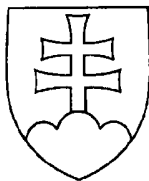


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD  
PRIEMYSELNÉHO  
VLASTNÍCTVA  
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

## PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

# 283 160

(13) Druh dokumentu: B6

(51) Int. Cl.<sup>7</sup>:

**C07H 19/06**

- (21) Číslo prihlášky: **485-97**  
(22) Dátum podania prihlášky: **1. 11. 1995**  
(24) Dátum nadobudnutia účinkov patentu: **4. 3. 2003**  
Vestník ÚPV SR č.: **3/2003**  
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **08/340 972**  
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **17. 11. 1994**  
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**  
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **5. 11. 1997**  
Vestník ÚPV SR č.: **11/1997**  
(47) Dátum sprístupnenia patentu verejnosti: **21. 1. 2003**  
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:  
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US95/14086**  
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO96/16072**

(73) Majiteľ: **ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN, US;**

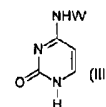
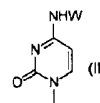
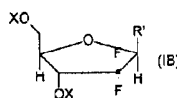
(72) Pôvodca: **Chou Ta-Sen, Indianapolis, IN, US;**  
**Poteet Laurie Michelle, Zionsville, IN, US;**  
**Kjell Douglas Patton, West Lafayette, IN, US;**

(74) Zástupca: **Hörmannová Zuzana, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Spôsob čistenia a izolovania 2'-deoxy-2',2'-difluór nukleozidov**

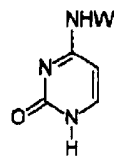
(57) Anotácia:

Spôsob čistenia a izolácie beta-anomérom obohateného nukleozidu pozostávajúci z: a) poskytnutia zmesi obsahujúcej R'' a beta-anomérom obohatený nukleozid vzorca (IB), kde každé X je nezávisle vybrané z hydroxyl chrániacich skupín a R' je nukleobáza (II), kde W je aminoskupinu chrániaca skupina, a R'' je nukleobáza vzorca (III), kde W' je aminoskupinu chrániaca skupina alebo vodík, vo vysokovriacom rozpúšťadle; b) zriedenia zmesi organickým rozpúšťadlom zo skupiny pozostávajúcej z éterov, esterov a nitrilov; c) pridania zriedenej reakčnej zmesi do vodnej kyseliny a d) ponechania takto pripravenej kyselinovej zmesi pri teplote od 70 °C do 100 °C, kým nevypadne produkt vzorca (IB), kde W je teraz W'.



### Oblasť techniky

Vynález sa týka oblasti farmaceutickej chémie a poskytuje spôsob čistenia a izolácie 2'-deoxy-2',2'-difluórnukleozidov.



### Doterajší stav techniky

Sústavný záujem o syntézu 2'-deoxynukleozidov a ich analógov sa odráža na ich úspešnom použití ako terapeutických činidiel pri viróznych a rakovinových ochoreniach. Kritickým stupňom celkovej syntézy 2'-deoxynukleozidov je čistenie a izolácia požadovanej beta-anomérskej formy nukleozidu. Ide o kritický stupeň, pretože postupy syntézy 2'-deoxynukleozidov sú typicky nestereoselektívne a tvoria zmes alfa a beta nukleozidov.

Vorbruggen a kol., *J. Org. Chem.*, **41**, 2084 (1976), M. Hofer, *Chem. Ber.*, **93**, 2777 (1960), Walker a kol., *Nucleic Acid Research*, **12**, 6827 (1984), R. P. Hodge a kol., *J. Org. Chem.*, **56**, 1553 (1991), Tann a kol., *J. Org. Chem.*, **50**, 3644 (1985), Howell a kol., *J. Org. Chem.*, **53**, 85 (1988) a patent USA č. 4 965 374, Chou a kol., všetky udávajú rôzne syntézy zmesi alfa a beta anomérnych deoxynukleozidov.

Napriek pokračujúcim pokrokom v syntéze nukleozidov naďalej existuje potreba spôsobu schopného efektívneho čistenia a izolácie beta anomérom obohatených 2'-deoxy-2',2'-difluórnukleozidov vo zvýšených výťažkoch, kde difluórnukleozidy boli syntetizované v neprítomnosti katalyzátora.

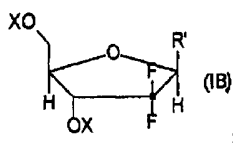
V súlade s uvedeným je cieľom predloženého vynálezu poskytnúť spôsob efektívneho čistenia a izolácie beta anomérom obohatených 2'-deoxy-2',2'-difluórnukleozidov.

Ďalšie ciele a výhody predloženého vynálezu budú zrejme z nasledujúcich opisov uskutočnení.

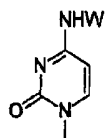
### Podstata vynálezu

Tento vynález je spôsob čistenia a izolovania beta anomérom obohateného nukleozidu pozostávajúci z:

a) poskytnutia zmesi obsahujúcej R'' a beta-anomérom obohatený nukleozid vzorca



kde každé X je nezávisle vybrané z hydroxyl chrániacich skupín a R' je nukleobáza vzorca



kde W je aminoskupinu chrániaca skupina a R'' je nukleobáza vzorca

kde W' je aminoskupinu chrániaca skupina alebo vodík, vo vysokovriacom rozpúšťadle;

b) zriedenia zmesi organickým rozpúšťadlom zo skupiny pozostávajúcej z éterov, esterov a nitrilov;

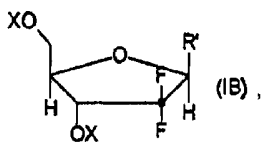
c) pridania zriedenej reakčnej zmesi do vodnej kyseliny a d) ponechania takto pripravenej kyselínovej zmesi pri teplote od 70 °C do 100 °C, kým nevypadne produkt vzorca (IB), kde W je teraz W'.

V tomto dokumente sú všetky teploty uvádzané v stupňoch Celzia, všetky pomery, percentá a podobne sú vzťahované na hmotnosť a všetky zmesi sú v objemových jednotkách okrem prípadov, kde je uvedené inak. Anomérska zmes sú vyjadrené ako hmotnostné pomery alebo v percentách. Pojem „alkyl“ samotný alebo v kombinácii sa vzťahuje na lineárne, cyklické a rozvetvené alifatické uhlíkovité skupiny, ktoré obsahujú najlepší do 7 atómov, ako sú skupiny metyl, etyl, n-propyl, izopropyl, n-butyl, t-butyl, n-pentyl, n-hexyl, 3-metylpenyl a podobne alebo substituované lineárne, cyklické a rozvetvené alifatické uhlíkové skupiny, ako je chlóretyl, 1,2-dichlóretyl a podobne. Pojem „substituovaný“ samotný alebo v kombinácii sa týka substitúcie jednou alebo viacerými skupinami vybranými z kyano, halogén, karboalkoxy, toluoyl, nitro, alkoxy, alkyl a dialkylamino. Fráza „anomérom obohatený“ samotná alebo v kombinácii sa vzťahuje na anomérnu zmes, kde pomer špecifikovaného anoméru je väčší ako 1 : 1 a obsahuje prakticky čistý anomér.

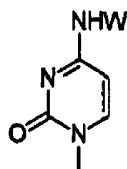
Hydroxyl chrániace skupiny (X) sa vzťahujú na hydroxyl chrániace skupiny známe v tejto oblasti, ako sú opísané v kapitole 3 monografie *Protective Groups in Organic Chemistry*, McOmie Ed., Plenum Press, New York (1973) a v kapitole 2 monografie *Protective Groups in Organic Synthesis*, Green, John, J. Wiley and Sons, New York (1981). Preferovanými hydroxyl chrániacimi skupinami sú esterotvorné skupiny, ako formyl, acetyl, substituovaný acetyl, propionyl, butinyl, pivaloyl, 2-chlóracetyl, benzoyl, substituovaný benzoyl, fenoxycarbonyl, metoxyacetyl; uhličitanové deriváty, ako fenoxycarbonyl, etoxycarbonyl, t-butoxycarbonyl, vinyloxykarbonyl, 2,2,2-trichlórtoxykarbonyl a benzyloxykarbonyl; alkyléterotvorné skupiny, ako benzyl, difenylmetyl, trifenylmetyl, t-butyl, metoxymetyl, tetrahydropyranyl, alyl, tetrahydrotienyl, 2-metoxymetyl; karbamáty, ako N-fenylkarbamát a N-imidazolylkarbamát; viac sa preferujú benzoyl, acetyl, pivaloyl, trifenylmetylétery a najviac sa preferuje benzoyl.

Aminoskupinu chrániace skupiny (W) sú vybrané zo skupiny pozostávajúcej zo silylaminotvorných skupín, ako trialkylsilyl, vrátane trimetylsilylu; izopropyl-dialkylsilyl, alkyl-diizopropylsilyl, triizopropylsilyl, 1,1,3,3-tetraizopropyl-disiloxanyl, t-butyl-dialkylsilyl a t-butyl-diarylsilyl; karbamáty, ako t-butoxycarbonyl, benzyloxykarbonyl, 4-metoxibenzyloxykarbonyl a 4-nitrobenzyloxykarbonyl; formyl, acetyl, benzoyl a pivalamid; éterotvorné skupiny, ako metoxymetyl, t-butyl, benzyl, alyl a tetrahydropyranyl; preferovanou aminoskupinu ochraňujúcou skupinou je trimetylsilyl.

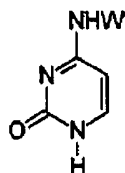
Prvým krokom v postupe predloženého vynálezu je poskytnúť zmes obsahujúcu R'' a beta anomérom obohatený nukleozid vzorca



kde každé X je nezávisle vybrané z hydroxyl chrániacich skupín a R' je nukleobáza vzorca



kde W je aminoskupinu chrániaca skupina, a R'' je nukleobáza vzorca



kde W' je aminoskupinu chrániaca skupina alebo vodík; vo vysokovriacom rozpúšťadle.

Takú zmes možno vytvoriť mnohými rôznymi spôsobmi. Metódy na syntézu takej zmesi sú opísané a nárokované v európskej patentovej prihláške č. 93304817.5. Postupovaním podľa niektorých z týchto postupov (bez použitia katalyzátora; použitím nadbytku nukleobázy R'', str. 9 EP 93304817.5; a použitím vysokovriaceho rozpúšťadla, strana 10, riadky 13 - 17) opísaných v európskej patentovej prihláške č. 93304817.5 je možné pripraviť beta anomérom obohatené nukleozidy v anomérnom pomere alfa - beta od viac ako 1 : 1 po menej alebo rovnajúce sa 1 : 9. Aby sa získali tieto pomery, musí sa použiť veľký nadbytok R''. Nadbytok R'' sa oddelí od požadovaného produktu spôsobom podľa predloženeho vynálezu.

Vysokovriace rozpúšťadlo je rozpúšťadlo, ktoré má teplotu varu nad 70 °C. Vysokovriace rozpúšťadlo je mierne polárne, stabilné proti kyselinám a nenukleofilné. Typickými vysokovriacimi rozpúšťadlami sú aromatické halogénalkyl, alkoxy a halogénom substituované aromatické rozpúšťadlá a ich zmesi. Preferovanými vysokovriacimi rozpúšťadlami sú 1,2-dichlóretán, 1,1,2-trichlóretán, glym, diglym, toluén, xylény, anizol, dichlórbrommetán, chlórbenzén, dibromchlórmetán, tribrommetán, dibrommetán, acetonitril, propionitril, dioxán a ich zmesi, pričom viac sa preferuje anizol.

Keď sa získa zmes obsahujúca R'' a opísaný beta anomérom obohatený nukleozid, postup podľa predloženeho vynálezu pokračuje nasledovne. Predovšetkým, reakčná zmes sa zriedi organickým rozpúšťadlom s teplotou varu vyššou ako 60 °C. Prijateľné rozpúšťadlá sú z triedy éterov, esterov a nitrilov; preferovanými príkladmi sú acetonitril, etylacetát a tetrahydrofurán. Zriedenie sa vykonáva pri zvýšenej teplote, ktorá môže byť reakčnou teplotou. Organické rozpúšťadlo by sa tiež malo zahrievať na zvýšenú teplotu a teplota reakčnej zmesi a rozpúšťadla by mala byť v rozmedzí od 70 °C do 110 °C. Najpreferovanejším rozpúšťadlom je acetonitril.

Množstvo pridaného organického rozpúšťadla je v rozmedzí od 1 ml do 5 ml na 1 gram použitého R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu). Po zriedení reakčnej zmesi nie je potrebný žiadny osobitný čas státia; zriedená zmes sa môže okamžite vziať do ďalšieho stupňa. Zriedená reakčná zmes sa pridá do veľkého množstva vodnej kyseliny pri zvýšenej teplote. Účelom vodnej kyseliny je rozpustenie nadbytku R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu), ktorý bol použitý v glykozylačnej reakcii opísanej na strane 9 európskej patentovej prihlášky č. 93304817.5. Preto množstvo a stupeň kyslosti vodnej kyseliny závisí od nadbytočného množstva R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu) použitého v samotnej reakcii. Ďalej množstvo vodnej kyseliny závisí aj od výberu kyselinovej látky použitej pri príprave vodnej kyseliny.

Najpreferovanejšou kyselinou je kyselina chlorovodíková použitá pri koncentrácii od 1 N do 6 N, najvhodnejšie pri 4 N. Keď sa použije táto kyselina a množstvo nadbytku R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu) je v rozmedzí od 5 X do 20 X, množstvo vodnej kyseliny chlorovodíkovej je od 3 ml do 5 ml na 1 gram použitého R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu).

Sú však použiteľné aj iné vodné minerálne kyseliny a podmienky a za rôznych okolností môžu byť preferované. Ak treba, možno napríklad použiť minerálnokyselinové látky, ako kyselina sírová, kyselina siričitá, kyselina fosforečná, kyselina dusičná a kyselina fosforitá. Koncentrácia kyseliny sa môže meniť v pomerne širokom rozsahu, približne nepriamo úmerne k prijateľnému objemu celkového izolačného stupňa. Vo všeobecnosti možno pre vodnú kyselinu použiť koncentrácie od 1 N do 10 %. Objem vodnej kyseliny sa musí experimentálne optimalizovať pre jednotlivé kyseliny a množstvo v reakčnej zmesi. Potrebné experimenty sú veľmi jednoduché, od operátora vyžadujú len postupné úpravy koncentrácie a objemu kyseliny s použitou špecifickou reakčnou zmesou pri rešpektovaní rozpustnosti R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu) v každom prípade.

Vodná kyselina nemusí byť pri kombinovaní s reakčnou zmesou horúca. Vodná kyselina môže mať teplotu miestnosti, pokiaľ je celá zmes zahriata na teplotu v rozmedzí 70 °C až 100 °C. Reakčné teplo reakcie môže byť dostatočné na privedenie zmesi na túto teplotu, alebo v niektorých prípadoch môže byť potrebné zahrievať zmes zvonka. V niektorých prípadoch dá reakčné teplo vyššiu teplotu ako 100 °C, takže treba reakčnú zmes chladíť tak, aby sa udržala pod 100 °C. Je to tak preto, lebo je dôležité, aby sa teplota vodnej kyseliny nezvýšila tak, aby sa niektoré z ochranných skupín predčasne neštiepili už v tomto stupni procesu. Keď sa ako organické rozpúšťadlo použije acetonitril, najpreferovanejšou teplotou je 70 °C až 80 °C.

Kyselinová zmes, ktorá je výsledkom pridaného zriedenej reakčnej zmesi do vodnej kyseliny, sa udržiava, najlepšie s miernym miešaním, po určitý čas. Fyzikálne zmeny, ktoré sa objavia počas tohto času, sú rozpustenie nadbytku R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu) vo vrstve vodnej kyseliny a vyzrážanie požadovaného beta-nukleozidu. Vyzrážanie je selektívne a nežiaduci alfa-nukleozid ostáva v značnej časti rozpustený v organickej vrstve. Preto kyselinovú zmes treba udržiavať pri konštantnej teplote, kým nedôjde k týmto dvom fyzikálnym zmenám. Vo všeobecnosti je primerané obdobie 10 minút až 1 hodina.

Po dostatočne dlhom čase sa vyzrážaný beta-nukleozid oddelí od dvoch kvapalných fáz filtráciou alebo centrifugáciou a premyje sa ďalšou vodnou kyselinou. Filtrácia alebo centrifugácia by sa mala vykonať pri približne konštantnej teplote, aby sa zabránilo vykryštalizovaniu rozpusteného

R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu) z roztoku. Beta-nukleozid izolovaný a vyčistený týmto spôsobom môže stále ešte mať skupinu chrániacu aminoskupinu (W) alebo môže byť skupina chrániaca aminoskupinu (W) už odštiepená a nahradená atómom vodíka. Beta-nukleozid izolovaný a vyčistený uvedeným spôsobom je vysoko čistý vzhľadom na alfa-nukleozid, R'' (chránený alebo nechránený cytozín) a iné nečistoty a zistilo sa tiež, že požadovaný produkt sa pripraví vo vynikajúcom výťažku.

Keď sa kyselinová zmes prefiltruje alebo centrifuguje na odstránenie tuhého produktu, organická a vodná vrstva filtrátu sa oddelí. Nadbytok R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu) je vo vodnej vrstve a možno ho získať z tejto vrstvy a recyklovať späť do procesu. R'' (chránený alebo nechránený cytozín) možno získať späť jednoducho ochladením vodnej vrstvy a odfiltrovaním vykryštalizovaného R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu), alebo prevedením pH vodnej vrstvy na bázičné, ochladením bázičného roztoku a odfiltrovaním vyzrážaného R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu). Späť získaný cytozín z uvedeného procesu sa bežne recykluje do procesu prípravy zmesi podľa opisu v európskej patentovej prihláške č. 93304817.5. Takto nárokováný spôsob zabezpečuje ekonomické recyklovanie R'' (chráneného alebo nechráneného cytozínu), čo je priaznivou vlastnosťou spôsobu.

Konečnou fázou postupu je odstránenie ochranných skupín X a akejkolvek ostávajúcej W z blokovaného čistého tuhého nukleozidu vzorca (IB). Odstránením ochranných skupín sa získa rovnaký anomérny pomer nechráneného nukleozidu.

Väčšina silylových ochranných skupín pre aminoskupiny sa ľahko štiepi pomocou protického rozpúšťadla, ako napríklad vody alebo alkoholu. Väčšina silylových ochranných skupín pre aminoskupiny je citlivých na štiepenie počas kontaktu s minerálnou kyselinou. Acylové chrániace skupiny, ako je napríklad benzoyl, a acylamino chrániace skupiny sa odstraňujú hydrolyzou silnou bázou pri teplote od 0 °C do 100 °C. Silné alebo mierne silné bázy vhodné na použitie v tejto reakcii sú bázy s pKa (pri 25 °C) od 8,5 do 20,0. Medzi také bázy patria hydroxidy alkalických kovov ako hydroxid sodný a hydroxid draselný; alkoxidy alkalických kovov, ako metoxid sodný alebo t-butoxid draselný; amidy alkalických kovov; amíny ako dietylamin, hydroxylamin, amoniak a podobne; a iné bežné bázy, ako hydrazín a podobne. Na každú ochrannú skupinu je potrebný najmenej jeden ekvivalent bázy.

Kyselinové chrániace skupiny možno tiež odstrániť kyselinovými katalyzátormi, ako je napríklad kyselina metánsulfónová, kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina sírová alebo kyslými ionexovými živcami. Preferuje sa vykonávanie takých hydrolyz pri pomerne vysokých teplotách, napríklad pri teplote refluxu zmesi, ale pri použití osobitne silných kyselín možno použiť aj také nízke teploty, ako je laboratórna teplota. Treba venovať pozornosť ochrane týchto kyselinových skupín, aby sa neštípili predčasne počas predchádzajúcich stupňov postupu podľa tohto vynálezu.

Odstránenie éterických ochranných skupín sa vykonáva známymi metódami, napríklad etántiolom a chloridom hliňným.

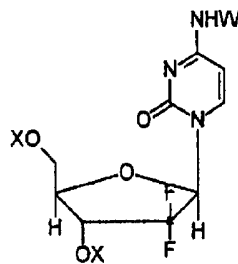
t-Butyldimetylsilylová ochranná skupina vyžaduje na svoje odstránenie kyslé podmienky, ako napríklad kontakt s plynným halogénvodíkom.

Odstránenie ochranných skupín možno pohodlne vykonať v alkoholických rozpúšťadlách, obzvlášť vo vodných alkanoloch, ako je napríklad metanol. Odblokovacie reakcie však možno uskutočniť v akomkoľvek vhodnom roz-

púšťadle, ako sú napríklad polyoly, vrátane etylénglykolu, étery, ako tetrahydrofuran, ketóny, ako acetón a butanón alebo dimetylsulfoxid.

V preferovanom uskutočnení sa pri odblokovacej reakcii využíva amoniak na odstránenie benzoylovej skupiny chrániacej hydroxyl pri teplote 10 °C. V tejto reakcii sa však preferuje použitie nadbytku bázy, hoci použité nadbytočné množstvo nie je dôležité.

Získaný beta- obohatený nukleozid



alebo jeho organická alebo anorganická adičná soľ sa môže extrahovať a/alebo izolovať z reakčnej zmesi postupom opísaným v patente USA č. 4 965 374.

Nasledujúci príklad ilustruje špecifické aspekty predloženej vynálezu a nie je myslený ako obmedzenie jeho rozsahu v akomkoľvek ohľade a nemal by sa tak vysvetľovať.

#### Príklad uskutočnenia vynálezu

##### Príklad 1

Príprava, čistenie a izolácia beta-anomérom obohateného 1-(2'-deoxy-2',2'-difluór-3',5'-di-O-benzoyl-D-ribofuranozyl)-4-aminopyridin-2-ónu s 22,5 ekvivalentu bis-trimetylsilylcytozínu

Do 250 ml 3-hrdlovej banky sa pridalo 30 g cytozínu, 25 mg síranu amónneho a 150 ml hexametyldisilazánu a zmes sa zahrieva na 125 °C a udržiavala sa pri tejto teplote 30 minút po rozpustení všetkých tuhých látok. Potom sa teplota zvýšila na 145 °C, udržiavala sa do ustátia varu a potom sa udržiavala na 120 °C za vákuu, kým sa nad hladinou kvapaliny v banke nezačali vylučovať tuhé látky. Potom sa zmes ochladila na 105 °C a pridalo sa 25 ml anizolu.

V ďalšej 125 ml banke sa skombinovalo 10 ml anizolu a 5,75 g 2-deoxy-2,2-difluór-3,5-dibenzoyl-D-ribofuranozyl-1- $\alpha$ -metánsulfonátu a zmes sa zahrieva, kým sa nevytvorila homogénna kvapalina. Táto kvapalina sa pri konštantnej teplote pridala do cytozínovej zmesi a kombinovaná zmes sa udržiavala pri 100 °C počas 24 hodín.

133 ml dávka 4 N kyseliny chlorovodíkovej sa dala do 500 ml banky. 31,3 ml dávka acetonitrilu sa pridala do reakčnej zmesi a zriedená reakčná zmes sa potom naliata na kyselinu so sústavným miešaním, zatiaľ čo sa na 500 ml banku pôsobilo chladiacim kúpeľom. Kombinovaná zmes sa potom miešala pri 70 °C počas 10 minút a potom sa odfiltrovala pri konštantnej teplote. Mokry koláč sa potom suspendoval počas 10 minút pri 70 °C s 25 ml 4 N kyselinou chlorovodíkovej a znova sa prefiltroval. Tento filtračný koláč sa suspendoval počas 10 minút pri 70 °C s 25 ml deionizovanej vody, odfiltroval a mokry koláč sa znova suspendoval pri 70 °C s 50 ml deionizovanej vody. Hodnota pH vodnej suspenzie bola zvýšená na 7 pomocou hydrogenuhličitanu sodného a zmes sa miešala 10 minút pri 50 °C alebo vyššie a znova sa prefiltrovala. Tento filtračný koláč

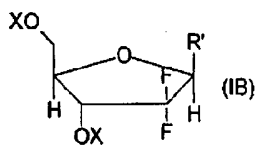
sa znova suspendoval s 50 ml deionizovanej vody pri 70 °C počas 10 minút, odfiltraval a filtračný koláč sa vysušil a analyzoval. Vážil 3,98 g, čo predstavuje izolovaný výtlačok 61 percent, a obsahoval menej ako 1 percento nežiaduceho alfa-anoméru.

Predložený vynález bol opísaný podrobne, vrátane jeho preferovaných uskutočnení. Je však zrejme, že odborníci po zvážení uvedeného môžu uskutočniť modifikácie a/alebo vylepšenia tohto vynálezu, ktoré budú patriť do rozsahu a ducha vynálezu tak, ako je stanovený v nasledujúcich nárokoch.

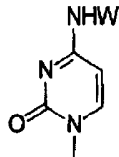
## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Spôsob čistenia a izolovania beta-anomérom obohateného nukleozidu, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že zahrnuje

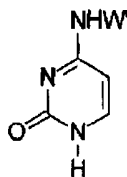
a) poskytnutie zmesi obsahujúcej R'' a beta-anomérom obohatený nukleozid vzorca (IB)



v ktorom každé X je nezávisle vybrané z hydroxyl chrániacich skupín a R' je nukleobáza všeobecného vzorca



kde W je aminoskupinu chrániaca skupina a R'' je nukleobáza všeobecného vzorca



v ktorom W' je aminoskupinu chrániaca skupina alebo vodík; vo vysokovriacom rozpúšťadle;  
b) zriedenie zmesi organickým rozpúšťadlom s teplotou varu vyššou ako 70 °C, vybraným zo skupiny pozostávajúcej z éterov, esterov a nitrilov; pri teplote od 70 do 110 °C;  
c) prídanie zriedenej reakčnej zmesi do vodnej minerálnej kyseliny a

d) udržiavanie kyselinovej zmesi takto pripravenej pri konštantnej teplote od 70 °C do 100 °C, až do vyzrážania produktu všeobecného vzorca (IB), kde W teraz znamená W'.

2. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa reakčná zmes zriedí acetonitrilom, etylacetátom alebo tetrahydrofuránom.

3. Spôsob podľa nároku 2, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa reakčná zmes zriedi acetonitrilom.

4. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že vodnou kyselinou je 1 N až 6 N kyselina chlorovodíková.

5. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že sa kyselinová zmes mieša počas zrážania produktu.

6. Spôsob podľa nároku 1, **v y z n a č u j ú c i s a t ý m**, že ďalej zahrnuje odblokovanie čisteného produktu všeobecného vzorca (IB) za vzniku nukleozidu, ktorým je 1-(2'-deoxy-2',2'-difluór-D-ribofuranozyl)-4-aminopyridin-2-ón.

**Koniec dokumentu**