°C.

Высококипящий растворитель имеет предпочтительно точку кипения выше примерно 70°C и выбирается из группы, состоящей из ненуклеофильных, ароматических, галоидалкильных, алкокси и галоид-замещенных ароматических растворителей, и их смесей. Предпочтительными растворителями являются 1,2-дихлорэтан, 1,1,2-трихлорэтан, глим, диглим, толуол, ксилолы, анизол, дихлорбромметан, хлорбензол, дибромхлорметан, трибромметан, дибромметан, ацетонитрил, пропионитрил, диоксан, и их смеси; причем более предпочтительным является анизол.

Обогащенный альфа-аномером карбогидрат формулы (II), используемый с высококипящими растворителями, содержит сульфонилокси группу выбранную из алкилсульфонилокси, арилсульфонилокси, замещенных алкилсульфонилокси и замещенных арилсульфонилокси групп, такую как метансульфонилокси, 2-хлор-1-этансульфонилокси, толуолсульфонилокси, п-нитробензолсульфонилокси и п-бромбензолсульфонилокси.

Нуклеооснование (R"), предпочитавшее для использования с высококипящими растворителями, представляет собой соединение, выбранное из группы, состоящей из



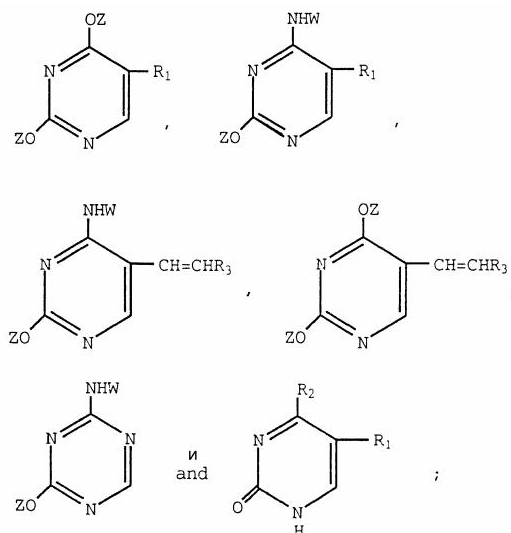
где R₁, R₃, Z и N имеют значения, определенные выше.

Когда обогащенный α-аномером карбогидрат формулы (II) содержит фторсульфонилокси группу, он является нестабильным при температурах выше комнатной температуры. Поэтому реакции гликозилирования с применением этих сульфонилокси групп должны осуществляться при температуре, равной или ниже комнатной температуры. Когда реакция гликозилирования проходит в этих условиях, растворитель должен быть низкотемпературным. Предпочтительный интервал температур для реакции составляет примерно от 25°C до -120°C. В этом случае предпочтительные растворители выбираются из группы, состоящей из дихлорметана, 1,2-дихлорэтана, дихлорфторметана, ацетона, толуола, анизола, хлорбензола, и их смесей; более предпочтительным является дихлорметан. Однако оптимальная температура реакции гликозилирования, проводимой при низких температурах зависит от удаляемой группы (V).

Например, когда удаляемой группой является трифторметансульфонилокси, предпочтительный интервал температуры реакции составляет примерно от -50°C до 25°C; причем более предпочтительной является температура примерно от -20°C до 25°C. Однако, когда удаляемой группой является 1,1,1-трифторэтансульфонилокси, октафторбутансульфонилокси или нанофторбутансульфо-

нилокси, предпочтительная температура реакции варьирует примерно от -20°C до 25°C и более предпочтительной является температура примерно от 0°C до 25°C.

Нуклеооснования (R"), предпочтительные для использования в условиях низких температур, являются соединениями, выбранными из группы, состоящей из

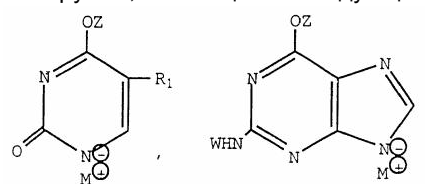


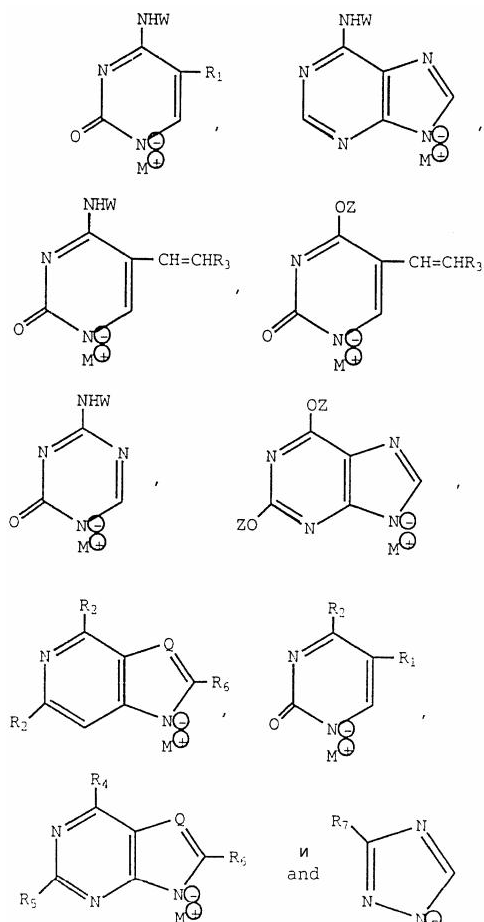
где R₁, R₂, R₃, Z и W имеют значения, определенные выше.

Нуклеооснование (R") может необязательно превращаться в соль катиона металла для усиления его нуклеофильной реакционной способности с обогащенным α-аномером карбогидратом формулы (II) (т.е. анионное гликозилирование). Эти катионные соли нуклеооснований приготавливаются с помощью добавления к нуклеооснованию в растворителе основания.

Основание может выбираться из группы, состоящей из трет-бутилата натрия, гидроксида натрия, метилата натрия, этилата натрия, гидроксида лития, гидроксида калия, гидроксида калия, метилата калия, этилата калия и т-бутилата калия. Альтернативно, основание может выбираться из триалкиламина или тетраалкиламмония. Подходящие инертные растворители для реакции могут выбираться из группы, состоящей из ацетонитрила, диметилформамида, диметилацетамида, 1,3-диметил-2-имидазолидинона, тетрагидрофурана, сульфолана, N-метилпирролидинона, диметилсульфоксида и их смесей. Растворитель может удаляться перед реакцией гликозилирования или смешиваться с растворителем для реакции гликозилирования при условии, что смесь является по существу инертной по отношению к реакции гликозилирования. Подходящие температуры реакции варьируют примерно от 23°C до 130°C.

Нуклеооснование (R") предпочтительно выбирается из группы, состоящей из следующих





где R_1 - R_7 , Q , Z , W и M^+ имеют значения, определенные выше.

Обогащенный альфа-аномером карбогидрат формулы (II) в этих условиях содержит сульфонилокси группу, выбранную из алкилсульфонилокси, арилсульфонилокси, замещенной алкилсульфонилокси, замещенной арилсульфонилокси, фтор-алкилсульфонилокси и фтор-арилсульфонилокси, такую как трифторметансульфонилокси, 1,1,1-трифторэтансульфонилокси, октафторбутансульфонилокси, нанофторбутансульфонилокси, метансульфонилокси, 2-хлор-1-этансульфонилокси, толуолсульфонилокси, п-нитробензолсульфонилокси и п-бромбензолсульфонилокси.

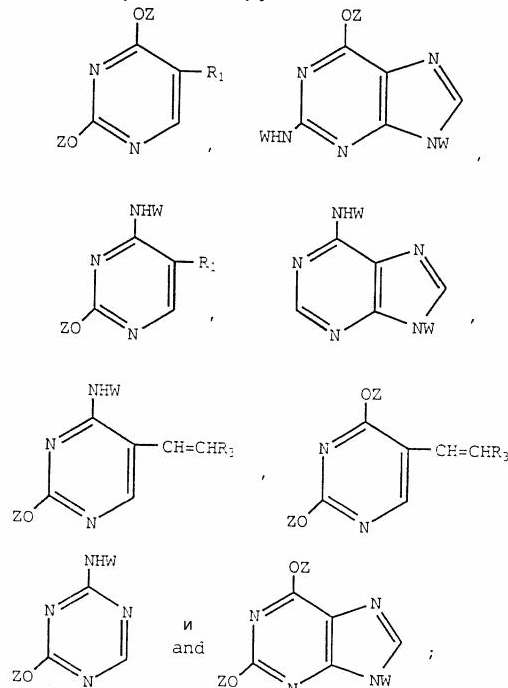
Как отмечалось ранее, фтор-сульфонилокси группы формулы (II) имеют тенденцию быть нестабильными при более высоких температурах и указанная выше реакция с солью нуклеоса- ния с катионом металла должна проводиться с использованием низкотемпературного инертного растворителя с такими группами. Предпочтительные температуры для реакции варьируют примерно от 25°C до -120°C.

Реакция гликозилирования может также проводиться в отсутствие растворителя (т.е. гликозилирование в расплаве). Очевидно, применяемая температура должна быть достаточной для превращения обогащенного α -аномером карбогидратного промежуточного соединения формулы (II) и нуклеоса- ния в фазу расплава. Предпочтительные температуры реакции варьируют примерно от 100°C до 160°C; однако более предпочтительной является температура примерно от 110°C

до 160°C; и наиболее предпочтительной является температура примерно от 130°C до 150°C.

Обогащенный α -аномером карбогидрат формулы (II) в условиях конденсации содержит сульфонилокси группу, выбранную из алкилсульфонилокси, арилсульфонилокси, замещенной алкилсульфонилокси и замещенной арилсульфонилокси, такую как метансульфонилокси, 2-хлор-1-этансульфонилокси, толуолсульфонилокси, п-нитробензолсульфонилокси и п-бромбензолсульфонилокси.

Нуклеоса- ние (R''), подходящее для использования в условиях сплавления, предпочтительно выбирается из группы, состоящей из



где R_1 , R_3 , Z и W имеют значения, определенные выше.

Настоящий процесс может также промотироваться катализатором. Когда применяется катализатор, он существенно снижает количество требуемого нуклеоса- ния, увеличивает стереоселективность, снижает стоимость переработки увеличивает производительность, упрощает выделение продукта и уменьшает необходимую температуру реакции, давая возможность использовать менее термостойкие карбогидраты. Поэтому в настоящем процессе желательно применяется катализатор, которым является соль содержащая не- нуклеофильный анион. Предпочтительными являются соли металлов группы IA, IIA или четвертичные аммониевые соли. Катализатор должен быть растворимым в реакционном растворителе и высокоионизированным.

Предпочтительными являются солевые катализаторы, выбранные из группы, состоящей из калиевой, бариевой, цезиевой и триалкиламмониевой солей трифторметансульфо- кислоты, нанофторбутансульфо- кислоты, серной кислоты, хлорной, азотной и трифторуксусной кислоты; более предпочтительными являются калиевая или цезиевая соли трифторметансульфо- кислоты. Подходящая реакция реакции находится в интервале примерно от 50°C до 100°C.

триметилсилилцитозина помещалось в 20 мл ксилолов. Ксилолы удалялись, и бис-триметилсилилцитозин снова помещался в 20 мл ксилолов. Бис-триметилсилилцитозин выпаривался досуха и помещался в 5 мл ксилолов. 1 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -метансульфоната подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозиновым раствором при 127°C в течение 3,5 часов.

Анализ жидкостной хроматографии высокой разрешающей способности (HPLC) подтверждал завершение реакции.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась до 60°C, разбавлялась в 100 мл этилацетата и промывалась 200 мл 1 норм. соляной кислоты. Образовывалась эмульсия, и два слоя, которые образовывались, разделялись. Органический слой промывался последовательно 100 мл 5% бикарбоната натрия и 100 мл насыщенного раствора хлорида натрия, затем сушились над сульфатом магния. Количественный анализ HPLC этилацетатного слоя показал, что выход заблокированного бета-аномерного нуклеозида составил 50%.

Аномерное отношение бета к альфа заблокированного нуклеозида было 2,2:1.

Пример 2

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 5 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина.

К 2,8 г бис-триметилсилилцитозина добавлялось 3 мл ксилолов, и раствор нагревался до 120°C до тех пор, пока бис-триметилсилилцитозин не солюбилизировался. 1 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -метансульфоната, растворенного в 2 мл ксилолов, нагревался и подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозиновым раствором при 130°C в течение 16 часов. Анализ HPLC подтверждал завершение реакции. Аномерное отношение бета к альфа заблокированного нуклеозида было 1,1:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь разбавлялась 150 мл этилацетата и промывалась 150 мл 1 норм. соляной кислоты. Имела место эмульсия, и два слоя, которые образовывались, разделялись. Органический слой промывался последовательно 100 мл воды и 100 мл 5% бикарбоната натрия, затем сушился над сульфатом магния. Для более точного анализа HPLC 1 мл органического слоя выпаривался досуха и помещался в 1 мл ацетонитрила. Количественный анализ HPLC органического слоя в ацетонитриле указал на то, что выход заблокированного бета-аномерного нуклеозида составил 36%.

Пример 3

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она в виде хлоргидратной соли с 15 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

Бис-триметилсилилцитозин приготавливался с помощью объединения 18,33 г цитозина и 10 мл анизола с 64,3 мл N-метил-N-(триметилсилил)-трифторацетамида и нагревания раствора при 80°C в течение 30 минут.

5,0 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -метансульфоната, растворенного в 10 мл анизола, подвергались взаимодействию с раствором бис-триметилсилилцитозина при 105°C в течение 5 часов. Аномерное отношение бета к альфа заблокированного нуклеозида составляло 5,4:1.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась до 60°C, разбавлялась 75 мл этилацетата и промывалась 200 мл 1 норм. соляной кислоты. Образовался полупрозрачный раствор, содержащий твердые частицы. Раствор подогревался до 60-70°C в течение 15 минут, фильтровался, и выделенное твердое вещество промывалось последовательно 20 мл этилацетата, затем сушилось в вакуумной печи при 40°C в течение 16 часов. Получающийся в результате нуклеозидный продукт весил 4,0 г, т.пл. 252-256°C. Количественный анализ HPLC подтвердил, что продукт представлял хлоргидратную соль заблокированного бета-аномерного нуклеозида с выходом 75 процентов.

Пример 4

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 10 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

Бис-триметилсилилцитозин приготавливался с помощью процедуры, описанной в примере 1, за исключением того, что использовалось 20 г цитозина, 380 мл гексаметилдисилазана, 1,18 г сульфата аммония и 48 мл ксилолов. Бис-триметилсилилцитозин растворялся в 24 мл ксилола. 9,6 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-толуолсульфоната в соотношении альфа к бета 70:30 растворялось в 24 мл ксилолов и подвергалось реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина в течение 1 часа. Анализ HPLC подтверждал завершение реакции.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась до 65°C и добавлялось 100 мл этилацетата. Раствор выдерживался при 65°C и промывался 200 мл 1 норм. соляной кислоты. Получалась эмульсия, и два слоя, которые образовывались, разделялись. Органический слой промывался 200 мл 5% бикарбоната натрия, затем сушился над сульфатом магния. Аномерное отношение бета к альфа заблокированного нуклеозида составляло 1,1:1. Количественный анализ HPLC указал на то, что выход заблокированного бета-аномера нуклеозида составил 27 процентов.

Пример 5

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами тритриметилсилилцитозина

Бис-триметилсилилцитозин приготавливался с помощью смешения 10 г цитозина с 175 мл гексаметилдисилазана и 25 мг сульфата аммония в атмосфере азота и нагревания раствора при 120°C в течение 2 часов. Смесь охлаждалась до 80°C и разбавлялась 100 мл-ми этилацетата. Гексаметилдисилазан и этилацетат в последствии атмосферно отгонялись при температуре 145°C. Данная процедура повторялась дважды, затем получающийся в результате бис-триметилсилилци-

тозин добавлялся к 15 мл анизола и охлаждался до 100-115°C.

5,75 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1- α -метансульфоната, растворенного в 10 мл анизола, перемешивалось при 45°C до тех пор, пока не образовывался однородный раствор, и подвергалось реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при 115°C-120°C в течение 7 часов.

Анализ HPLC подтверждал завершение реакции. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 7,3:1.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась до 88°C, разбавлялась 34 мл-ми этилацетата и промывалась 125 мл-ми 4 норм. соляной кислоты. Образовалась суспензия, содержащая твердые частицы, перемешивалась в течение 1,5 часов при 80°C и фильтровалась. Фильтрат промывался 50 мл-ми 4 норм. соляной кислоты и сушился в вакуумной печи при 45°C. Получающийся в результате нуклеозидный продукт весил 4,6 г. Количественный анализ HPLC доказал, что выход блокированного бета-аномера нуклеозида составил 79,5 процентов.

Пример 6

Получение обогащенной бета-аномером хлоргидратной соли 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

Бис-триметилсилилцитозин приготавливался с помощью процедуры, описанной в примере 5. Раствор охлаждался до 100°C.

5,75 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1- α -метансульфоната, растворенного в 10 мл анизола, перемешивалось при 45°C до тех пор, пока не образовывался однородный раствор, и подвергалось взаимодействию с бис-триметилсилилцитозиновым раствором при 110°C-115°C в течение 16 часов. Анализ HPLC подтвердил, что оставалось только 3,9% непрореагировавшего 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1- α -метансульфоната. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составляло 7,2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась и разбавлялась 69 мл-ми этилацетата при 65°C. Реакционная смесь затем объединялась с 185 мл 4 норм. соляной кислоты. Смесь нагревалась с обратным холодильником в течение 1 часа при 78°C для образования суспензии. Суспензия фильтровалась, и твердое вещество промывалось 60 мл-ми 4 норм. соляной кислоты и сушилось в вакуумной печи при 45°C. Нуклеозидный продукт весил 3,62 г. Количественный анализ HPLC подтвердил, что продукт представлял хлоргидратную соль блокированного бета-аномера нуклеозида с выходом 64,2%.

Пример 7

Получение обогащенного бета-аномером 9-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-5-аминопурина с 15 эквивалентами бис-триметилсилиладенина

Бис-триметилсилиладенин приготавливался с помощью объединения 7 г аденина и 109 мл гексаметилдисилазана с 250 мг сульфата аммония и нагревания смеси при 100-115°C в течение 8 часов. Раствор нагревался с обратным холодильником в течение дополнительных 30 минут, и избыток гексаметилдисилазана впоследствии удалялся, а 14,5 г бис-триметилсилиладенина растворялось в 3 мл анизола, 1,58 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1- α -метансульфоната подвергалось реакции с раствором бис-триметилсилиладенина при 105-110°C в течение 24 часов.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась до 30°C, разбавлялась 50 мл-ми этилацетата и промывалась 75 мл-ми 4 норм. соляной кислоты. Образовалась эмульсия, и органический слой отделялся и промывался последовательно 75 мл 5% бикарбоната натрия и 75 мл насыщенного раствора хлористого натрия, затем сушился над сульфатом магния.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 6:1.

В следующей таблице показано, как концентрация карбогидрата и выбранный карбогидрат влияют на аномерное соотношение нуклеозидного продукта.

Таблица

Основание

Растворитель	Карбо.	Основание (R')	Эквивалент (R')	Температура	Карбо. Конц.	Нуклеозид соотношение α/β	Выход
Ксилолы	α -OMs	Цитозин	1,5	127°C	20%	1,5:1	14% β
"	α -OMs	"	1,5	127°C	50%	1,5:1	15% β
"	α -OMs	"	5	130°C	20%	1:1,1	36% β
"	α -OMs	"	10	127°C	50%	1:2,2	50% β
"	α -OMs	"	10	120°C	20%	1:1,6	32% β
"	50:50	"	1,5	125°C	50%	3:1	12% β
	α/β -OMs						
Анизол	α -OMs	"	2	105°C	20%	1,3:1	18% β
"	α -OMs	"	3	105°C	50%	1:1,3	22% β
"	α -OMs	"	15	105°C	50%	1:5,4	75% $\beta(\alpha)$
"	α -OMs	5-F-цитозин	10	115°C	50%	1:6	N/D

Раствори- тель	Карбо.	Основание (R')	Эквивалент (R')	Температура	Карбо. Конц.	Нуклеозид соотношение α/β	Выход
Анизол	α -OMs	5-F-Урацил	5	130°C	50%	1:6	N/D
Ксилолы	70:30 α/β -OTs	Цитозин	3	123°C	20%	1,7:1	6% β
Ксилолы	70:30 α/β -OTs	Цитозин	5	125°C	20%	1,7:1	N/D
Ксилолы	70:30 α/β -OTs	Цитозин	10	125°C	20%	1:1,1	27% β
"-	70:30 α/β -OTs	"-	10	125°C	20%	1,8:1	23% β
"-	85:15 α/β -OBs	Ацетил Цитозин	5	110°C	20%	1:1	N/D
Анизол	α -OMs	"-	20	115°C	25%	1:7,3	79,5% β (α)
"-	α -OMs	Аденин	15	110°C	50%	1:6	N/D
"-	α -OMs	Цитозин	20	115°C	25%	1:7,2	64% β

(N/D) обозначает не определялся. Карбогидраты (карбо) являются гидроксизащитными и включают.... α - или β -OMs представляет альфа- или бета-2,2-дифтор-2-дезоксид-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-метансульфонат; β или α -OTs представляет бета- или альфа-2,2-дифтор-2-дезоксид-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-толуолсульфонат; и α - или β -OBs представляет альфа- или бета-2,2-дифтор-2-дезоксид-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-бромбензолсульфонат. 70:30 α/β -OTs карбогидраты получались путем аномеризации β -OTs солью п-толуолсульфокислоты. Выходы даны в расчете на количество карбогидрата и вычислялись в результате количественного анализа HPLC с обратной фазой, где соответствующий пик раствора продукта сравнивался со стандартом, 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил- β -D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-оном, за исключением в случае (а), который дает выход выделенного продукта. (*) Концентрация карбогидрата (Карбо. Конц.) выражена в процентах карбогидрата по весу (граммы) на единицу объема растворителя (миллилитры). Группой, защищающей нуклеосаждение, в каждом примере является триметилсилил.

Пример 8

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 5,78 г цитозина добавлялось 112 мл гексаметилдисилазана и 100 мг сульфата аммония. Раствор нагревался до 115-120°C в течение 1,5 часов при перемешивании, и избыток гексаметилдисилазана впоследствии удалялся. Смесь - охлаждалась до 60°C и растворялась в 40 мл 1,2-дихлорметана, образуя гомогенный раствор бис-триметилсилилцитозина.

К 1 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 10 мл дихлорметана и 0,54 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 30 минут, охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонил-ангидрида, в 0,50 мл дихлорметана, образуя обогащенное альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонатное проме-

жуточное соединение в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C. Анализ ^{19}F ядерного магнитного резонанса (ЯМР) обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонатного промежуточного соединения при 65°C дал следующие данные: ^{19}F ЯМР (300 МГц, CDCl_3), δ -77 (с., 3F, CF_3SO_2)-III (д., J=257 Гц, 1F, альфа-аномер), -122 (д., J=242 Гц, 1F, бета-аномер), -124 (д., J=257 Гц, 1F, альфа-аномер), -126 млн.дол. (д., J=242 Гц, 1F, бета-аномер). Следует заметить, что все сдвиги ^{19}F ЯМР пиков даны относительно гексафторбензола, которому пердписана частота -162,9 млн.дол. Спектр ^{19}F ЯМР также указал на фтор-протон сочетания, однако характер этих сочетаний не определялся.

Раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при -65°C, и реакционной температуре давали возможность подниматься до 23°C, и образовывался названный в заголовке блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 1,9:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 100 мл дихлорметана и 200 мл 1 норм. соляной кислоты. Органический слой отделялся и промывался 200 мл-ми 5% бикарбоната натрия. Органический слой снова отделялся и промывался 200 мл-ми насыщенного хлористого натрия. Целевой нуклеозидный продукт выпадал в осадок из органического слоя. Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномера нуклеозида 42 процента. ^1H ЯМР (DMSO): δ =4,74 (4'H), 4,79 (5'H), 5,84 (5H), 5,88 (3'H), 6,44 (1'H), 7,56 (NH_2), 7,68 (6H).

^{13}C ЯМР (DMSO): δ =63,46 (5'с), 71,80 (3'с), 75,71 (4'с), 84,64 (1'с), 95,12 (5'с), 121,86 (2'с), 141,93 (6'с), 154,48 (2с), 165,87 (4с).

Пример 9

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофу-

ранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

Раствор бис-триметилсилилцитозина приготавливался суспендированием 5,78 г цитозина в 75 мл дихлорметана и добавлением 20,57 мл N-метил-N-триметилсилилтрифторацетамида и охлаждением получающегося раствора до -30°C.

К 1 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 10 мл дихлорметана и 0,55 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 30 минут, охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонилангидрида в 1 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C. Обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в виде раствора подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при -30°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2,3:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 200 мл 1 норм. соляной кислоты. Органический слой отделялся и промывался 5% карбонатом натрия. Количественный анализ HPLC органического слоя показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 45%.

Пример 10

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-дибензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилцитозина

Раствор бис-триметилсилилцитозина приготавливался с помощью процедуры, описанной в примере 8, и охлаждался до -15°C.

К 1 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 10 мл дихлорметана и 0,54 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 30 минут, охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонилангидрида в 0,5 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C. Обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонатный раствор подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при -15°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC. Аномерное отношение бета и альфа блокированного нуклеозида составило 2,3:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси дихлорметан удалялся, и получающийся остаток растворялся в 21 мл анизола, а затем 40 мл воды, а затем нагревался до 90°C. Твердые вещества, которые образовывались, удалялись из раствора. Органической и водной слою отделялись, и органический слой впо-

следствии промывался дополнительным количеством 10 мл воды. Из органического слоя выпадал в осадок бета-аномерный нуклеозидный продукт. Количественный анализ HPLC обнаружил выход блокированного бета-аномера нуклеозида 58%.

Пример 11

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-дибензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

Раствор бис-триметилсилилцитозина приготавливался путем суспендирования 5,78 г цитозина в 20 мл дихлорметана и добавления 20,57 мл N-метил-N-триметилсилилтрифторацетамида в 10 мл дихлорметана и охлаждения получающегося раствора до 0°C.

К 1 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 10 мл дихлорметана и 0,55 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 30 минут, охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонилангидрида в 1 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C. Обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при 0°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2,5:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 250 мл 1 норм. соляной кислоты. Органический слой отделялся и промывался 200 мл 5% карбоната натрия. Количественный анализ HPLC органического слоя обнаружил выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 49 процентов.

Пример 12

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-дибензоил-D-рибофуранозил)-4-ацетамидопиримидин-2-она с 10 эквивалентами бис-триметилсилил-N-ацетилцитозина

К 4 г N-ацетилцитозина добавлялось 56 мл гексаметилдисилазана и 698 мг сульфата аммония. Данный раствор нагревался до 115-120°C в течение 4 часов при перемешивании, и избыток гексаметилдисилазана впоследствии удалялся. Смесь охлаждалась до -50°C и растворялась в 50 мл 1,2-дихлорэтана. 1,2-дихлорэтан удалялся и получающийся твердый остаток растворялся снова в 50 мл 1,2-дихлорэтана. 1,2-дихлорэтан снова удалялся, и образовывался маслянистый остаток. Маслянистый остаток брался в 2,5 мл 1,2-дихлорэтана, образуя гомогенный раствор бис-триметилсилил-N-ацетилцитозина.

К 1 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 2 мл сухого дихлорметана. Данный раствор охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,55 мл триэтиламина и 0,58 мл трифторметансульфонилангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принима-

лись меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C . Раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с раствором бис-триметилсилил-N-ацетилцитозина при 23°C .

Реакционная смесь перемешивалась при -60°C в течение полутора часов, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 50 мл дихлорметана. Органический слой отделялся и промывался последовательно 50 мл 5% бикарбоната натрия, затем 50 мл 1 норм. соляной кислоты и 50 мл насыщенного хлорида натрия. Количественный анализ HPLC органического слоя показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 15 процентов.

Пример 13

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 5,78 г цитозина добавлялось 112 мл гексаметилдисилазана в 50 мг сульфата аммония. Смесь нагревалась до $115-120^{\circ}\text{C}$ в течение 3 часов при перемешивании, и избыток гексаметилдисилазана впоследствии удалялся. Данный раствор затем охлаждался до 27°C , и образовывался твердый остаток, который помещался в 35 мл дихлорметана, образуя гомогенный раствор бис-триметилсилилцитозина.

К 1 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 10 мл дихлорметана и 0,54 мл триэтиламина. Раствор охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонил-ангидрида в 0,50 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C .

Раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при 27°C , образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC и указывало на то, что оставалось 11 процентов непрореагировавшего обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2,2:1. Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 54%.

Пример 14

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 5,78 г цитозина добавлялось 112 мл гексаметилдисилазана и 50 мг сульфата аммония. Данный раствор нагревался до $115-120^{\circ}\text{C}$ в течение 2 часов при перемешивании, и избыток гекса-

метилдисилазана впоследствии удалялся. Получающееся в результате масло охлаждалось до 23°C , образуя твердый остаток, который помещался в 35 мл дихлорметана, образуя гомогенный раствор бис-триметилсилилцитозина, и охлаждался до 0°C .

К 1 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 9 мл дихлорметана и 0,54 мл триэтиламина. Раствор охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонил-ангидрида в 0,50 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C .

Раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при 23°C , образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2,2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси смесь промывалась дважды 150 мл-ми 1 норм. соляной кислоты. Органический слой отделялся, промывался 150 мл-ми 5% бикарбоната натрия и промывался снова 150 мл-ми насыщенного хлористого натрия. Количественный анализ HPLC органического слоя показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 49 процентов.

Пример 15

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 30 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 5,9 г цитозина добавлялось 112 мл гексаметилдисилазана и 25 мг сульфата аммония. Раствор нагревался до $120-125^{\circ}\text{C}$ в течение 3 часов при перемешивании, и избыток гексаметилдисилазана впоследствии удалялся. Получающийся в результате твердый остаток помещался в 35 мл дихлорметана и охлаждался до 10°C , образуя гомогенный раствор бис-триметилсилилцитозина.

К 655 мг 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 0,55 мл дихлорметана и 0,36 мл триэтиламина. Раствор перемешивался при 23°C в течение 30 минут, охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,35 мл трифторметансульфонил-ангидрида в 0,50 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C .

Раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при 10°C , образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2,7:1. Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 60 процентов.

Пример 16

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксигидрокси-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 5,78 г цитозина добавлялось 112 мл гексаметилдисилазана и 50 мг сульфата аммония. Раствор нагревался до -115-120°C в течение полутора часов при перемешивании, и избыток гексаметилдисилазана впоследствии удалялся. Получающийся в результате твердый остаток помещался в 40 мл 1,2-дихлорметана при 23°C, образуя гомогенный раствор бис-триметилсилилцитозина.

К 1 г 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 10 мл дихлорметана с 1,2 мл триэтиламина. Раствор охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонил-ангидрида в 0,50 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приминимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C, раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при 23°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2,8:1. Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 50%.

Пример 17

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксигидрокси-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 5,78 г цитозина добавлялось 112 мл гексаметилдисилазана и 50 мг сульфата аммония. Смесь нагревалась до 115-120°C в течение 1,5 часов при перемешивании, и избыток гексаметилдисилазана впоследствии удалялся. Получающийся в результате твердый остаток помещался в 40 мл дихлорметана при 23°C, образуя гомогенный раствор бис-триметилсилилцитозина.

К 1 г 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 10 мл дихлорметана и 0,54 мл триэтиламина. Раствор перемешивался при 23°C в течение 30 минут, охлаждался до -78°C и подвергался взаимодействию с 0,57 мл трифторметансульфонил-ангидрида в 0,50 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аноме-

ром 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C.

Раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозином в растворе при 23°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2,5:1. Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномера нуклеозида 68 процентов.

Пример 18

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксигидрокси-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 5,78 г цитозина добавлялось 5 мл дихлорметана, 20,6 мл N-метил-N-триметилсилилтрифторацетамида и 5 мл дихлорметана, образуя гомогенный раствор бис-триметилсилилцитозина.

К 1 г 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 3 мл дихлорметана и 0,55 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 30 минут, охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,57 мл трифторметансульфонил-ангидрида в 1 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C. Раствор обогащенного альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната подвергался реакции с раствором бис-триметилсилилцитозина при 25°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составляло 2,5:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 250 мл 1 норм. соляной кислоты. Органический слой отделялся и промывался 250 мл-ми 5% карбоната натрия. Количественный анализ HPLC органического слоя показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 50 процентов.

В таблице показано, каким образом растворитель, число молярных эквивалентов пиримидин-нуклеозидных производных влияют на аномерное отношение и выход нуклеозидного продукта.

Таблица

Растворитель	(R') Основание	(R') Основание Эквивалент	Температура	α/β Нуклеозидное отношение	β Выход
Дихлорметан	Цитозин	20	-25°C	1:2,5	44%
"	"	20	-30°C	1:2,3	45%
"	"	20	0°C	1:2,5	49%
"	"	20	23°C	1:2,2	49%
"	"	20	23°C	1:1,8	31%
и 1,2-дихлорэтан					

Растворитель	(R') Основание	(R') Основание Эквивалент	Температура	α/β Нуклеозидное отношение	β Выход
Дихлорметан и 1,2-дихлорэтан	Цитозин	20	23°C	1:1,9	42%
Дихлорметан и 1,2-дихлорэтан	"-	20	23°C	1:2,8	50%
Дихлорметан	"-	20	23°C	1:2,5	68%
Дихлорметан	"-	20	-15°C	1:2,3	58%
"-	"-	20	27°C	1:2,2	54%
"-	"-	20	23°C	1:2,2	49%
"-	"-	30	10°C	1:2,7	60%
"-	"-	1,5	23°C	1:1	17%
"-	"-	3	23°C	1:1,3	6%
и 1,2-дихлорэтан	Урацил	2	-20°C	1:1	N/D
Дихлорметан и 1,2-дихлорэтан	Цитозин	3,5	-78°C	1,3:1	10%
Дихлорметан и 1,2-дихлорэтан	N-ацетил	10	-60°C	1:2	15%
1,2-дихлорэтан	Цитозин	10	-78°C	1:3	28%
Дихлорметан	Цитозин	10	0°C	1:2,5	32%
"-	5-F-урацил	15	23°C	1:1	N/D

Карбогидратом, используемым для получения блокированных нуклеозидов, в таблице был обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дибензоил-1-трифторметансульфонат. (N/D) означает не определялся. Данные выхода представлены в расчете на количество карбогидрата и вычислялись по результатам количественного анализа HPLC с обратной фазой, при котором пик соответствующего раствора продукта сравнивался со стандартом. Защитной группой для указанного выше нуклеозидного основания является триметилсилил.

Пример 19

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она

Цитозин (12,0 г), гексаметилдисилазин (60 мл) и сульфат аммония (10 мг) нагревались с обратным холодильником при 125°C в течение 30 минут, образуя гомогенный раствор. Гексаметилдисилазин удалялся с помощью перегонки, образуя бис-триметилсилилцитозин. 2-дезоксид-2',2'-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дибензоил-1- α -метансульфонат (1,15 г) подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозином (6,89 г, 10 экв.) в анизоле (2 мл) и ацетонитриле (3 мл) при 80°C в присутствии калиевой соли нанофтор-1-бутансульфоновой кислоты (0,5 г) в течение 16 часов.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и указывал на выход ин ситу 33 процента. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения составило 3:1.

Пример 20

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с сульфатом калия

2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дибензоил-1- α -метансульфонат (1,15 г) подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозином

(6,89 г, 10 эквив.), полученным, как описано в примере 19, в ацетонитриле (2,0 мл) при 80°C в присутствии сульфата калия (0,5 г) в течение 72 часов.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал выход ин ситу 65 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения составило 4,7:1.

Пример 21

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с тетрабутиламмониевой солью трифторметансульфокислоты

2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дибензоил-1- α -метансульфонат (0,29 мл) подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозином (6,89 г, 10 экв.), полученным, как описано в примере 19, в ацетонитриле (3,0 мл) при 80°C в присутствии тетрабутиламмониевой соли трифторметансульфокислоты (1,5 ммоль) (полученной ин ситу с помощью обработки тетрабутиламмонийгидроксида (1,5 мл 1 молярного раствора в метаноле) трифторметансульфокислотой (0,13 мл)), затем перегонки для удаления метанола в течение 4 часов.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал выход ин ситу 45 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения было 7,1:1.

Пример 22

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с сульфатом бария

2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дибензоил-1- α -метансульфонат (1,5 г) подвергался взаимодействию с бис-триметилсилилцитозином (6,89 г, 10 экв.), полученным, как описано в примере 19, в ацетонитриле (3,0 мл) при 75°C в присутствии сульфата бария (1,0 г) в течение

20,5 часов. Анализ HPLC показал выход ин-ситу 36 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения было 11,2:1.

Пример 23

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с сульфатом цезия

2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дифтор-1-α-метансульфонат (1,15 г) подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозинном (6,89 г, 10 экв.), полученным, как описано в примере 19, в ацетонитриле (3,0 мл) при 75°C в присутствии сульфата цезия (1,0 г) в течение 21 часа.

Анализ HPLC показал выход ин-ситу 24 процента. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения было 14,9:1.

Пример 24

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с цезиевой солью трифторметансульфоновой кислоты

2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дифтор-1-α-метансульфонат (1,15 г) подвергался взаимодействию с бис-триметилсилилцитозинном (6,89 г, 10 экв.), полученным, как описано в примере 19, в ацетонитриле (3,0 мл) при 75°C в присутствии цезиевой соли трифторметансульфоновой кислоты (полученной ин-ситу с помощью обработки 0,13 мл трифторметансульфоновой кислоты избытком карбоната цезия) в течение 20,5 часов.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал выход ин-ситу 65 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения составило 7,2:1.

Пример 25

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с бариевой солью трифторметансульфоновой кислоты

2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дифтор-1-α-метансульфонат (1,15 г) подвергался взаимодействию с бис-триметилсилилцитозинном (6,89 г, 10 эквив.) полученным, как описано в примере 19, в ацетонитриле (3,0 мл) при 75°C в присутствии бариевой соли трифторметансульфокислоты (полученной ин-ситу с помощью обработки 0,13 мл трифторметансульфокислоты избытком карбоната бария) в течение 20,5 часов.

Анализ HPLC показал выход ин-ситу 25 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения 14,4:1.

Пример 26

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с калиевой солью трифторметансульфокислоты

2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дифтор-1-α-метансульфонат (2,3 г, 12,6 экв.) подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозинном (16,1 г), полученным, как описано в примере 19, в ацетонитриле (8,0 мл) при 75°C и в присутствии калиевой соли трифторметансульфокислоты (полученной ин-ситу с помощью обработки трифторметансульфокислоты (0,26 мл) карбонатом калия (1,0 г)) в течение 45 часов.

Анализ HPLC показал выход ин-ситу 69,8 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения составило 7,2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась до температуры между 70°C и 80°C и объединялась с 40 мл 4 норм. соляной кислоты. Продукт выпадал в осадок, фильтровался и сушился.

Количественный анализ HPLC показал выход выделенного продукта 62,4 процента.

Пример 27

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с калиевой солью трифторметансульфоновой кислоты

2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дифтор-1-α-метансульфонат (2,3 г) подвергался взаимодействию с бис-триметилсилилцитозинном (16,1 г, 12,6 эквив.), полученным, как описано в примере 19, в пропионитриле (8,0 мл) при 90°C и в присутствии калиевой соли трифторметансульфокислоты, полученной ин-ситу путем обработки трифторметансульфокислоты, (0,26 мл) карбонатом калия (1,0 г) в течение 21 часа.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения было 6,7:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась до температуры между 70°C и 80°C и объединялась с 40 мл 4 норм. соляной кислоты. Продукт выпадал в осадок, фильтровался и сушился. Количественный анализ HPLC показал выход выделенного продукта 59,3%.

Сравнительный пример 28

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она без катализатора

2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дифтор-1-α-метансульфонат (1,15 г) подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозинном (6,09 г, 10 эквив.), полученным, как описано в примере 19, в анизоле (4 мл) при 110°C в течение 20 часов.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал выход ин-ситу 77 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого соединения было 3,4:1.

Сравнительный пример 29

Получение обогащенного 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она без катализатора

2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дифтор-1-α-метансульфонат (1,15 г) подвергался реакции с бис-триметилсилилцитозинном (6,08 г, 10 экв.), полученным, как описано в примере 19, в пропионитриле (4 мл) при 85°C в присутствии цезиевой соли трифторметансульфокислоты (полученной ин-ситу с помощью обработки трифторметансульфокислоты (0,13 мл) с избытком карбоната цезия) в течение 20 часов.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал выход ин-ситу 70 процентов. Аномерное отношение бета к альфа целевого продукта составило 6,7:1.

Пример 30

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксигидрокси-2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-2,6-дипиваламидоаминопурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2,6-дипиваламидоаминопурина

К 100 мг 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-1-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 1 мл дихлорметана и 0,036 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,045 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

185 мг суспензии 2,6-дипиваламидоаминопурина приготавливалось в 1,5 мл ацетонитрила и поддерживалось безводной в атмосфере азота. К суспензии добавлялось 65 мг трет-бутилата калия, и получающаяся в результате смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 2,6-дипиваламидоаминопурина. Соль охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с обогащенным альфа-аномером раствором 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 22°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал объединенный выход блокированного бета- и альфа-аномера нуклеозида 42 процента.

Пример 31

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксигидрокси-2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-2,6-дипиваламидоаминопурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2,6-дипиваламидоаминопурина

К 1 г 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 0,55 мл триэтиламина и 8,33 мл дихлорметана при 23°C. Смесь охлаждалась до -78°C и подвергалась реакции с 0,53 мл трифторметансульфонового ангидрида в 0,50 мл дихлорметана, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоат-1-трифторметансульфонат в растворе. Принимались меры для поддержания температуры реакционной смеси ниже -65°C.

1,85 г суспензии 2,6-дипиваламидоаминопурина приготавливалось в 30 мл ацетонитрила и содержалось безводной в атмосфере азота. К данной суспензии добавлялось 651 мг трет-бутилата калия, и получающаяся в результате смесь перемешивалась при 23°C в течение 15 минут, образуя калиевую соль 2,6-дипиваламидоаминопурина. Суспензия соли добавлялась к 20 мл сухого дихлорметана, охлаждалась до 0°C и подвергалась

реакции с обогащенным альфа-аномером раствором 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 23°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 50 мл этилацетата и 50 мл 1 норм. соляной кислоты. Органический слой отделялся и промывался 50 мл-ми 5% бикарбоната натрия. Органический слой отделялся и промывался 50 мл-ми насыщенного водного хлористого натрия и сушился над сульфатом магния.

Пример 32

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксигидрокси-2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-6-хлорпурина с 2 эквивалентами калиевой соли 6-хлорпурина

К 1,4 г 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

155 мг суспензии 6-хлорпурина приготавливалось в 3 мл ацетонитрила и поддерживалось безводной в атмосфере азота. К суспензии добавлялось 130 мг трет-бутилата калия, и получающаяся в результате смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 6-хлорпурина. Суспензия соли охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с 2 мл раствора обогащенного альфа-аномером 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 22°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия и 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномера нуклеозида 27%.

Пример 33

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксигидрокси-2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-2,6-дихлор-3-дезапурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2,6-дихлор-3-дезапурина

К 1,4 г 2-дезоксигидрокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-добензоата добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфонового ангидрида,

образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-2,2-трифторметансульфонат в растворе.

82 мг суспензии 2,6-дихлор-3-деазапурин получилась в 1,5 мл ацетонитрила и содержалось в безводных условиях в атмосфере азота, 49 мг трет-бутилата калия добавлялось к суспензии, и получающаяся в результате смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 2,6-дихлор-3-деазапурин. Суспензия соли охлаждалась до 0°C и подвергалась взаимодействию с обогащенным альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонатом в растворе, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 20°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2,5:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия и 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал объединенный выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 21 процент, т.пл. 127-129°C.

Пример 34

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-2,6-дихлорпурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2,6-дихлорпурина

К 1,4 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, затем охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливалась суспензия 220 мг 2,6-дихлорпурина в 3 мл ацетонитрила и содержалась безводной в атмосфере азота. Добавлялось 130 мг трет-бутилата калия, и получающаяся в результате смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 2,6-дихлорпурина. Суспензия соли охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с обогащенным альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонатным раствором, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 22°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2,5:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномерного нуклеозида 22 процента.

Пример 35

Получение обогащенного бета-аномером 1-[1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-3-карбозтокси-1,2,4-триазола с 2 эквивалентами калиевой соли 3-карбозтокси-1,2,4-триазола

К 1,4 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливалась суспензия 164 мг сложного эфира триазола в 3 мл ацетонитрила и поддерживалась безводной в атмосфере азота. Добавлялось 131 мг трет-бутилата калия, и получающаяся смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 3-карбозтокси-1,2,4-триазола. Суспензия соли охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с 2 мл раствора обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 40 минут и подогревалась до 15°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2,5:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномера нуклеозида 14 процентов.

Пример 36

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-2-амино-6-хлорпурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2-амино-6-хлорпурина

К 1,4 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливалась суспензия 197 мг 2-амино-6-хлорпурина в 3 мл ацетонитрила и поддерживалась безводной в атмосфере азота. Добавлялось 130 мг трет-бутилата калия, и получающаяся смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 2-амино-6-хлорпурина.

Суспензия соли охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с 2 мл раствора обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 22°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось анализом HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 100 мл этилацетата, 10 мл воды, и образовывался осадок. Осадок отфильтровывался, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномера нуклеозида 14 процентов.

Пример 37

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-2,6-дипиваламидоаминопурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2,6-дипиваламидоаминопурина

К 3,78 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 30 мл дихлорметана и 1,39 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 1,68 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Суспензия 6,99 г 2,6-дипиваламидоаминопурина, приготавливалась в 100 мл ацетонитрила и поддерживалась безводной в атмосфере азота. Добавлялось 2,46 г трет-бутилата калия и получающаяся смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут и сушилась до постоянного веса в вакууме при 40°C, образуя калиевую соль 2,6-дипиваламидоаминопурина. Суспензия соли добавлялась к 100 мл дихлорметана охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с раствором обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 22°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 500 мл этилацетата, 20 мл льда, 20 мл 1 норм. соляной кислоты и 35 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия. Органический слой отделялся, промывался 25 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 25 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 1,8:1.

Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномера нуклеозида 28 процентом, т.пл. 138-139°C.

Пример 38

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-6-пиваламидоаминопурина с 2 экви-

валентами калиевой соли 6-пиваламидоаминопурина

К 1,4 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливалась суспензия 255 мг 6-пиваламидоаминопурина в 3 мл ацетонитрила и поддерживалась безводной в атмосфере азота. Добавлялся 131 мг трет-бутилата калия, и получающаяся смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 6-пиваламидоаминопурина. Суспензия соли охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с раствором обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 22°C, образуя конечный блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал объединенный выход блокированного бета- и альфа-аномера нуклеозида 28 процентов.

Пример 39

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)]-8-бром-7-циано-7-деаза-6-пиваламидоаминопурина с 2 эквивалентами калиевой соли 8-бром-7-циано-7-деаза-6-пиваламидоаминопурина

К 1,4 г 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливалась суспензия 187 мг 8-бром-7-циано-7-деаза-6-пиваламидоаминопурина в 3 мл ацетонитрила и поддерживалась безводной в атмосфере азота. Добавлялось 65 мг трет-бутилата калия, и получающаяся смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 8-бром-7-циано-7-деаза-6-пивалоиламидоаминопурина. Суспензия соли охлаждалась до 0°C и подвергалась реакции с 1 мл раствора обогащенного альфа-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-1-трифторметансульфоната перемешивалась в течение 1 часа, и подогревалась до 20°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 2:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 2 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал объемный выход блокированного бета- и альфа-аномера нуклеозида 24 процента.

Пример 40

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксигуанозил)-2,6-дипиваламидоаминопурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2,6-дипиваламидоаминопурина в различных реакционных растворителях

К 1 г 2-дезоксигуанозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил добавлялось 10 мл дихлорметана и 0,36 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,45 мл трифторметансульфоновой ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксигуанозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливалась суспензия 1,85 г 2,8-дипиваламидоаминопурина в 30 мл ацетонитрила и поддерживалась безводной в атмосфере азота. Добавлялось 0,65 г трет-бутилата калия, и получающаяся смесь перемешивалась при 25°C в течение 10 минут, образуя калиевую соль 2,6-дипиваламидоаминопурина. Суспензия соли сушилась в вакууме при 40°C, образуя белое твердое вещество с постоянным весом. 207 мг пуриновой соли суспензировалось в 1,5 мл растворителя, показанного в опытах A-F в таблице, представленной ниже, в атмосфере азота при 0°C и подвергается реакции с 1 мл раствора обогащенного альфа-аномера 2-дезоксигуанозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-1-трифторметансульфоната, смесь перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 0°C, образуя блокированный целевой нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC.

Аномерные отношения бета к альфа блокированного нуклеозида показаны ниже.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия. Органический слой отделялся, промывался 2 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Количественный анализ HPLC показал выход блокированного бета-аномера нуклеозида, приведенный ниже.

Опыт	Растворитель	β/α Соотношение нуклеозидов	β Выход (%)
A	Тетрагидрофуран	1,3:1	45
B	Толуол	1,8:1	49
C	Этилацетат	1,6:1	47
D	Дихлорэтан	2,1:1	55
E	Трет-бутиловый спирт	3,5:1	53
F	Ацетонитрил	1,6:1	40

Пример 41

Получение обогащенного бета-аномером 9-[(2'-дезоксигуанозил)-2,6-дифтор-Д-рибофуранозил]-2-ацетамидо-6-дифенилкарбамоил-оксипурина с 2 эквивалентами калиевой соли 2-ацетамидо-6-дифенилкарбамоил-оксипурина

К 1,4 г 2-дезоксигуанозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил добавлялось 14 мл дихлорметана и 0,515 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -40°C и подвергался реакции с 0,621 мл трифторметансульфоновой ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2,2-дифтор-2-дезоксигуанозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливался раствор 2,56 г 2-ацетамидо-6-дифенилкарбамоил-оксипурина в 50 мл горячего диметилформамида и поддерживался безводным в атмосфере азота. Раствор охлаждался до 25°C, и добавлялось 0,74 г трет-бутилата калия. Получающаяся смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут и выпаривалась до масла, которое растиралось с эфиром, собиралось на фильтре и сушилось в вакууме при 40°C, давая калиевую соль 2-ацетамидо-6-дифенилкарбамоил-оксипурина. 496 мг пуриновой соли суспензировалось в 3 мл дихлорметана, суспензия охлаждалась до 5°C и подвергалась реакции с раствором обогащенного альфа-аномера 2-дезоксигуанозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-3,5-дифтор-Д-рибофуранозил-1-трифторметансульфоната, перемешивалась в течение 1 часа и подогревалась до 25°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида было 1,8:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл воды, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия. Органический слой отделялся, промывался 5 мл-ми насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния. Выход блокированного бета-аномера нуклеозида был 5,8%.

Пример 42

Получение обогащенного бета-аномером 9-[1-(2'-дезоксигуанозил)-2,6-дипиваламидоаминопурина с 7 эквивалентами 2,6-калиевой соли 2,6-дипиваламидоаминопурина

К 100 мг 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата добавлялось 3 мл дихлорметана и 0,036 мл триэтиламина. Данный раствор перемешивался при 23°C в течение 15 минут, охлаждался до -78°C и подвергался реакции с 0,045 мл трифторметансульфонового ангидрида, образуя обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфонат в растворе.

Приготавливалась суспензия 1,85 г, 2,6-дипиваламидоаминопурина в 30 мл ацетонитрила и поддерживалась безводной в атмосфере азота. Добавлялось 0,65 г трет-бутилата калия, и получающаяся смесь перемешивалась при 23°C в течение 10 минут и сушилась в вакууме при 40°C, образуя калиевую соль 2,6-дипиваламидоаминопурина, которая охлаждалась до -78°C. Пуриновая соль подвергалась реакции с раствором обогащенного альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-трифторметансульфоната при 23°C, перемешивалась в течение 1,5 часов и подогревалась до 22°C, образуя целевой блокированный нуклеозид, что подтверждалось данными анализа HPLC.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта из реакционной смеси добавлялось 25 мл этилацетата, 1 мл льда, 1 мл 1 норм. соляной кислоты и 2 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия.

Органический слой отделялся, промывался 5 мл насыщенного водного раствора бикарбоната натрия, 5 мл солевого раствора и сушился над сульфатом магния.

Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозида составило 2,7:1.

Пример 43

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 3 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

Бис-триметилсилилцитозин приготавливался путем объединения 292 мг цитозина с 2 мл гексаметилдисилазана, 11 мг сульфата аммония и 5 мл ксилолов и нагревания раствора с обратным холодильником в течение одного часа с образованием гомогенного раствора. Избыток ксилолов и гексаметилдисилазана удалялся, оставляя расплавленный остаток бис-триметилсилилцитозина. К расплавленному бис-триметилсилилцитозину добавлялось 400 мг 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-α-метансульфоната, растворенного в 2 мл ксилолов, и ксилолы удалялись. Температура реакционной смеси поддерживалась при 160°C в течение 15 минут.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции. Аномерное отношение альфа к бета блокированного нуклеозидного продукта составляло 1:1,3.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась, разбавлялась 50 мл этилацетата и промывалась 50 мл-ми 1 норм. соляной кислоты.

Пример 44

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-кетопиримидин-2-она с 3 эквивалентами бис-триметилсилилурацила

Бис-триметилсилилурацил приготавливался с помощью объединения 295 мг урацила с 5 мл гексаметилдисилазана, 11 мг сульфата аммония и 10 мл 1,2-дихлорэтана. Раствор нагревался до 110°C в течение одного часа, образуя гомогенный раствор, и избыток ксилолов и гексаметилдисилазана удалялся, давая расплавленный бис-триметилсилилурацил.

К расплавленному бис-триметилсилилурацилу добавлялось 200 мг 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-α-метансульфоната. Температура реакционной смеси поддерживалась при 150°C в течение 2 часов.

Анализ HPLC подтверждал завершение реакции. Аномерное отношение альфа к бета блокированного нуклеозидного продукта было 1:1,8.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась, разбавлялась 50 мл-ми этилацетата и промывалась 50 мл-ми 1 норм. соляной кислоты.

Пример 45

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 10 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

К 1,12 г расплавленного бис-триметилсилилцитозина добавлялось 200 мг 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-α-метансульфоната. Температура реакционной смеси поддерживалась при 130°C в течение 1 часа.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции. Аномерное отношение блокированного нуклеозидного продукта бета к альфа было 1,7:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь разбавлялась 100 мл этилацетата и промывалась 100 мл 1 норм. соляной кислоты. Количественный анализ HPLC органического слоя показал, что выход блокированного бета-аномера нуклеозида был 50%.

Пример 46

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-ацетамидопиримидин-2-она с 3 эквивалентами бис-триметилсилил-N-ацетилцитозина

К 500 мл бис-триметилсилил-N-ацетилцитозина добавлялось 980 мг 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-α-метансульфоната. Температура реакционной смеси поддерживалась при 108°C в течение 3 часов.

Анализ HPLC подтверждал завершение реакции. Аномерное отношение бета к альфа блокированного нуклеозидного продукта составляло 1,4:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась, разбавлялась 25 мл этилацетата и промывалась 25 мл 1 норм. соляной кислоты. Водный слой промывался 30 мл этилацетата. Количественный анализ HPLC этилацетатного слоя показал, что выход блокированного бета-аномера нуклеозида был 34 процента.

Пример 47

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-ацетамидопиримидин-2-она с 3 эквивалентами бис-триметилсилил-N-ацетилцитозина

К 393 мг расплавленного бис-триметилсилил-N-ацетилцитозина добавлялось 200 мг 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-α-метансульфоната.

2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -метансульфоната. Температура реакционной смеси поддерживалась при 100°C в течение 1 часа.

Аномерное отношение бета к альфа заблокированного нуклеозидного продукта составил 2,3:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта реакционная смесь разбавлялась 40 мл-ми этилацетата и промывалась 25 мл-ми 1 норм. соляной кислоты. Количественный анализ HPLC органического слоя показал, что выход бета-аномера нуклеозида составил 27 процентов.

Пример 48

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидезокси-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-она с 20 эквивалентами бис-триметилсилилцитозина

Бис-триметилсилилцитозин получался с помощью объединения 4,9 г цитозина с 90 мл гексаметилдисилазана, 581 мг сульфата аммония и 2 мл ксилолов и нагревания раствора в течение двух часов с образованием гомогенного раствора. Избыток гексаметилдисилазана удалялся, и образовывался белый остаток. К раствору бис-триметилсилилцитозина добавлялся 1 г 2-дезоксидезокси-

2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -метансульфоната, растворенного в 5 мл ацетонитрила, и ацетонитрил удалялся. Температура реакционной смеси поддерживалась при 130°C под вакуумом в течение 1 часа.

Анализ HPLC доказал завершение реакции. Аномерное отношение бета к альфа заблокированного нуклеозидного продукта составило 3,9:1.

Для экстрагирования нуклеозидного продукта, реакционная смесь разбавлялась 100 мл-ми дихлорметана и промывалась последовательно 100 мл 1 норм. соляной кислоты и 200 мл 5% бикарбоната натрия, а затем 200 мл насыщенного хлористого натрия. Органический слой сушился над сульфатом магния, фильтровался и выпаривался до 1,03 г желтого твердого вещества.

Количественный анализ HPLC показал, что выход бета-аномера нуклеозида составил 43 процента.

В следующей таблице показано, как выбранный карбогидрат, температура реакции и количество молярных эквивалентов нуклеозида влияют на выход и аномерное отношение нуклеозидного продукта.

Таблица

Карбо	Основание (R')	Основание (R') Эквив.	Температура	α/β Нуклеозидное отношение	Выход
1:1 $\alpha:\beta$ -OMs	Цитозин	1,5	130°C	3:1	N/D
α -OMs	-"	3,0	160°C	1:1,3	N/D
α -OMs	-"	10,0	130°C	1:1,7	50% β
α -OMs	Урацил	3,0	150°C	1:1,8	N/D
α -OMs	N-Ацетил	3,0	115°C	1:1,4	34% β
α -OMs	Цитозин				
α -OMs	N-Ацетил	3,0	110°C	1:2,3	27% β
α -OMs	Цитозин				
α -OMs	Цитозин	20,0	130°C	1:4	43% β

(N/D) означает не определялся. Карбогидраты (карбо.) являются гидрокси-защищенными. Обозначения α или β -OMs представляют альфа- или бета-2,2-дифтор-2-дезоксид-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-метансульфонат и β - или α -OTs, представляют бета- или альфа-2,2-дифтор-2-дезоксид-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1-толуолсульфонат. Данные выхода представлены в расчете на общее количество карбогидрата и вычислены с помощью количественного HPLC анализа в обратной фазе, при котором пик соответствующего раствора продукта сравнивался со стандартом 1-(2'-дезоксидезокси-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-бета-D-рибофуранозил)-4-аминопиримидин-2-оном. Защитной группой нуклеозидного основания в каждом примере является триметилсилил.

Пример 49

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидезокси-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-пиваламидопиримидин-2-она в ацетонитриле

N-пиваламидоцитозин (1,0 г, 5,5 ммоль) суспензировался в ацетонитриле (15,0 мл) и обрабатывался трет-бутилатом калия (0,062 г, 5,5 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C, образуя калиевую соль N-пивалоилцитозина.

2-дезоксидезокси-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -(п-бромбензол/сульфонат) (2,99 г, 5,0 ммоль) в ацетонитриле (10,0 мл) добавлялся к указанной выше соли, и вся смесь подвергалась реакции в течение 5,5 часов при 65°C, образуя заблокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтверждал завершение реакции и показал аномерное отношение бета к альфа 3,9:1.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь распределялась между этилацетатом и водой, и органический слой промывался бикарбонатом натрия и сушился над сульфатом магния. Хроматография на колонке (силикагель, толуол/этилацетат 6:4) дала 0,700 г целевого продукта с выходом 20 процентов, т.пл. 191-193°C.

Пример 50

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксидезокси-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-(N-пиваламидо)-аминопиримидин-2-она в ацетонитриле

N-пиваламидоцитозин (0,098 г, 0,5 ммоль) суспензировался в ацетонитриле (1,5 мл) и обрабатывался трет-бутилатом калия (0,062 г, 0,55 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C, давая калиевую соль N-пивалоилцитозина.

К вышеуказанной соли добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -иодид (0,244 г, 0,5 ммоль) в ацетонитриле (1,5 мл), и вся смесь подвергалась взаимодействию в течение 24 часов при 60°C, давая блокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал аномерное отношение бета к альфа 1,13:1.

Пример 51

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбонитрила в ацетонитриле

1,2,4-триазол-3-карбонитрил (0,101 г, 1,03 ммоль) суспендировался в ацетонитриле (10 мл) и обрабатывался гидридом натрия (0,0445 г, 1,12 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C с образованием соответствующей натриевой соли триазола. К указанной выше соли добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -бромид (0,451 г, 1,02 ммоль) в ацетонитриле (10 мл), и вся смесь подвергалась реакции в течение 78 часов при 82°C, образуя блокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал аномерное отношение бета к альфа 1,2:1.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь выпаривалась, образуя маслянистое твердое вещество, разбавлялась этилацетатом, промывалась бикарбонатом натрия и сушилась над сульфатом магния и концентрировалась. Остаток кристаллизовался из этанола, давая 30 мг целевого продукта с выходом 6%, т.пл. 225-228°C, MC/FD/M/Z 455 (M+1).

Элементный анализ для $C_{22}H_{16}F_2N_4O_5$: (Теоретический) C 58,15, H 3,55, N 12,33. (Эмпирический) C 58,36, H 3,79, N 12,10.

Пример 52

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбонитрила в ацетонитриле

1,2,4-триазол-3-карбонитрил (0,272 г, 2,89 ммоль) суспендировался в ацетонитриле (20 мл), обрабатывался гидридом натрия (0,094 г, 2,7 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C, образуя натриевую соль триазола.

К указанной соли добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -иодид (0,941 г, 1,9 ммоль) в ацетонитриле (20 мл), и вся смесь подвергалась реакции в течение 48 часов при 82°C, образуя блокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал аномерное отношение бета к альфа 3,5:1.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь выпаривалась, образуя маслянистое твердое вещество, разбавлялась этилацетатом, промывалась бикарбонатом натрия, сушилась над сульфатом магния и концентрировалась. Остаток кристаллизовался из этанола, давая 0,421 г целевого продукта; т.пл. 225-226°C с выходом 48%.

MC/FD/M/Z 455 (M+1).

Элементный анализ для $C_{22}H_{16}F_2N_4O_5$: (Теоретический) C 58,15, H 3,55, N 12,33. (Эмпирический) C 58,35, H 3,65, N 12,33.

Пример 53

Получение обогащенного (9) региоизомер-бета-аномером 1-(2'-дезиоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-6-цианопурина в N,N-диметилацетамиде

6-цианопурин (0,2 г, 6,35 ммоль) суспендировался в N,N-диметилацетамиде (12 мл) и обрабатывался гидратом натрия (0,396 г, 8,25 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C, давая натриевую соль 6-цианопурина.

К указанной выше соли добавлялся дезокси-2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -иодид (3,09 г, 6,35 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (4 мл), вся смесь подвергалась реакции в течение 5 часов при 70°C, образуя блокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтверждал завершение реакции и показывал аномерное отношение бета к альфа 1,2:1.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась, растворитель удалялся в вакууме, остаток растворялся в этилацетате, промывался 0,2 М раствором хлористого лития, сушился над сульфатом магния и концентрировался. Хроматография на колонке (силикагель, толуол/этилацетат 9:1) давала 0,21 г целевого продукта с выходом 6,5%. MC(FD) 506 (M+1). Элементный анализ для $C_{25}H_{17}F_2N_5O_5$: (Теоретический) C 59,41, H 3,39, N 13,86. (Эмпирический) C 59,85, H 3,49, N 13,48.

Пример 54

Получение обогащенного (9) региоизомер-бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-2,6-(дипиваламидо)-диаминопурин в N,N-диметилацетамиде

2,6-(дипиваламидо)диаминопурин (0,159 г, 0,5 ммоль) суспендировался в N,N-диметилацетамиде (1,0 мл) и обрабатывался трет-бутилатом калия (0,062 г, 0,55 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C, образуя калиевую соль 2,6-(дипивалоид)диаминопурина.

К указанной выше соли добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -(п-бромбензол)-сульфонат (0,299 г, 0,5 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (0,5 мл), и вся смесь подвергалась реакции в течение 6 часов при 60°C, образуя блокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтверждал завершение реакции и указал на аномерное отношение бета к альфа 1,9:1 целевого продукта.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь охлаждалась, и растворитель удалялся под вакуумом. Остаток разбавлялся этилацетатом, промывался бикарбонатом натрия, сушился над сульфатом магния и концентрировался до масла. Хроматография на колонке (силикагель-толуол/этилацетат 1:1) давала 0,141 г как альфа, так и бета нуклеозидных продуктов с выходом 28%. MC (FD) 679 (M+1).

Пример 55

Получение обогащенного (9) региоизомер-бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-2,6-(дипиваламидо)-диаминопурин в ацетонитриле

2,6-(дипиваламидо/диаминопурин) (0,159 г, 0,5 ммоль) суспендировался в ацетонитриле (1,5 мл) и обрабатывался трет-бутилатом калия (0,062 г, 0,55 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C с образованием калиевой соли 2,6-(дипиваламидо)диаминопурина.

К указанной соли добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -йодид (0,244 г, 0,5 ммоль) в ацетонитриле (1,5 мл), и вся смесь подвергалась реакции в течение 16 часов при 60°C, образуя блокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и указал на аномерное отношение бета к альфа 2,2:1.

Для выделения нуклеозидного продукта реакционная смесь разбавлялась этилацетатом, органический слой промывался бикарбонатом натрия, сушился над сульфатом магния, отделялся и концентрировался до масла. Хроматография на колонке (силикагель, толуол/этилацетат 1:1) с последующей перекристаллизацией давала 0,085 г целевого продукта с выходом 25%. МС (FD) 679 (M+1).

Пример 56

Получение обогащенного бета-аномером 1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-4-(бензиламино)-пиримид-2-она в N,N-диметилацетамиде

N-бензилцитозин (0,099 г, 0,493 ммоль) суспендировался в N,N-диметилацетамиде (2,0 мл) и обрабатывался гидридом натрия (0,0256 г, 0,534 ммоль) перемешивался в атмосфере азота при 25°C с образованием натриевой соли N-бензилцитозина.

К указанной соли добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -йодид (0,201 г, 0,411 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (1,5 мл), и вся смесь подвергалась реакции в течение 5 часов при 23°C, образуя блокированный нуклеозид.

Анализ HPLC подтверждал завершение реакции и указывал на аномерное отношение бета к альфа 1,9:1.

Реакционные растворители удалялись под вакуумом, и остаток растворялся в этилацетате, промывался бикарбонатом натрия, сушился над сульфатом магния и концентрировался до масла. Хроматография на колонке (силикагель, толуол/этилацетат 9:1) давала 0,015 г целевого продукта с выходом 6,5 процентов. МС (FD) 562 (M+2).

Пример 57

Получение обогащенного бета-аномером этил-1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоксилата в N,N-диметилацетамиде

Этил-1,2,4-триазол-3-карбоксилат (0,723 г, 5,13 ммоль) суспендировался в N,N-диметилацетамиде (2,5 мл), обрабатывался гидридом натрия (0,123 г, 5,13 ммоль) и перемешивался в атмосфере азота при 25°C с образованием натриевой соли триазола.

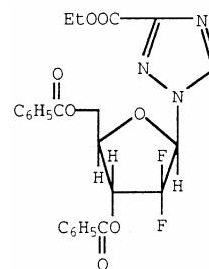
К указанной соли добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -йодид (2,0 г, 4,11 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (2,5 мл), и вся смесь подвергалась реакции в те-

чение 24 часов при 23°C, образуя блокированный нуклеозид. Анализ HPLC подтвердил завершение реакции и показал на аномерное отношение бета к альфа 3:1.

Сырая реакционная смесь очищалась с помощью удаления растворителя при пониженном давлении и применении хроматографии на колонке (силикагель, толуол/этилацетат 9:1). Объединенный теоретический выход альфа и бета регио-изомеров (А и В ниже) блокированных нуклеозидов составил 67 процентов.

А

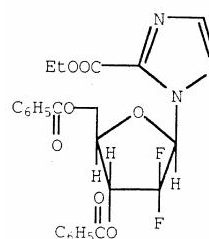
Этил-1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил- β -D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоксилат (436 мг, 21,2% выход).



Перекристаллизация "А" из смеси этилацетат:изооктан давала 267 мг чистого бета-аномера с выходом 13%.

В

Этил-1-(2'-дезоксид-2',2'-дифтор-3',5'-ди-0-бензоил-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-5-карбоксилат (855 мг, 41,5% выход).



Пример 58

Получение обогащенного бета-аномером 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-1- β -(2-амино-6-хлорпурина) в диметилацетамиде

К суспензии 2-амино-6-хлорпурина (82,6 ммоль, 14,0 г) в диметилацетамиде (900 мл) при 0°C в атмосфере азота добавлялся порошкообразный гидроксид калия (99,12 ммоль, 5,55 г). Смесь перемешивалась в течение 30 минут, образуя раствор. Добавлялся 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоил-1- α -йодид (82,6 ммоль, 40,31 г) в диметилацетамиде (450 мл). Реакционная смесь оставлялась подогреться до комнатной температуры и перемешивалась в атмосфере азота на протяжении ночи.

Продукт экстрагировался добавлением этилацетата и солевого раствора. Органический слой промывался последовательно 1 норм. соляной кислотой, насыщенным раствором бикарбоната натрия, водой и соевым раствором. Органический слой затем сушился над сульфатом натрия и выпаривался в вакууме.

Сырой продукт очищался с помощью хроматографии на силикагеле, давая 3:1 аномерное отношение бета к альфа 2-дезоксид-2,2-дифтор-D-рибо-

фуранозил-3,5-дibenзоил-1-(2-амино-6-хлорпурин).

^1H ЯМР (300 МГц, СДзОД), δ 4,68 (м., 2H), 4'-H, 5' a-H), 4,90 (м., 1H, 5' b-H), 6,02 (м., 1H, 3'-H), 6,29 (м., 1H, 1'-H), 7,53 (м., 6H, Bz), 7,92 (с., 1H, 8'-H), 8,05 (м., 4H, Bz).

Дибензоильное промежуточное соединение (0,49 ммоль, 260 мг) деблокировалось суспендированием его в метаноле при 0°C и насыщением смеси безводным аммиаком. Получающийся раствор подогревался до комнатной температуры и перемешивался на протяжении ночи. Раствор затем продувался азотом и выпаривался. Целевой продукт затем очищался с помощью промывки неполярным растворителем, таким как метиленхлорид, для удаления бензоатных побочных продуктов. Бета-аномер отделялся с помощью HPLC в обратной фазе.

^1H ЯМР (300 МГц, СДзОД), δ 3,90 (м., 3H, 4'-H, 5'-H), 4,58 (м., 1H, 3'-H), 6,27 (дд., 1H, 1'-H), 8,31 (с., 1H, 8-H).

Получение 1

Обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-0-бензоил-1-метансульфонат

К раствору 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата (40 мг) в метиленхлориде (0,5 мл) добавлялся триэтиламин (0,025 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 30 минут вся смесь охлаждалась до -78°C, затем добавлялся метансульфонилхлорид (0,01 мл). Температура реакции поддерживалась между -78°C и 80°C в течение 30 минут, затем подогревалась до комнатной температуры.

Анализ HPLC показал, что реакция завершилась. Аномерное отношение целевого соединения альфа к бета, по данным определения с помощью ^{19}F ЯМР анализа: было 4:1.

Получение 2

Альфа-аномер 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-0-бензоил-1-метансульфоната

К раствору 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-дibenзоата (60 г, 95% чистоты) в дихлорметане (600 мл) добавлялся триэтиламин (31,5 мл, 1,5 эквивалента). После перемешивания при комнатной температуре в течение 30 минут смесь охлаждалась до -78°C. Спустя 5 минут к смеси добавлялся метансульфонилхлорид (14 мл, 1,2 экв.) в дихлорметане (140 мл). Температура реакции поддерживалась между -78°C и -80°C в атмосфере азота в течение одного часа.

Анализ HPLC показал, что реакция завершилась. Аномерное отношение целевого соединения

по данным анализа HPLC было 3,53:1 альфа к бета.

Для выделения целевого соединения реакционная смесь промывалась водой, 1 норм. раствором CH_3I и 5% бикарбоната натрия (300 мл каждого). Органический слой отделялся и сушился над безводным сульфатом магния. Целевое соединение (31,5 г) получалось с выходом 46 процентов, т.пл. 88-89°C; $(\alpha)_D^{25}$ (с 1,01, CHCl_3) +84,2; $(\alpha)_{365}^{\text{ам}} +302,0^\circ$. Элементный анализ: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8\text{SF}_2$. Вычислено: C 52,63, H 3,98, F 8,33, S 7,02 (456,4). Найдено: C 52,92, H 3,82, F 8,33, S 7,30;

^1H ЯМР (CDCl_3), δ 3,17 (CH_3), 4,66 и 4,76 (C-5H), 4,84 (C-4H), 5,57 (C-3H), 6,13 (C-1H), ^{13}C ЯМР (CDCl_3), δ 40,22 (CH_3), 62,51 (C-5H), 71,03 (C-3H), $J_{\text{C,F}}=18,3$, 38,5 Гц), 82,75 (C-4H), 99,59 (C-1H, $J_{\text{C,F}}=25,5$, 48,3 Гц), 122,24 (C-2H, $J_{\text{C,F}}=259$, 288 Гц).

Получение 3

Обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-0-бензоил-1-метансульфонат

К аномерной смеси 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-0-бензоил-1-метансульфоната (1,0 г, 97% бета-аномера) в ацетонитриле (10 мл) добавлялся N,N-диметилбензиламмоний-метансульфонат (100 мг). Смесь перемешивалась и нагревалась до температуры дефлегмации. Анализ HPLC использовался для определения отношения альфа к бета целевого продукта и показал следующее:

Время/часы	Альфа/бета
0	1:32
16	1,0:1,4
24	2,3:1,0

Получение 4

Обогащенный альфа-аномером 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-0-бензоил-1-метансульфонат

К аномерной смеси 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-0-бензоил-1-метансульфоната (29,1 г, 50% бета-аномер) в дихлорметане и н-пропилацетате ... нагревалась до 90°C для удаления дихлорметана. Смесь охлаждалась до 50-60°C, и добавлялась смесь триэтиламина (5,33 мл, 0,55 экв.) и метансульфо-кислота (2,04 мл, 0,55 экв.). Получающаяся в результате смесь нагревалась до 95-97°C и перемешивалась. Смесь содержала 23,2 г 2-дезоксидифтор-D-рибофуранозил-3,5-ди-0-бензоил-1-метансульфоната. Для определения отношения альфа к бета целевого продукта использовался анализ HPLC и показал следующее:

Время (часы)	Альфа/бета
4	3:1

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
