

Нуклеозидні та нуклеотидні аналоги давно застосовують як фармацевтичні інгредієнти проти численних вірусів та видів раку. У теперішній час ряд нуклеозидних та нуклеотидних аналогів випробують у клінічних умовах для лікування декількох захворювань.

У клітині нуклеозиди та нуклеотиди фосфорилуються або далі фосфорилуються до відповідних нуклеозидних трифосфатів. Нуклеозидні трифосфати є інгібіторами ДНК- та РНК-полімераз. Нуклеозидні трифосфати також можна включати у ДНК або РНК, що стає перешкодою для подовження ДНК або РНК.

Активні нуклеозидні аналоги взагалі легко фосфорилуються у клітині - мішені. Відповідні нуклеозидні трифосфати мають високий афінитет до каталітичних ділянок полімераз та конкурують з природними нуклеозидними трифосфатами як субстрат полімераз.

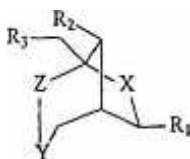
Певні нуклеозидні аналоги діють на нуклеозидному або монофосфатному рівні. Однією групою перспективних нуклеозидних аналогів є нуклеозиди із конформаційно замкненими цукровими складовими. Повідомлялося, що певні конформаційно замкнені карбоциклічні нуклеозидні аналоги демонстрували сильну активність проти HCMV, HSV(вірусу простого герпесу) та EBV(вірусу Епштейна-Барда) [Siddiqui et al. Nucleosides Nucleotides 1996, 15, 235 - 250; Marquez et al. J. Med. Chem. 1996, 39, 3739 - 3747]. Повідомлялося, що конформаційно замкнений карбоциклічний AZT 5'-трифосфат є рівносильним інгібітором зворотної транскриптази HIV(ВІЛ) [Marquez et al. J. Am. Chem. Soc. 1998, 120, 2780 - 2789]. Також приготували інші нуклеозиди з біциклічними цукровими складовими, проте у них не визначили ніякої активності або про активність не повідомлялося [Chao et al. Tetrahedron 1997, 53, 1957 - 1970; Okabe et al. Tetrahedron Lett. 1989, 30, 2203 - 2206; Hong, et al. Tetrahedron Lett. 1998, 39, 225 - 228].

Очікується, що сприятливі конформаційно замкнені нуклеозиди позитивно впливатимуть на антисмислові олігонуклеотиди. Олігонуклеотиди, як можливі антисмислові терапевтичні засоби, визначили та досліджували протягом двох десятиріч. Олігонуклеотиди є здатними формувати подвійну або потрійну спіраль з комплементарною ДНК або РНК та мають здатність уціляти специфічні послідовності у вірусному та раковому геномі. Специфічне зв'язування олігонуклеотидів з мішенями ДНК або РНК, які є предметом зацікавленості, може інактивувати функцію, пов'язану з ДНК або РНК, таку як реплікація, транскрипція та трансляція. Отже, можна припинити вірусні цикли або раковий процес, не впливаючи при цьому на нормальні цикли клітин.

Через те, що природні олігонуклеотиди є лабільними до клітинних та зовнішньоклітинних нуклеаз, багато зусиль докладали стосовно дослідження олігонуклеотидних модифікацій, особливо модифікацій, спрямованих на підвищення стійкості до нуклеази та афінитету зв'язування. Продемонстрували, що олігонуклеотиди, що мають певні біциклічні нуклеозиди, мають підвищену стійкість до нуклеази [Leumann et al. Bioorg. Med. Chem. Letts. 1995, 5, 1231 - 4; Altmann et al. Tetrahedron Lett. 1994, 35, 2331 - 2334, 7625 - 7628]. Нещодавно синтезували та включили в олігонуклеотиди 2'-O,4'-C-метиленрибонуклеозиди, що мають замкнену 3'-ендо цукрову складку. Дослідження гібридизації демонструють, що конформаційно замкнені нуклеозиди можуть суттєво підвищити гібридизацію модифікованих олігонуклеотидів з комплементарною РНК та ДНК [Obika et al. Tetrahedron Lett 1997, 38, 8735 - 8738; Koshkin et al. Tetrahedron 1998, 54, 3607 - 3630].

Отже, існує необхідність у нових конформаційно замкнених нуклеозидах з біциклічними цукровими складовими. Ці нові нуклеозиди повинні бути корисними у лікуванні вірусних, ракових та інших захворювань. Крім того, олігонуклеотиди, що складаються з цих нових модифікованих нуклеозидів, повинні мати необхідну стійкість до клітинних нуклеаз та сильний афінитет зв'язування з нуклеїновими кислотами - мішенями. Отже, ці олігонуклеотиди повинні бути потенційно корисними у терапії та діагностиці.

Описано конформаційно замкнені біциклічні цукрові нуклеозиди, що мають звичайну геометричну форму, та способи одержання конформаційно замкнених біциклічних цукрових нуклеозидів. Пропонуються нуклеозиди, що мають біциклічні цукрові складові, та олігонуклеотиди, що включають наступну формулу:



де X, Y та Z є незалежно обраними з групи O, S, CH₂, NR, C=O, C=CH₂ або нічого, де R є обраним з групи водню, алкілу, алкенілу, алкінілу, ацилу; R₁ є обраним з групи аденіну, цитозину, гуаніну, гіпоксантину, урацилу, тиміну, гетероциклів, H, OCH₃, OAc, галогену, сульфонату; R₂, R₃ є незалежно обраними з групи H, OH, DMT0, TBDMSO, BnO, THPO, AcO, BzO, OP(NiPr₂)O(CH₂)₂CN, OPO₃H, PO₃H, дифосфату, трифосфату; R₂ та R₃ разом можуть бути PhCHO₂; TIPDSO₂ або DTBSO₂.

Передбачається, що описані тут нові нуклеозиди будуть корисними у лікуванні вірусних, ракових та інших захворювань. Олігонуклеотиди, що складаються з цих модифікованих нуклеозидів, мають бажану фізіологічну стійкість та афінитет зв'язування, що дозволяє застосовувати їх у лікуванні та діагностиці.

Запропоновано інформаційно замкнені нуклеозиди, що мають 3'-ендо цукрову складку, та способи їх приготування. Способи приготування біциклічних нуклеозидних аналогів, про які повідомлялося раніше, не можна застосовувати до нових нуклеозидних аналогів, які описано тут. Описані аналоги є наслідком успішного зв'язування між позиціями C2' та C4' рибози у нуклеозидних аналогах.

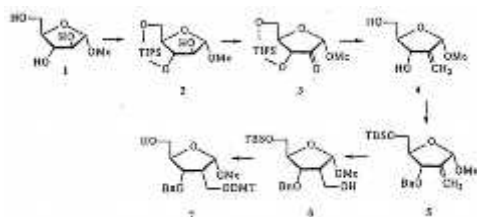
Скорочення, що застосовуються тут, позначають: "Ac" - ацетил; "Bn" - бензил; "Bz" - бензоїл; "DMT" - диметокситриптіл; "THP" - тетрагідропіраніл; "TBDMS" - t-бутилдиметилсиліл; "TIPDS" -

тетраізопропїлдісилїл та "DTBS" - ди(*t*-бутил)силїл.

Синтез похідних рибофуранози з 2,4-місточковим зв'язком

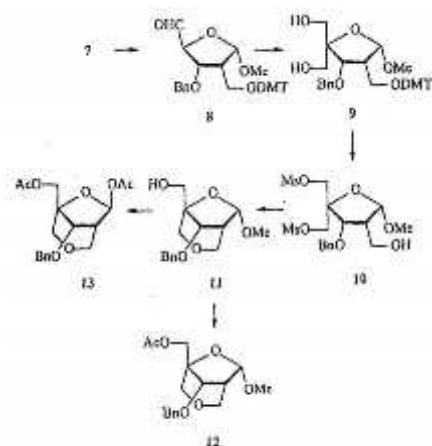
1- α -Метиларабінозу 1, яку було приготовлено згідно зі способом, надрукованим у Tejima et al. J. Org. Chem. 1963, 28, 2999 - 3003, захистили 1,1,3,3-тетраізопропїлдісилоксанїлом(TIPS) у O3 та O5 і отримали 2, яку перетворили у кетон 3 шляхом обробки DMSO/DCC/TFA (ДМСО/ДСС/ТФА). Внаслідок наступної реакції Віттига та видалення TIPS отримали дуже гарний вихід алкену 4. Сполуку 4 захистили *t*-бутилдиметилсилїлом(TBS) у O5 та бензілом(Bn) у O3 і отримали 5. Гідроборування 5 виконували за допомогою 9-BBN і отримали відмінний вихід виключно похідної 6 2-деокси-2-гідроксиметилу. Похідна 6 2-деокси-2-гідроксиметилу зазнала тритилування 4,4'-О-диметокситритил(DMT) хлоридом, потім видалили TBS тетрабутиламонїфторидом(TBAF) і отримали 7.

Схема 1.



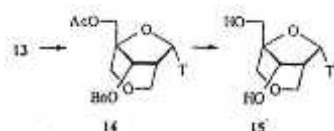
Сполуку 7 окиснювали і отримали альдегід 8, який обробляли формальдегідом та гідроксидом натрію, внаслідок чого отримали відмінний вихід похідної 9 4-гідроксиметилу. Внаслідок мезилування 9 та наступного видалення DMT отримали 10. Внаслідок циклізації, яку виконували NaH у THF, та наступного видалення мезилу отримали біциклічний цукор 11. Обробка сполуки 11 ацетангідридом/оцтовою кислотою у присутності сірчаної кислоти дозволила отримати 12, в той час як обробка ацетангідридом/оцтовою кислотою у присутності сірчаної кислоти дозволила отримати 13, у якій ацетокси у C1 має зворотну орієнтацію(1- β) порівняно з метокси 11.

Схема 2.

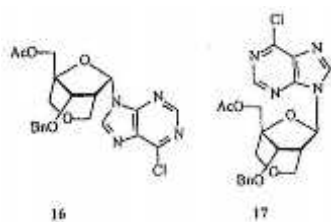


Синтез біциклонуклеозидів з 2',4'-місточковим зв'язком

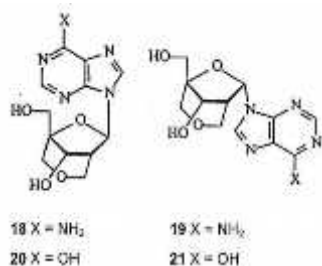
Біциклонуклеозиди, що мають цукрову складову з 2',4'-місточковим зв'язком, синтезували з конденсації силілованих нуклеозидних основ. Біциклічні цукри зображено нижче. Внаслідок конденсації 13 з біс(триметилсилїл)тимїном отримали відмінний вихід продукту 14, α -аномеру. Обробка 14 BCl_3 видалила одночасно ацетил та бензил, внаслідок чого отримали біциклічний α -тимідин 15.



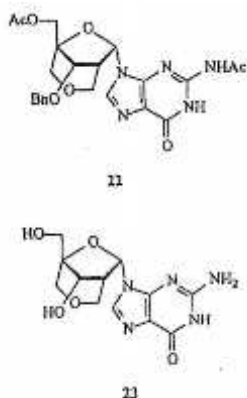
Внаслідок конденсації 13 з 6-хлор-9-триметилсилїлпурином отримали суміш α - та β -пуринових нуклеозидів, 16 та 17(співвідношення α : β , від 1 : 1 до 2 : 3), які можна відокремити шляхом хроматографії.



Внаслідок обробки 17 та 16 аміаком у метанолі з наступним гідрогенолізом отримали аналоги аденозину 18 та 19, відповідно. Гідрогеноліз потребував велику кількість каталізатору, а також збільшену тривалість реакції через підвищену стеричну перешкоду на цукровій складовій. Внаслідок обробки 17 та 16 меркаптоетанолом у присутності метоксиду натрію з наступним гідрогенолізом отримали аналоги інозину 20 та 21, відповідно.

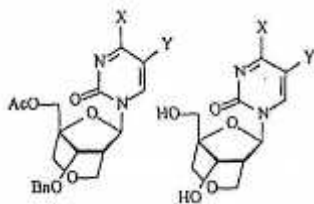


Внаслідок конденсації 13 з силілованим N²-ацетилгуаніном отримали похідну 22 α-гуанозину як головний продукт(30%), невелику кількість β-ізомеру та N⁷-з'єднаних продуктів. Внаслідок обробки похідної α-гуанозину аміаком у метанолі з наступним гідрогенолізом отримали біциклічний α-гуанозин 23.



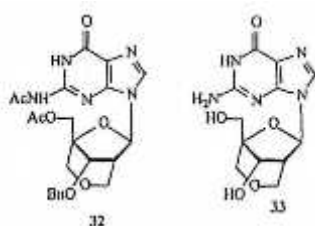
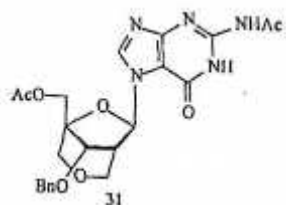
Як описано вище, внаслідок реакцій конденсації отримали або виключно α-нуклеозид, або суміш α- та β-нуклеозидів, без переваги щодо β-аномерів. Для того, щоб підвищити вихід β-нуклеозидів, досліджували різні умови конденсації. Температура має незначний вплив на співвідношення α- та β-аномерів. Проте, зв'язувальний реагент та функціональна група на С1 цукру демонстрували значний вплив на співвідношення α- та β-нуклеозидів.

Внаслідок конденсації 12 з біс- або три(триметилсиліл)піримідинами у присутності хлориду олова(IV) отримали гарні виходи β-нуклеозидів як головних продуктів. Отже, реакція 12 з силілованим тиміном дозволила отримати похідну 24 тимідину у співвідношенні β : α, що становило ~ 4 : 1. Внаслідок конденсації 12 з силілованим урацилом та N⁴-бензоїлцитозином отримали відповідні нуклеозиди 25 та 26, відповідно, у співвідношенні β : α, що становило ~ 9 : 1 в обох реакціях. Обробка 24 - 26 трихлоридом бору дозволила отримати піримідинові біциклонуклеозиди 27 - 29, відповідно. У випадку похідної цитидину, бензоїльну групу 29 видалили шляхом обробки аміаком і отримали 30. Альтернативний спосіб(не зображено) для приготування 30 починався з 28, яку ацетилували на О3' та О5' з наступною реакцією з триазолом та наступною обробкою аміаком. При цьому способі отримали помірний вихід 30.



- | | |
|--------------------|--------------------------------|
| 24 X = OH, Y = Me | 27 X = OH, Y = Me |
| 25 X = OH, Y = H | 28 X = OH, Y = H |
| 26 X = NHBz, Y = H | 29 X = NHBz, Y = H |
| | 30 X = NH ₂ , Y = H |

Також досліджували конденсацію 12 з силілованими пуринами, разом з якими застосовували хлорид олову(IV) як зв'язувальний реагент. На відміну від реакції з піримідинами, внаслідок конденсації силізованого 6-хлорпурина з 12 отримали не лише α - та β -нуклеозиди 16 та 17, а також і N^7 -зв'язувальний продукт (не показано). Подібним чином, внаслідок конденсації силізованого N^2 -ацетилгуаніну з 12 отримали суміш трьох продуктів: N^7 -зв'язаний β -нуклеозид 31(42%), бажаний β -нуклеозид 32(10%) та α -нуклеозид 22(6%). Проте, внаслідок нагрівання з силілованим N^2 -ацетилгуаніном у присутності триметилсилілтрифлату, N^7 -зв'язаний продукт 31 частково перетворився у N^9 -зв'язані α - та β -біциклонуклеозиди 22(~ 22%) та 32(~ 25%). Виділений 32 зазнав таких самих обробок, що і 22, внаслідок чого отримали біциклічний β -гуанозин 33.

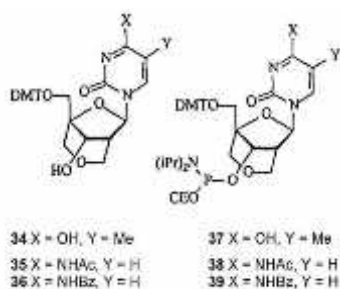


Стереохімічні розподіли похідної 11 2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану та біциклонуклеозидів, створених шляхом конденсації біциклічних цукрів з силілованими нуклеозидними основами, можна розподілити шляхом протонного ядерного магнітного резонансу(ЯМР) з використанням ядерного ефекту Оверхаузера. Згідно з моделлю "стрижень - куля" система жорсткого кільця діоксабіцикло[3,2,1]октану примушує протони(H1' та H2') на C1' та C2' α -біциклонуклеозидів стати майже паралельними, у той час коли H1' та H2' у β -біциклонуклеозидах спрямовуються у протилежні боки. Наприклад, кут закручування H1'-C1'-C2'-H2' біциклічного α -тимідину 15 після оптимізації геометрії становить 37°, і згідно з цим спостерігали, що константа взаємодії становила 3,9Гц у протонному ЯМР. Кут закручування H1'-C1'-C2'-H2' у біциклічному β -тимідині 27 становив 96° після оптимізації геометрії, та, як і сподівалися, не спостерігали ніякої взаємодії між H1' та H2'. Дійсно, протон на C1' в усіх вимірених β -біциклонуклеозидах є єдиним піком. Навпаки, в усіх вимірених α -біциклонуклеозидах протон на C1' є дуплетом з константою взаємодії ~ 4,0Гц.

Стереохімічні розподіли біциклонуклеозидів далі підтвердилися рентгенівськими кристалічними структурами біциклічних тимідинів 15 та 27. Рибозне кільце цукрової складової діоксабіцикло[3,2,1]октану в обох сполуках приймає звичайну C3'-ендо цукрову складку, проте кільце, що складається з шести членів у цукровій складовій, приймає форму стільця. Тимінова основа в обох сполуках має антиорієнтацію.

Синтез фосфорамідитів біциклонуклеозидів з 2,4-місточковим зв'язком

Біциклічний β -тимідин 27, біциклічний β - N^4 -бензоїлцитидин 29 та біциклічний β - N^4 -ацетилцитидин 29 захистили за допомогою DMT, а потім перетворили у відповідні фосфорамідити, відповідно. Через стеричну перешкоду зростає тривалість реакції.



Приклади

Способи синтезу, які застосовують для приготування описаних сполук, також можна застосовувати для того, щоб синтезувати інші сполуки з формули винаходу. Цей винахід включає, проте не обмежується ними, сполуки, виготовлені згідно з описом наступних прикладів. Числа у круглих дужках після назв сполук у прикладах відповідають номерам структур у розділі докладного опису.

Приклад 1

Приготування 1- α -метил-3,5-O-(1,1,3,3-тетраізопропіл-1,3-дисилоксандііл)-D-рибофуранози(2)

α -Метиларабінозу приготували за способом, надрукованим у Tejima, S.; Fletcher, Jr. H. G. J. Org. Chem. 1963, 28, 2999 - 3003, та відокремили від її β -аномеру(менша кількість продукту) шляхом хроматографії на діоксиді кремнію. До перемішаного розчину α -метиларабінози(19,27г, 119,9ммоль) у безводному піридині(200мл) при 0°C додали 1,3-дихлоро-1,1,3,3-тетраізопропілдісилоксан(38,4мл, 119,9ммоль). Отриманий розчин перемішували при 0°C протягом 1 години, а потім при кімнатній температурі протягом 1,5 години. Розчин охолодили до 0°C і додали воду(20мл). Суміш перемішували протягом 10 хвилин і розвели EtOAc. Водний шар екстрагували EtOAc. Комбінований органічний шар висушили(Na_2SO_4) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 15% EtOAc у гексанах отримали 42,7г(88%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвного сиропу.

Приклад 2

Приготування 2-C,2-O-дидегідро- α -метил-3,5-O-(1,1,3,3-тетраізопропіл-1,3-дисилоксандііл)-D-рибофуранози(3)

До перемішаного розчину 1- α -метил-3,5-O-(1,1,3,3-тетраізопропіл-1,3-дисилоксандііл)-D-рибофуранози(42,6г, 104,9ммоль) та ДСС(43,4г, 209,8ммоль) у безводному ДМСО(250мл) та ефірі(100мл) при 0°C в атмосфері аргону додали розчин трифтороцтової кислоти(4,04мл, 52,5ммоль) та піридину(8,44мл, 105ммоль) в ДМСО(30мл). Отриману в результаті реакції суміш нагрівали до кімнатної температури, перемішували протягом 5 годин, а потім охолоджували до 0°C. Додали щавлеву кислоту(21,3г, 236ммоль) в метанолі(60мл), а потім додали воду(30мл). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години, а осад відфільтрували та ретельно промивали гексанами. Фільтрат потім розвели гексанами, промили п'ять разів водою, висушили(Na_2SO_4) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 2% MeOH у метиленхлориді-гексанах(1 : 2) отримали 37,6г(89%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвного сиропу; ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 1,00-1,12(m, 28H, TIPDS), 3,45(s, 3H, OCH₃), 3,73(dt, J = 9,0Гц, 3,0Гц, 1H, H4), 4,02, 4,03(2s, 2H, H5), 4,62(dt, J = 9,0Гц, 2,7Гц, 1H, H3), 5,27(m, 1H, H1), 5,32-5,36(m, 2H, H2').

Приклад 3

Приготування 2-деокси-2-метилен-1- α -метил-3,5-O-(1,1,3,3-тетраізопропіл-1,3-дисилоксандііл)-D-рибофуранози

До перемішаної суспензії метилтрифенілфосфонійброміду(21,5г, 60,1ммоль) у безводному ефірі(1380мл) при кімнатній температурі в атмосфері аргону додали розчин t-пентоксиду натрію(5,97г, 54,0ммоль) у безводному бензолі(50мл). Отриману білдожовту суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин та охолоджували до -10°C, потім додали розчин 2-C,2-O-дидегідро- α -метил-3,5-O-(1,1,3,3-тетраізопропіл-1,3-дисилоксандііл)-D-рибофуранози(12,1г, 30,1ммоль) в ефірі(35мл). Реакційну суміш перемішували при -10°C протягом 1 години, двічі промили соляним розчином, висушили(Na_2SO_4) та концентрували. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 5% EtOAc у гексанах отримали 11,0г(91%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвного сиропу; ^1H ЯМР (CDCl_3) δ 1,00-1,12(m, 28H, TIPDS), 3,45(s, 3H, OCH₃), 3,73(dt, J = 9,0Гц, 3,0Гц, 1H, H4), 4,02, 4,03(2s, 2H, H5), 4,62(dt, J = 9,0Гц, 2,7Гц, 1H, H3), 5,27(m, 1H, H1), 5,32-5,36(m, 2H, H2').

Приклад 4

Приготування 2-деокси-2-метилен-1- α -метил-D-рибофуранози(4)

До перемішаного розчину 2-деокси-2-метилен-1- α -метил-3,5-O-(1,1,3,3-тетраізопропіл-1,3-дисилоксандііл)-D-рибофуранози(35,0г, 87,1ммоль) у THF(200мл) додали 1,0M TBAF у THF(180мл). Отриманий розчин залишили на 1 годину при кімнатній температурі. THF випарили, а залишок зазнав хроматографії на діоксиді кремнію 10% EtOH в метиленхлориді, внаслідок чого отримали 14,6г(88%) сполуки, вказаної у заголовку, у вигляді сиропу.

Приклад 5

Приготування 3-O-бензил-5-O-(t-бутилдиметилсиліл)-2-деокси-2-метилен-1- α -метил-D-рибофуранози(5)

Розчин 2-деокси-2-метилен-1- α -метил-D-рибофуранози(13,7г, 85,5ммоль) та TBDMS-C1(13,5г,

89,6ммоль) у безводному піридині(130мл) настоювали при кімнатній температурі протягом 15 годин. Після охолодження до 0°C та додавання води(2мл) отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години, концентрували до половини об'єму, розвели EtOAc, промили соляним розчином, висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Ретельно висушений сирий продукт розчинили у THF(70мл) та додали до перемішаної суміші NaH(60% у мінеральному маслі, 5,6г, 140ммоль) в THF(350мл) при 0°C. Після перемішування протягом 40 хвилин при кімнатній температурі додали бензилбромід(10,75мл, 90,5ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 4 годин та охолоджували до 0°C, а потім повільно додавали воду(2мл) і потім 10% AcOH у воді, доки pH не становив 7. Суміш розвели EtOAc, промили соляним розчином, потім розвели бікарбонатом натрію, висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 0 - 10%EtOAc у гексанах отримали 23,8г(76%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвної рідини; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 0,01(s, 3H, SiCH₃), 0,02(s, 3H, SiCH₃), 0,85(s, 9H, t-Bu), 3,41(s, 3H, OCH₃), 3,60-3,72(m, 2H, H5a, H5b), 4,20(dd, J = 8,7Гц, 4,5Гц, 1H, H3), 4,57, 4,66(AB, J = 12,0Гц, 2H, Bn), 5,22(t, J = 1,2Гц, 1H, H1), 5,38(t, J = 1,5Гц, 1H, H2a'), 5,43(m, J = 1,2Гц, 1H, H2b), 7,23-7,37(m, 5H, Bn); Обчислено для C₂₀H₃₂O₄Si: C, 65,89; H, 8,85. Знайдено: C, 65,92; H, 9,22.

Приклад 6

Приготування 3-О-бензил-5-О-(t-бутилдиметилсиліл)-2-деокси-2-гідроксиметил-1-α-метил-D-рибофуранози(6)

До перемішаного розчину 3-О-бензил-5-О-(t-бутилдиметилсиліл)-2-деокси-2-метил-1-α-метил-D-рибофуранози(5,28г, 14,50ммоль) в атмосфері аргону додали 9-BBN(0,5М в THF, 87мл). Отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 години, потім при 40°C протягом ночі, охолодили до кімнатної температури та перенесли до колби, що містила перборат тетрагідрат натрію(13,39г, 87ммоль) у воді(85мл) та етанолі(85мл). Отриману суміш інтенсивно перемішували при 50°C протягом 4 годин, охолодили до 0°C, нейтралізували AcOH до pH 8 та концентрували до невеликого об'єму. Об'єм, що залишився, розвели водою(20мл) та екстрагували тричі метиленхлоридом. Комбінований органічний шар двічі промили соляним розчином, висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію EtOAc-гексанами(1 : 2) отримали 5,17г(93%) зазначеної в заголовку сполуки у вигляді безбарвного сиропу; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 0,03(s, 6H, SiCH₃), 0,87(s, 9H, t-бутил), 2,34-2,43(m, 1H, H2), 3,39(s, 3H, OCH₃), 3,48(dd, J = 10,5Гц, 6,0Гц, 1H, H5a), 3,60(dd, J = 10,5Гц, 3,6Гц, 1H, H5b), 3,88(d, J = 7,2Гц, 2H, H2'), 3,98(dd, J = 7,2Гц, 2,7Гц, 1H, H3), 4,17(m, 1H, H4), 4,44, 4,66(AB, J = 12,3Гц, 2H, Bn), 4,95(d, J = 5,4Гц, 1H, H1), 7,23-7,36(m, 5H, Bn); Обчислено для C₂₀H₃₄O₅Si: C, 62,79; H, 8,96. Знайдено: C, 62,92; H, 9,21.

Приклад 7

Приготування 3-О-бензил-2-деокси-2-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-1-α-метил-D-рибофуранози(7)
Розчин 3-О-бензил-5-О-(t-бутилдиметилсиліл)-2-деокси-2-гідроксиметил-1-α-метил-D-рибофуранози(6,60г, 17,28ммоль) та DMT-Cl(7,03г, 20,74ммоль) у безводному піридині(50мл) настоювали при кімнатній температурі протягом ночі, і реакцію загасили шляхом додавання води(8мл). Отриманий розчин настоювався протягом 10 хвилин, потім його розвели EtOAc, тричі промили соляним розчином, висушили(Na₂SO₄) та концентрували, внаслідок чого отримали сирий продукт 9, який розчинили у THF(52мл). Додали TBAF(1,0М у THF, 26мл), та отриманий розчин настоювався при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Випарили THF, а залишок піддали хроматографії на діоксиді кремнію EtOAc-гексаном(1 : 1), внаслідок чого отримали 9,28г(94%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої піни; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,33-2,42(m, 1H, H2), 3,26-3,63(m, 7H, H5a, H5b, H2a', H2b', OCH₃), 3,79(d, J = 1,2Гц, 6H, DMT), 3,91(dd, J = 7,5Гц, 2,4Гц, 1H, H3), 4,13(m, 1H, H4), 4,41, 4,50(AB, J = 12,9Гц, 2H, Bn), 5,05(d, J = 5,1Гц, 1H, H1), 6,78-6,85(m, 4H, DMT), 7,14-7,47(m, 14H, Bn, DMT); Обчислено для C₃₅H₃₈O₇: C, 73,66; H, 6,71. Знайдено: C, 73,57; H, 6,76.

Приклад 8

Приготування 3-О-бензил-2-деокси-2-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-5-С,5-О-дидегідро-1-α-метил-D-рибофуранози(8)

До перемішаного розчину 3-О-бензил-2-деокси-2-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-1-α-метил-D-рибофуранози(9,18г, 16,16ммоль) та DCC(10,0г, 48,49ммоль) у безводному ДМСО(60мл) при 10°C додали розчин трифторооцтової кислоти(0,622мл, 8,08ммоль) та піридину(1,95мл, 24,24ммоль) в ДМСО(15мл). Отриману реакційну суміш перемішували при 10°C протягом 1 години, при кімнатній температурі протягом 6 годин, а потім охолодили до 0°C. Після додавання води(8мл) суміш перемішували протягом ночі та розвели EtOAc. Осад відфільтрували та ретельно промили соляним розчином, висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію EtOAc-гексанами(1 : 1) отримали 8,26г(90%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді білої піни.

Приклад 9

Приготування 3-О-бензил-2-деокси-2-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-4-С-гідроксиметил-1-α-метил-D-рибофуранози(9)

До перемішаного розчину 3-О-бензил-2-деокси-2-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-5-С,5-О-дидегідро-1-α-метил-D-рибофуранози(8,0г, 14,08ммоль) та формальдегіду(37% у воді, 85мл) у діоксані(420мл) при 0°C додавали краплями водний розчин NaOH(2,0М, 210мл) протягом 15 хвилин. Отриманий каламутний розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 2 днів, доки він не став прозорим розчином. Після охолодження до 0°C розчин нейтралізували 10% оцтовою кислотою до pH 8, концентрували до невеликого об'єму, розвели водою(100мл) та тричі екстрагували метиленхлоридом. Комбінований органічний шар промили соляним розчином, висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок

хроматографії на діоксиді кремнію 4 - 5% етанолом у метиленхлориді отримали 8,11г(94%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої піни; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,46-2,57(m, 1H, H₂), 3,23-3,73(m, 9H, H₅, H_{4'}, H_{2'} OCH₃), 3,79(d, J = 1,8Гц, 6H, DMT), 4,14(d, J = 6,9Гц, 1H, H₃), 4,43, 4,47(AB, J = 12Гц, 2H, Bn), 4,97(d, J = 4,8Гц, 1H, H₁), 6,77-6,85(m, 4H, DMT), 7,11-7,46(m, 14H, Bn, DMT).

Приклад 10

Приготування 3-О-бензил-2-деокси-2-гідроксиметил-5-О-мезил-4-мезилоксиметил-1-α-метил-D-рибофуранози(10)

До перемішаного розчину 3-О-бензил-2-деокси-2-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-4-С-гідроксиметил-1-α-метил-D-рибофуранози(7,80г, 13,0ммоль) у безводному піридині(60мл) при 0°C в атмосфері аргону додавали краплями метансульфонілхлорид(3,03мл, 39ммоль). Отриману реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 45 хвилин, охолоджували до 0°C і розвели шляхом додавання води(5мл). Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, розвели EtOAc, тричі промили соляним розчином, висушили(Na₂SO₄) та концентрували, внаслідок чого отримали сирий продукт у вигляді білої піни, який розчинили у AcOH-воді(80 : 20, 400мл). Отриманий розчин настоювали при кімнатній температурі протягом 2 годин, його розвели водою(200мл) і концентрували до приблизно чверті об'єму. Додали воду(100мл) і суміш концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію EtOAc-гексанами(3 : 1 – 1 : 0) отримали 5,32г(90%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді напівтвердої речовини; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,43-2,54(m, 1H, H₂), 3,01(s, 3H, OMs), 3,03(s, 3H, OMs), 3,41(s, 3H, OCH₃), 3,81(d, J = 4,8Гц, 2H, H_{2'}), 4,01, 4,04(AB, J = 10,5Гц, 2H, H_{4'}), 4,21(d, J = 7,5Гц, 1H, H₃), 4,30, 4,50(AB, J = 1,8Гц, 2H, H₅), 4,56, 4,63(AB, J = 12,0Гц, 2H, Bn), 4,99(d, J = 5,1Гц, 1H, H₁), 7,30-7,42(m, 5H, Bn); Обчислено для C₁₇H₂₇O₁₀S₂: C, 44,82; H, 5,97, Знайдено: C, 44,68; H, 6,00.

Приклад 11

Приготування (1S,3S,4R,8S)-8-бензилокси-1-гідроксиметил-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(11)

До перемішаної суміші NaH(60% у мінеральному маслі, 1,83г, 22,90ммоль) у безводному THF(200мл) додали розчин 3-О-бензил-2-деокси-2-гідроксиметил-5-О-мезил-4-мезилоксиметил-1-α-метил-D-рибофуранози(5,20г, 11,45ммоль) в THF(30мл). Отриману реакційну суміш перемішували при 55°C протягом 42 годин і загасили реакцію шляхом додавання води при 0°C. THF випаровували і додавали водний NaOH(0,5М, 250мл). Отриману суміш нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом 24 годин, охолоджували до 0°C, нейтралізували розведеною соляною кислотою до pH 8, екстрагували 4 рази метиленхлоридом. Комбінований органічний шар висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію EtOAc-гексанами(2 : 1 – 1 : 0) отримали 3,16г(98%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді безбарвного сиропу; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,32(m, 1H, H₂), 3,41(d, J = 11,4Гц, 1H, H_{4a'}), 3,46-3,60(m, 2H, 5H, H₅, OCH₃), 3,91(d, J = 11,1Гц, 1H, H_{4b'}), 3,92(dd, J = 10,8Гц, 2,4Гц, 1H, H_{2a'}), 4,01(d, J = 5,4Гц, 1H, H₃), 4,04(d, J = 10,5Гц, 1H, H_{2b'}), 4,58, 4,64(AB, J = 12,0Гц, Bn), 5,07(d, J = 3,9Гц, 1H, H₁), 7,28-7,40(m, 5H, Bn).

Приклад 12

Приготування (1R,3S,4R,8S)-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(12)
Розчин(1R,3S,4R,8S)-8-бензилокси-1-гідроксиметил-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(1,60г, 5,71ммоль), ацетангідриду(1,08мл, 11,42ммоль) та DMAP(2,09г, 17,13ммоль) у безводному метиленхлориді(10мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин, охолоджували до 0°C та розвели метанолом(4мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хвилин, розвели метиленхлоридом, промили соляним розчином, а потім 10% NaHCO₃, висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію етилацетатом-гексанами(1 : 1) отримали 1,82г(99%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді безбарвного сиропу; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,02(s, 3H, OAc), 2,33(m, 1H, H₂), 3,50(d, J = 10,8Гц, 1H, H_{4a'}), 3,57(s, 3H, OCH₃), 3,86-4,04(m, 5H, H_{2a'}, H_{2b'}, H₃, H_{4b'}, H_{5a}), 4,14(d, J = 12,0Гц, 1H, H_{5b}), 4,50, 4,64(AB, J = 12,0Гц, 1H, Bn), 5,09(d, J = 3,9Гц, 1H, H₁), 7,29-7,42(m, 5H, Bn); Обчислено для C₁₇H₂₂O₆: C, 63,34; H, 6,88, Знайдено: C, 63,41; H, 6,94.

Приклад 13

Приготування (1R,3S,4R,8S)-3-ацетокси-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(13)

До перемішаного розчину (1S,3S,4R,8S)-8-бензилокси-1-гідроксиметил-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(600мг, 2,14ммоль) у суміші оцтової кислоти(6,0мл) та ацетангідриду(0,6мл) при 0°C додавали краплями концентровану сірчану кислоту(57мкл, 1,07ммоль). Отриману реакційну суміш перемішували при 0°C протягом 10 хвилин, а потім при кімнатній температурі протягом 2 годин. Після охолодження до 0°C розчин розвели EtOAc, тричі промили соляним розчином, а потім 10% бікарбонатом натрію, висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію EtOAc-гексанами(2 : 3) отримали 696мг(93%) вказаної в заголовку сполуки(β-аномер) та 31мг(3%) α-аномеру, обидві сполуки мали вигляд безбарвного сиропу, β-Аномер затверднув після знаходження при кімнатній температурі протягом днів; точка плавлення(т. пл.) 55 - 58°C; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,03(s, 3H, OAc), 2,08(s, 3H, OAc), 2,36-2,39(m, 1H, H₂), 3,49(d, J = 10,8Гц, H_{4a'}), 3,73(d, J = 11,1Гц, 2,7Гц, 1H, H_{2a'}), 3,89(d, J = 11,1Гц, 1H, H_{4b'}), 4,01(d, J = 11,1Гц, 1H, H_{2b'}), 4,03(d, J = 9,3Гц, 1H, H_{5a}), 4,14(d, J = 5,1Гц, 1H, H₃), 4,55(d, J = 9,6Гц, 1H, H_{5b}), 4,55, 4,64(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 6,39(s, 1H, H₁), 7,29-7,42(m, 5H, Bn); Обчислено для C₁₈H₂₂O₇: C, 61,70; H, 6,33, Знайдено: C, 61,74; H, 6,46.

Приклад 14

Приготування (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(тимін-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(14)

Суміш тиміну(189мг, 1,5ммоль) та безводного сульфату амонію(15мг) в HMDS(6мл) нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом ночі. Після видалення HMDS залишок випаровували безводним т-ксилолом, висушували в умовах вакууму протягом 30 хвилин і розчинили у розчині(1R,3S,4R,8S)-3-ацетокси-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану (306мг, 0,87ммоль) в 1,2-дихлороетані(5мл). До цього перемішаного розчину в атмосфері аргону додали краплями триметилсилілтрифлат(0,38мл) в 1,2-дихлороетані(2мл). Отриманий розчин нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом 2 годин, охолодили до 0°C, розвели хлороформом та нейтралізували 10% NaHCO₃(10мл). Відділили органічний шар та водний шар двічі екстрагували хлороформом. Комбінований органічний шар висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок кристалізації з EtOAc-CH₂Cl₂ отримали вказану в заголовку сполуку(303мг, 83%) у вигляді безбарвної твердої речовини; т. пл. 198 - 200°C; ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 1,94(d, J = 1,2Гц, 1H, ArCH₃), 2,04(s, 3H, OAc), 2,93(m, 1H, H2'), 3,50(dd, J = 11,8Гц, 2,1Гц, 1H, H2a"), 3,59(d, J = 11,4Гц, 1H, H4a"), 4,016(d, J = 11,7Гц, 1H, H4b"), 4,022(d, J = 12,6Гц, 1H, H5a'), 4,09(d, J = 12,0Гц, 1H, H2b"), 4,11(d, J = 4,5Гц, 1H, H3'), 4,27(d, J = 12,6Гц, 1H, H5b'), 4,53, 4,70(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 5,88(d, J = 3,6Гц, 1H, H1'), 7,30-7,42(m, 5H, Bn), 7,74 (d, J = 1,5Гц, 1H, H6), 8,79(s, 1H, NH); Обчислено для C₂₁H₂₄N₂O₇: C, 60,57; H, 5,81; N, 6,73, Знайдено: C, 60,55; H, 5,84; N, 6,69.

Приклад 15

Приготування (1S,3S,4R,8S)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-3-(тимін-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(15) До розчину (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(тимін-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану у безводному метиленхлориді(3мл) при 10°C додали трихлорид бору(1,0М в CH₂Cl₂, 6мл). Отриману реакційну суміш перемішували протягом ночі при 15°C з підвищенням до кімнатної температури та охолодили до 0°C. Метанол(1,5мл) додавали краплями і отриману суміш перемішували при 0°C протягом 15 хвилин, а потім додали триетиламін(2мл). Розчинник випаровували, а осад ретельно екстрагували теплим ацетоном. Ацетоновий розчин висушили(Na₂SO₄) і концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 10% метанолом у хлороформі отримали 99мг сполуки 20 у вигляді білої піни. Після кристалізації з ацетону отримали 95мг(93%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді безбарвної твердої речовини; т. пл. 225 - 226°C; ¹H ЯМР (DMSO-d₆) δ 1,76(d, J = 0,9Гц, 1H, ArCH₃), 2,45(m, 1H, H2'), 3,25(dd, J = 11,4Гц, 2,1Гц, 1H, H2a"), 3,32-3,52(m, 2H, H5'), 3,53(d, J = 11,4Гц, 1H, H4a"), 3,72(d, J = 11,1Гц, 1H, H4b"), 3,93(d, J = 11,1Гц, 1H, H2b"), 4,16(m, 1H, H3'), 4,84(t, J = 6,0Гц, 1H, OH), 5,74(d, J = 4,2Гц, 1H, H1'), 5,84(d, J = 3,9Гц, 1H, OH), 7,76(d, J = 1,2Гц, 1H, H6), 11,32(s, 1H, NH); MS m/z 285(MH⁺); Обчислено для C₁₂H₁₆N₂O₆: C, 50,70; H, 5,67; N, 9,85, Знайдено: C, 50,85; H, 5,68; N, 9,75.

Приклад 16

Приготування (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(17) та (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(16)

Суміш 6-хлорпурину(246мг, 1,6ммоль) та HMDS(8,0мл) нагрівали у колбі зі зворотним холодильником в атмосфері аргону протягом 2 годин. HMDS випаровували, а залишок висушували в умовах вакууму протягом 30 хвилин, а потім розчинили у розчині(1R,3S,4R,8S)-3-ацетокси-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(302мг, 0,83ммоль) у безводному 1,2-дихлороетані(5,0мл), потім додали триметилсилілтрифлат(0,38мл, 2,25ммоль) в 1,2-дихлороетані(2,0мл). Отриманий розчин нагрівали у колбі зі зворотним холодильником в атмосфері аргону протягом 45 хвилин. Кінцева стадія обробки була такою самою, як описано раніше. Після хроматографії на діоксиді кремнію EtOAc-гексанами(1 : 1) отримали (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан(122мг, α-аномер) та (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан(157мг, β-аномер), обидва мали вигляд безбарвної твердої речовини. Загальний вихід становив 75%. α-ізомер: ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,05(s, 3H, OAc), 2,89(m, 1H, H2'), 3,23(dd, J = 12,0Гц, 2,4Гц, 1H, H2a"), 3,72(d, J = 11,7Гц, H4a"), 4,09(d, J = 12,3Гц, 2H, H4", H5a'), 4,13(d, J = 13,2Гц, 1H, H2b"), 4,24(d, J = 4,8Гц, H3'), 4,29(d, J = 12,3Гц, 1H, H5b'), 4,60, 4,74(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 6,50(d, J = 4,2Гц, 1H, H1'), 7,32-7,44(m, 5H, Bn), 8,69(s, 1H, H8), 8,78(s, 1H, H2) β-ізомер: т. пл.: 124 - 125°C(EtOAc-гексани); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,05(s, 3H, OAc), 2,90(m, 1H, H2'), 3,55(d, J = 11,1Гц, H4a"), 3,95-4,03(m, 2H, H2a", H4b"), 4,18-4,24(m, 3H, H5' H2b"), 4,32(d, J = 4,8Гц, H3'), 4,47, 4,63(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 6,52(s, 1H, H1'), 7,24-7,35(m, 5H, Bn), 8,40(s, 1H, H8), 8,72(s, 1H, H2); Обчислено для C₂₁H₂₁N₄O₅Cl: C, 56,70; H, 4,76; N, 12,59, Знайдено: C, 56,36; H, 4,56; N, 12,37.

Приклад 17

Приготування (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-3-(N²-ацетилгуанін-9-іл)-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(22)

Суміш N²-ацетилгуаніну(193мг, 1,0ммоль) та сульфату амонію(20мг) в піридині(1,0мл) та HMDS(5,0мл) нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом 3 годин в атмосфері аргону. Отриманий прозорий розчин концентрували та випаровували разом з ксилолом(10мл, висушений натрієм). Залишок висушували в умовах вакууму при 50°C протягом 1 години та розчинили у розчині(1R,3S,4R,8S)-3-ацетокси-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(175мг, 0,5ммоль) у безводному 1,2-дихлороетані(5,0мл), потім додавали триметилсилілтрифлат(0,27мл, 1,5ммоль) у 1,2-дихлороетані(1,0мл). Отриманий розчин перемішували при кімнатній температурі в атмосфері аргону протягом 30 хвилин, потім нагрівали при 70 - 75°C протягом 2 годин, охолоджували до 0°C та нейтралізували 10% бікарбонатом натрію(10мл). Отриману суміш перемішували протягом 15 хвилин і відокремили органічний шар. Водний шар двічі екстрагували хлороформом. Комбінований органічний шар висушили(Na₂SO₄) і концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 10% етанолом у CHCl₃-EtOAc(1 : 1) отримали вказану в заголовку сполуку(72мг, 30%) у вигляді безбарвної твердої речовини; т. пл. 249°C(розклад, EtOAc); ¹H

ЯМР (CDCl₃) δ 2,01(s, 3H, OAc), 2,29(s, 3H, NAc), 2,75(m, 1H, H^{2'}), 3,29(dd, J = 11,7Гц, 1,8Гц, 1H, H^{2a}"), 3,66(d, J = 11,4Гц, 1H, H^{4a}"), 4,03(d, J = 11,4Гц, 1H, H^{4b}"), 4,05(d, J = 11,7Гц, 1H, H^{2b}"), 4,70(d, J = 12,3Гц, 1H, H^{5a}'), 4,13(d, J = 4,8Гц, H^{3'}), 4,23(d, J = 12,3Гц, 1H, H^{5'}), 4,53, 4,67(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 6,17 (d, J = 4,2Гц, 1H, H^{1'}), 7,28-7,40(m, 5H, Bn), 8,32 (s, 1H, H⁸), 9,80(s, 1H, NH), 12,12(s, 1H, NH).

Приклад 18

Приготування (1S,3R,4R,8S)-3-(аденін-9-іл)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(18)

Розчин (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(100мг, 0,225ммоль) у суміші діоксану(20мл) та 30% водного гідроксиду амонію(20мл) нагрівали у сталевій бомбі при 100°C протягом 16 годин. Розчинники випаровували, а залишок розчинили у метанолі, потім додали 20% гідроксид паладію на вугіллі(~ 50% води, 3 x 250мг додавали кожного дня). Гідрогеноліз здійснювали при кімнатній температурі в атмосфері водню 55 фунтів на кв. дюйм(psi) (379,2кПа) протягом 4 днів. Каталізатор відфільтрували та промили метанолом. Комбінований розчин метанолу концентрували, а після хроматографії залишку на діоксиді кремнію 20% метанолом у метиленхлориді отримали вказану в заголовку сполуку(39мг, 59%) у вигляді безбарвної твердої речовини, яку викристалізували з метанолу; т. пл. 250°C(розклад); ¹H ЯМР (DMCO-d₆ + D₂O): δ 2,53(m, 1H, H^{2'}), 3,33(d, J = 11,1Гц, 1H, H^{2a}"), 3,40(d, J = 12,3Гц, 1H, H^{5a}'), 3,50(d, J = 12,6Гц, 1H, H^{5b}'), 3,69-3,76(m, 2H, H^{2b}", H^{4a}"), 4,05(d, J = 10,2Гц, H^{4b}"), 4,45(d, J = 5,1Гц, 1H, H^{3'}), 6,26(s, 1H, H^{1'}), 7,28(m, 2H, NH₂), 8,12(s, 1H, H⁸), 8,33(s, 1H, H₂); MS: 294(MH⁺); Обчислено для C₁₂H₁₅N₅O₄: C, 49,14; H, 5,16; N, 23,88, Знайдено: C, 49,01; H, 4,97; N, 23,92.

Приклад 19

Приготування (1S,3S,4R,8S)-3-(аденін-9-іл)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(19)

Внаслідок подібної процедури, яку описано у прикладі 18, з (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(100мг) отримали вказану у заголовку сполуку(43мг, 65%) у вигляді безбарвної твердої речовини. ¹H ЯМР (CD₃OD): δ 2,71(m, 1H, H^{2'}), 3,13(dd, J = 11,7Гц, 2,4Гц, 1H, H^{2a}"), 3,57(d, J = 12,6Гц, 1H, H^{5a}'), 3,64(d, J = 11,1Гц, H^{4a}"), 3,68(d, J = 12,3Гц, 1H, H^{5b}'), 3,96(d, J = 11,1Гц, 1H, H^{4b}"), 4,14(d, J = 11,7Гц, 1H, H^{2b}"), 6,39(d, J = 4,2Гц, 1H, H^{1'}), 8,04(s, 1H, H⁸), 8,44(s, 1H, H₂); MS m/z 294(MH⁺).

Приклад 20

Приготування (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-3-(гіпоксантин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(20)

До розчину (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(150мг, 0,34ммоль) та меркаптоетанолу(0,19мл, 2,7ммоль) в метанолі(20мл) додали метоксид натрію(0,37мл 5,4М у метанолі, 2,0ммоль). Отриманий розчин нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом 6 годин, охолоджували до кімнатної температури, нейтралізували 10% АсОН до pH 7. Метанол випаровували, а залишок розвели 1,0М NaHCO₃(15мл), потім екстрагували 10% метанолом у хлороформі, доки водна фаза не містила продукт. Комбінований органічний шар висушили(Na₂SO₄) і концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 10 - 15% метанолом у хлороформі отримали 109мг(84%) похідної інозину(не показано) у вигляді безбарвної твердої речовини. 100мг(0,26ммоль) цієї речовини розчинили у метанолі, потім додали 20% гідроксид паладію на вугіллі(50% води, 600мг). Гідрогеноліз здійснювали при кімнатній температурі в атмосфері водню 50psi(344,7кПа) протягом 3 днів. Каталізатор фільтрували та промили метанолом. Комбінований розчин метанолу концентрували, а після хроматографії залишку на діоксиді кремнію 20 - 25% метанолом у метиленхлориді отримали 61мг(61%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді безбарвної твердої речовини, яку викристалізували з метанол-етилацетату; т. пл. 228°C(розклад); ¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 2,52(m, 1H, H^{2'}), 3,30-3,55(m, 3H, H^{5'} H^{4a}"), 3,69(dd, J = 11,1Гц, 2,7Гц, 1H, H^{2a}"), 3,73(d, J = 10,8Гц, H^{4b}"), 4,05(d, J = 10,8Гц, 1H, H^{2b}"), 4,40(m, 1H, H^{2b}"), 5,03(t, J = 6,0Гц, 1H, OH), 5,74(d, J = 4,2Гц, 1H, OH), 6,24(s, 1H, H^{1'}), 8,06(s, 1H, H⁸), 8,30(s, 1H, H₂), 12,40(s, 1H, NH); MS m/z 295(MH⁺).

Приклад 21

Приготування (1S,3S,4R,8S)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-3-(гіпоксантин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(21)

До розчину (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(6-хлорпурин-9-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(120мг, 0,27ммоль), меркаптоетанолу(0,15мл, 2,1ммоль) у метанолі(16мл) додали метоксид натрію(1,62ммоль, 0,30мл, 5,4М в метанолі). Після подібної процедури, яку описано у прикладі 20, отримали 37мг(47%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді гігроскопічної твердої речовини; ¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 2,52(m, 1H, H^{2'}), 3,06(dd, J = 11,7Гц, 2,4Гц, 1H, H^{2a}"), 3,34-3,53(m, 2H, H^{5'}), 3,56(d, J = 11,1Гц, 1H, H^{4a}"), 3,79(d, J = 11,4Гц, 1H, H^{4b}"), 3,98(d, J = 11,4Гц, 1H, H^{2b}"), 4,31(d, J = 4,5Гц, 1H, H^{3'}), 4,89(br, 1H, OH), 5,99(br, 1H, OH), 6,28(d, J = 4,2Гц, 1H, H^{1'}), 8,03(s, 1H, H⁸), 8,27(s, 1H, H₂), 12,30(br, 1H, NH).

Приклад 22

Приготування (1S,3S,4R,8S)-3-(гуанін-9-іл)-8-гідрокси 1-гідроксиметил-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(23)

Після подібної процедури, яку описано в прикладі 18, з (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-3-(N²-ацетилгуанін-9-іл)-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло-[3,2,1]октану(100мг) отримали вказану у заголовку сполуку(41мг, 66%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини. ¹H ЯМР (DMCO-d₆ + D₂O) δ 2,42(m, 1H, H^{2'}),

3,15(dd, J = 11,4Гц, 2,1Гц, 1H, H2a"), 3,34(d, J = 11,4Гц, 1H, H5a'), 3,47(d, J = 12,6Гц, 1H, H5b'), 3,51(d, J = 12,0Гц, 1H, H4a"), 3,77(d, J = 10,8Гц, 1H, H4b"), 3,98(d, J = 11,7Гц, 1H, H2b"), 4,23(d, J = 4,8Гц, 1H, H3'), 4,80(br, 1H, OH), 5,90(br, 1H, OH), 6,05(d, J = 4,2Гц, 1H, H1'), 6,52(br, 2H, NH₂), 7,93(s, 1H, H8), 12,30(br, 1H, NH); MS m/z 310(MH⁺).

Приклад 23

Приготування (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(тимін-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(24)

Реакцію здійснювали за подібною процедурою, яку описано для прикладу 14, за тим винятком, що реагентом взаємодії був хлорид олова(IV) (0,45мл), а цукровим субстратом був (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан(202мг, 0,63ммоль). Після хроматографії на діоксиді кремнію 5% EtOH в CH₂Cl₂ отримали суміш(233мг, 89%) вказаної в заголовку сполуки(β-аномер) та її α-аномеру(співвідношення β : α становило ~ 4 : 1) у вигляді безбарвної твердої речовини. ¹H ЯМР (CDCl₃) β-аномеру(зі спектру суміші α- та β-аномерів) δ 1,93(d, J = 0,9Гц, 1H, ArCH₃), 2,05(s, 3H, OAc), 2,66(m, 1H, H2'), 3,48(d, J = 11,1Гц, H4a"), 3,86-4,12(m, 5H, H2a", H2b", H3', H4b", H5a'), 4,26(d, J = 12,6Гц, H5b'), 4,44, 4,64(AB, J = 11,4Гц, 2H, Bn), 6,06(s, 1H, H1'), 7,26-7,42(m, 5H, Bn), 7,59(d, J = 1,2Гц, 1H, H6), 8,94(s, 1H, NH).

Приклад 24

Приготування (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(урацил-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(25)

За подібною процедурою, яку описано в прикладі 23, після хроматографії на діоксиді кремнію 5% EtOH у метиленхлориді з (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(230мг, 0,71ммоль) та силілованого урацилу(2,0ммоль) отримали суміш(267мг, 87%) вказаної у заголовку сполуки та її α-аномеру(співвідношення β : α становило ~ 9 : 1) у вигляді безбарвної твердої речовини. Вказану у заголовку сполуку(β-аномер) частково відокремили шляхом хроматографії на діоксиді кремнію; т. пл. 145 - 147°C(EtOAc-гексани); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,02(s, 3H, OAc), 2,67(m, 1H, H2'), 3,49(d, J = 11,4Гц, 1H, H4a"), 3,86-3,97(m, 3H, H2a", H3', H4b"), 4,08(d, J = 12,3Гц, 1H, H5a'), 4,09(d, J = 10,5Гц, 1H, H2b"), 4,25(d, J = 12,3Гц, 1H, H5b'), 4,44, 4,64(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 6,05(s, 1H, H1'), 7,26-7,40(m, 5H, Bn), 5,69(d, J = 8,1Гц, 1H, H5), 7,79(d, J = 8,4Гц, 1H, H6), 8,92(s, 1H, NH); Обчислено для C₂₀H₂₂N₂O₇: C, 59,69; H, 5,51; N, 6,96, Знайдено: C, 59,45; H, 5,56; N, 6,91.

Приклад 25

Приготування (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(N⁴-бензоїлцитозин-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(26)

За подібною процедурою, яку описано в прикладі 23, після хроматографії на діоксиді кремнію з 5% EtOH у метиленхлориді з реакції (1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(645мг, 2,0ммоль) з силілованим N⁴-бензоїлцитозином(4,0ммоль) отримали 910мг(90%) вказаної в заголовку сполуки(β-аномер) у вигляді безбарвної твердої речовини; т. пл. 173 - 174°C(EtOAc); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,07(s, 3H, OAc), 2,83(m, 1H, H2'), 3,51(d, J = 11,1Гц, H4a"), 3,86(d, J = 5,4Гц, 1H, H3'), 3,97(d, J = 11,1Гц, 1H, H4b"), 3,99-4,13(m, 3H, H2a", H2b", H5a'), 4,27(d, J = 12,3Гц, 1H, H5b'), 4,38, 4,61(AB, J = 11,4Гц, 2H, Bn), 6,15(s, 1H, H1'), 7,24-7,38(m, 5H, Bn), 7,50-7,66(m, 4H, H5, Bz), 7,90(m, 2H, Bz), 8,28(d, J = 7,5Гц, 1H, H6), 8,84(br, 1H, NH); Обчислено для C₂₇H₂₇N₃O₇: C, 64,15; H, 5,38; N, 8,31, Знайдено: C, 64,10; H, 5,20; N, 8,43.

Приклад 26

Приготування (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-3-(тимін-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(27)
До розчину суміші (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(тимін-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану та її α-аномеру(~ 4 : 1, 200мг, 0,48ммоль) у безводному метиленхлориді(4мл) при 0°C додали трихлорид бору(1,0М в CH₂CH₂, 8мл). Отриману реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 8 годин, при 15°C протягом ночі, а потім охолодили до 0°C. Метанол(5,0мл) додавали краплями, потім додавали 1,0М NaOMe у MeOH до pH 8. Розчин відокремили, а осад ретельно екстрагували 20% метанолом у метиленхлориді. Комбінований фільтрат висушили(Na₂SO₄) і концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 10 - 15% метанолом у етилацетаті отримали вказану у заголовку сполуку(78мг), суміш вказаної в заголовку сполуки та її α-аномеру(24мг), та α-аномер(23мг). Усі вони мали вигляд безбарвної твердої речовини. Загальний вихід становив 91%. Після кристалізації вказаної в заголовку сполуки з метанол-етилацетату отримали кристалічну тверду речовину; т. пл. 217 - 218°C; ¹H ЯМР (DMCO-d₆) δ 1,75(d, J = 1,2Гц, 1H, ArCH₃), 2,24(m, 1H, H2'), 3,20(d, J = 10,8Гц, 1H, H4a"), 3,33-3,58(m, 3H, H2a", H5'), 3,66(d, J = 10,8Гц, H4b"), 3,97(d, J = 10,5Гц, 1H, H2b"), 4,14(m, 1H, H3'), 5,24(t, J = 5,1Гц, 1H, OH), 5,67(d, J = 2,4Гц, 1H, OH), 5,82(s, 1H, H1'), 7,95(d, J = 0,9Гц, 1H, H6), 11,32(s, 1H, NH); MS m/z 285(MH⁺); Обчислено для C₁₂H₁₆N₂O₆: C, 50,70; H, 5,67; N, 9,85, Знайдено: C, 50,65; H, 5,57; N, 9,73.

Приклад 27

Приготування (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-3-(урацил-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(28)

За подібною процедурою, яку описано в прикладі 26, після хроматографії на діоксиді кремнію 10% метанолом у метиленхлориді з (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(урацил-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(215мг, 0,53ммоль) отримали 110мг(76%) вказаної в заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. Вказана у заголовку сполука була забрудненою невеликою кількістю її α-аномеру. Вказану у заголовку чисту сполуку отримали після перекристалізації з ацетон-етилацетату; т. пл. 218 - 219°C; ¹H ЯМР (ацетон-d₆) δ 2,42(m, 1H, H2'), 3,27(d, J = 10,8Гц, 1H, H4a"), 3,58-3,72(m, 3H, H2a", H5'),

3,83(d, J = 10,8Гц, 1H, H4b"), 4,13(d, J = 10,5Гц, 1H, HH2b"), 4,37(t, J = 5,1Гц, 1H, OH), 4,42(m, 1H, H3'), 4,88(d, J = 3,9Гц, 1H, OH), 5,52(d, J = 7,8Гц, 1H, H5), 5,95(s, 1H, H1'), 8,17(d, J = 7,8Гц, 1H, H6), 10,02(s, 1H, NH); MS m/z 271(MH⁺); Обчислено для C₁₁H₁₄N₂O₆: C, 48,89; H, 5,22; N, 10,37, Знайдено: C, 48,60; H, 5,64; N, 10,21.

Приклад 28

Приготування (1S,3R,4R,8S)-3-(цитозин-1-іл)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(30)

За подібною процедурою, яку описано в прикладі 26, після хроматографії на діоксиді кремнію 10% MeOH у метиленхлориді з (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-(N⁴-бензоїлцитозин-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану отримали 364мг(65%) (1S,3R,4R,8S)-3-(N⁴-бензоїлцитозин-1-іл)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(760мг). 120мг(0,32ммоль) цієї сполуки розчинили у насиченому розчині аміаку у метанолі і розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 24 годин. Аміак та етанол випаровували, а залишок розчинили у воді, потім ретельно екстрагували хлороформом(5 разів), а потім толуолом(2 рази). Воду випаровували, а після кристалізації з метанолу отримали 62мг вказаної у заголовку сполуки(45мг кристалічної твердої речовини та 17мг некристалічної твердої речовини); т. пл. 250°C(розклад); ¹H ЯМР (CD₃OD) δ 2,33(m, 1H, H2'), 3,31(d, J = 11,1Гц, 1H, H4a"), 3,57(d, J = 12,3Гц, 1H, H5a'), 3,65(d, J = 12,3Гц, 1H, H5b'), 3,78(dd, J = 10,5Гц, 2,7Гц, H2a"), 3,84(d, J = 11,1Гц, 1H, H4b"), 4,14(d, J = 10,5Гц, 1H, H2b"), 4,20(d, J = 5,1Гц, 1H, H3'), 5,86(d, J = 7,5Гц, 1H, H5), 5,96(s, 1H, H1'), 8,22(d, J = 7,8Гц, 1H, H6); MS: m/z 270(MH⁺); Обчислено для C₁₁H₁₅N₃O₅: C, 49,07; H, 5,62; N, 15,61, Знайдено: C, 48,93; H, 5,55; N, 15,64.

Подібним способом приготували (1S,3R, 4R,8S)-3-(N⁴-ацетилцитозин-1-іл)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану.

Альтернативний спосіб.

Суміш (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-3-(урацил-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(170мг, 0,63ммоль), ацетангідриду(2,16мл, 20,1ммоль) та піридину(0,29мл, 3,5ммоль) у безводному DMF(2,5мл) перемішували при кімнатній температурі протягом ночі, розвели метиленхлоридом, промили соляним розчином та 10% NaHCO₃, висушили(Na₂SO₄), концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію етилацетатом-гексанами(2 : 1) отримали 117мг(77%) 3',5'-діацетилової похідної (1S,3R,4R,8S)-8-ацетокси-1-ацетоксиметил-3-(урацил-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану.

(1S,3R,4R,8S)-8-ацетокси-1-ацетоксиметил-3-(урацил-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(175мг, 0,58ммоль) розчинили у безводному піридині(1,5мл) і отриманий розчин охолоджували до 0°C в атмосфері аргону, потім додали 4-хлорфеніл-дихлорфосфат(0,29мл, 1,75ммоль). Отриманий розчин нагрівали до кімнатної температури і перенесли до пробірки, закритої мембраною, яка містила 1,2,4-триазол(120мг, 1,75ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 3 днів, розвели CH₂Cl₂, промили соляним розчином та 5% NaHCO₃, висушили(Na₂SO₄) і концентрували до сухості. Залишок розчинили у діоксані(7мл) та 30% гідроксиді амонію(10мл). Розчин витримували при кімнатній температурі протягом 16 годин і розчинники випаровувалися. Після хроматографії залишку на діоксиді кремнію Et₃N-MeOH-CHCl₃(5 : 30 : 65) отримали 74мг(55%) сполуки, вказаної у заголовку, у вигляді біло-жовтої твердої речовини.

Приклад 29

Приготування (1R,3R,4R,8s)-1-ацетоксиметил-3-(N²-ацетилгуанін-7-іл)-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(31)

Силіловану основу з N²-ацетилгуаніну(386мг, 2,0ммоль) приготували за способом, який описано для прикладу 17, та розчинили у розчині(1R,3S,4R,8S)-1-ацетоксиметил-8-бензилокси-3-метокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(477мг, 1,48ммоль) у безводному 1,2-дихлороетані(10мл). Потім додали хлорид олова(IV) (0,75мл) у 1,2-дихлороетані(2,0мл). Отриману суміш нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом 3 годин, потім при 70°C протягом ночі та охолоджували до 0°C. Суміш нейтралізували 2,0М карбонатом натрію, фільтрували крізь броунмілерит, ретельно екстрагували хлороформом. Комбінований фільтрат висушили(Na₂SO₄) та концентрували до сухості. Внаслідок хроматографії на діоксиді кремнію 5% EtOH у хлороформі отримали 297мг(42%) вказаної у заголовку сполуки, 73мг(10%) N⁹-зв'язаного β-аномеру вказаної у заголовку сполуки та 46мг(6%) N⁹-зв'язаного α-аномеру. Усі вони мали вигляд білої твердої речовини. Сполука, вказана у заголовку: т. пл. 176 - 178°C (CH₂Cl-EtOAc); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,09(s, 3H, OAc), 2,40(s, 3H, NAc), 2,78(m, 1H, H2'), 3,53(d, J = 11,4Гц, 1H, H4a"), 3,99(d, J = 11,1Гц, H4b"), 4,03 - 4,18(m, 4H, H2a", H2b", H3', H5a'), 4,26(d, J = 12,6Гц, 1H, H5b'), 4,39, 4,58(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 6,62(s, 1H, H1'), 7,22 - 7,40(m, 5H, Bn), 8,21(s, 1H, H8), 10,60(s, 1H, NH), 12,34(s, 1H, NH); Обчислено для C₂₃H₂₅N₅O₈: C, 55,31; H, 5,05; N, 14,02, Знайдено: C, 55,35; H, 4,83; N, 13,80.

Приклад 30

Приготування (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-3-(N²-ацетилгуанін-9-іл)-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(32)

Таку саме кількість силілованого N²-ацетилгуаніну, як описано для прикладу 29, розчинили у розчині (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-3-(N²-ацетилгуанін-7-іл)-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(370мг, 0,76ммоль) у безводному 1,2-дихлороетані(10мл) та додали триметилсилілтрифлат(0,54мл, 3,0ммоль) в 1,2-дихлороетані(3мл). Отриманий розчин нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом ночі. Додали додатковий TMSOTf(тетраметилен-сульфоксид) (0,54мл) та суміш нагрівали у колбі зі зворотним холодильником протягом іще двох днів. Після кінцевої обробки, такої як описано для прикладу 29,

отримали після хроматографії на діоксиді кремнію 5% етанолом у хлороформі 104мг(28%) початкового матеріалу без змін, 91мг(25%) вказаної в заголовку сполуки та 80мг(22%) α -аномеру вказаної у заголовку сполуки. Усі мали вигляд білої твердої речовини. Сполука вказана у заголовку: т. пл. 128 - 131°C (CH₃Cl-EtOAc); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,02(s, 3H, OAc), 2,30(s, 3H, NAc), 2,67(m, 1H, H2'), 3,50(d, J = 10,8Гц, 1H, H4a"), 3,78(dd, J = 10,8Гц, 2,7Гц, 1H, H2a"), 3,99(d, J = 10,8Гц, H4b"), 4,12(d, J = 12,3Гц, 1H, H5a'), 4,14(d, J = 10,8Гц, 1H, H2b"), 4,27(d, J = 12,3Гц, 1H, H5b'), 4,33(d, J = 5,1Гц, 1H, H3'), 4,49, 4,62(AB, J = 11,7Гц, 2H, Bn), 6,25(s, 1H, H1'), 7,26-7,38(m, 5H, Bn), 7,83(s, 1H, H8), 9,0(s, 1H, NH), 11,95(s, 1H, NH); MS: m/z 310(MH⁺); Обчислено для C₂₃H₂₅N₅O₈: C, 55,31; H, 5,05; N, 14,02, Знайдено: C, 55,70; H, 5,00; N, 13,95.

Приклад 31

Приготування (1S,3R,4R,8S)-3-(гуанін-9-іл)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(33)

За подібною процедурою, яку описано для прикладу 22, після хроматографії з (1R,3R,4R,8S)-1-ацетоксиметил-3-(N²-ацетилгуанін-9-іл)-8-бензилокси-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(180мг) отримали 52мг(45%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвної твердої речовини. Після кристалізації з води - етанолу(9 : 1) отримали кристалічну тверду речовину; т. пл. 258°C(розклад); ¹H ЯМР (DMCO): δ 2,45(m, 1H, H2'), 3,31(d, J = 10,8Гц, 1H, H4a"), 3,36-3,50(m, 2H, H5a', H5b'), 3,60(dd, J = 10,2Гц, 2,7Гц, 1H, H2a"), 3,1(d, J = 11,1Гц, H4b"), 4,03(d, J = 10,5Гц, 1H, H2b"), 4,36(m, 1H, H3'), 4,95(t, J = 5,7Гц, 1H, OH), 5,70(d, J = 3,9Гц, 1H, OH), 6,06(s, 1H, H1'), 6,55(br, 2H, NH₂), 7,90(s, 1H, H8), 10,68(s, 1H, NH); MS m/z 310(MH⁺).

Приклад 32

Приготування (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-3-(N⁴-ацетилцитозин-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(35)

Розчин (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-гідроксиметил-3-(N⁴-ацетилцитозин-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(200мг, 0,64ммоль) та 4,4'-диметокситритилхлориду(548мг, 0,61ммоль) в безводному піридині(7мл) залишили при кімнатній температурі на ніч, розвели етилацетатом, промили соляним розчином та 10% NaHCO₃, висушили над сульфатом натрію та концентрували. Після хроматографії на діоксиді кремнію 10% етанолом у хлороформі отримали 342мг(87%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвної піни.

Подібним способом приготували (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-3-(N⁴-бензоіл-цитозин-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан(36) та (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-3-(тимін-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан(34).

Приклад 33

Приготування (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-3-(N⁴-ацетилцитозин-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан 8-O-(2-ціаноетил-N,N-діізопропілфосфорамідит) (38)

До перемішаного розчину (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-3-(N⁴-ацетилцитозин-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октану(320мг, 0,52ммоль) та діізопропілетиламіну(0,36мл, 2,08ммоль) у безводному дихлорометані(6мл) при 0°C в атмосфері аргону додавали краплями 2-ціаноетил-N,N-діізопропілхлорофосфорамідит(0,23мл, 1,04ммоль). Отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 4 годин, охолодили льодом, розвели етилацетатом, промили холодним 10% NaHCO₃, висушили над сульфатом натрію та концентрували при кімнатній температурі. Після хроматографії на діоксиді кремнію 5% триетиламіном та 5% ацетоном у метиленхлориді отримали 376мг(89%) вказаної у заголовку сполуки у вигляді безбарвної піни.

Подібним способом приготували (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-3-(N⁴-бензоіл-цитозин-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан 8-O-(2-ціаноетил-N,N-діізопропілфосфорамідит) (39) та (1S,3R,4R,8S)-8-гідрокси-1-(4,4'-диметокситритилоксиметил)-3-(тимін-1-іл)-2,6-діоксабіцикло[3,2,1]октан-8-O-(2-ціаноетил-N,N-діізопропілфосфорамідит) (37).

Приклад 34

Приготування олігонуклеотидів, що містять 2,4-біциклонуклеотиди

Цей приклад ілюструє застосування біциклонуклеозидних фосфорамідитів 37 - 39 для синтезу олігонуклеотидів, що містять біциклонуклеозиди з 2'-С,4'-С-місточковим зв'язком. У цьому прикладі олігонуклеотиди синтезували шляхом застосування фосфорамідитного способу. Модифіковані олігонуклеотиди синтезували згідно за стандартними процедурами(протокол для синтезатору ABI 394 від Perkin-Elmer, 1994) за тим винятком, що застосовували більш концентрований розчин та подовжений час взаємодії. Розчин для модифікованих фосфорамідитів був 0,13М, тобто був на 30% більш концентрованим, ніж розчини для немодифікованих фосфорамідитів(0,1М). Час взаємодії для модифікованих фосфорамідитів дорівнював 10 хвилинам, а для немодифікованих фосфорамідитів-5 хвилин поряд з модифікованими. Виходи взаємодії для модифікованих фосфорамідитів можна порівнювати з немодифікованими(98 - 99%). Модифіковані ODN очистили шляхом рідинної хроматографії високого розрізнення(HPLC) з оберненою фазою та характеризували за допомогою мас-спектрометрії.

Для прикладу наводиться наступний перелік синтезованих послідовностей:

5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'
 5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'
 5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'
 5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'
 5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'
 5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'
 5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'
 5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'
 5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'
 5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'
 5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'

A, C, G та T = немодифікований деоксирибонуклеозид

T = тимідин з 2',4'-C-місточковим зв'язком

C = деоксицитидин з 2',4'-C-місточковим зв'язком.

Приклад 35

Властивості гібридації олігонуклеотидів, що містять біциклонуклеотиди з 2'-C,4'-C-місточковим зв'язком.

Гібридизацію модифікованих олігонуклеотидів з комплементарної ДНК та РНК досліджували шляхом вимірювання термодинамічного плавлення [Wang et al. Nucleosides Nucleotides 1997, 16, 445]. Як видно з таблиці 1, модифікації значно підсилюють гібридизацію з РНК. Для послідовностей, що містять біциклічний тимідин T, підвищення значень Tm становить 2,2 - 3,3 градусів для однієї модифікації. Послідовності, що містять біциклічний цитидин C, також мають більш високі значення Tm порівняно з немодифікованими олігонуклеотидами, на 2,4° вище для модифікації з послідовністю 4 та на 1,9° вище для модифікації з послідовністю 5. Послідовність 12 містить помилково спарений нуклеозид (G у середині послідовності заміщується T), має значення Tm на одинадцять градусів нижче, ніж послідовність 10, що вказує на специфічність послідовності. Для послідовностей, у яких усі T та C заміщуються T та C, значення Tm (> 90°) підвищилися далі, так що не можна було отримати точні значення у вимірювальній системі.

Таблиця 1

Дані гібридизації олігонуклеотидів, що містять біциклонуклеозиди з 2'-C,4'-C-місточковим зв'язком

	Послідовність	Tm °C РНК	ΔTm °C/Мод.
1	5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'	64,4	
2	5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'	78,1	+2,8
3	5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'	~ 82	+2,2
4	5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'	71,7	+2,4
5	5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'	77,5	+1,9
6	5'-d(ATCTCTCCGCTTCCTTTC)-3'	> 90	
7	5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'	63,0	
8	5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'	69,5	+3,3
9	5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'	76,2	+3,3
10	5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'	81,4	+2,3
11	5'-d(CTTCCTGTCTGATGGCTTC)-3'	> 90	
12	5'-d(CTTCCTGTCTTATGGCTTC)-3'	70,3	

T = тимідин з 2',4'-C-місточковим зв'язком, C = цитидин 2',4'-C-місточковим зв'язком. Зразки для вимірювання Tm містять 2,0мкМ модифікованих олігонуклеотидів та 2,0мкМ комплементарної ДНК або РНК у буфері (10мМ фосфат натрію, 0,1мМ EDTA (етилендіамінтетраоцтова кислота), та 0,1М хлорид натрію, рН 7,0).

Отже, було описано специфічні варіанти здійснення та застосування прикладів та способів отримання нових нуклеозидів та олігонуклеотидів з біциклічними цукровими складовими. Проте, фахівці у галузі повинні розуміти, що можливими є набагато більше модифікацій окрім тих, що вже описано, які не суперечать концепціям цього винаходу. Отже, об'єм винаходу не можна обмежувати, окрім як в дусі формули винаходу, що додається. Крім того, під час інтерпретації як опису, так і формули винаходу, усі терміни слід інтерпретувати як можна ширше згідно зі змістом. Зокрема терміни "включає" та "що включає" слід відносити до елементів компонентів або кроків без винятку, вказуючи на те, що елементи, компоненти або кроки, про які йдеться мова, можуть бути присутніми, можуть застосовуватися або об'єднуватися з іншими елементами, компонентами або кроками, про які особливо не йде мова.