

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037030**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.28

(21) Номер заявки
201990785

(22) Дата подачи заявки
2017.09.28

(51) Int. Cl. **C07H 21/02** (2006.01)
C07H 19/23 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

(54) ЦИКЛИЧЕСКИЕ ДИНУКЛЕОТИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

(31) **16191919.6**

(32) **2016.09.30**

(33) **EP**

(43) **2019.10.31**

(86) **PCT/EP2017/074608**

(87) **WO 2018/060323 2018.04.05**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)**

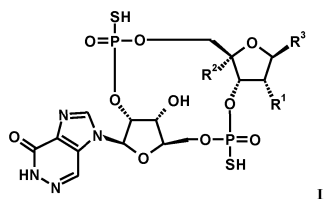
(72) Изобретатель:
**Ост Торстен, Каротта Зебастиан, Флек
Мартин (DE)**

(74) Представитель:
**Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)**

(56) **WO-A1-2017027646
WO-A1-2016096174**

BUSSOLARI ET AL.: "Synthesis and Biological Evaluation of N4-Substituted Imidazo- and v-Triazolo-[4,5-d]pyridazine Nucleosides", J. MED. CHEM., vol. 36, 1 January 1993 (1993-01-01), pages 4113-4120, XP002315096, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/JM00077A017 Abstract; page 4114, scheme I: compound 3a; page 4115, right column, paragraph 2, first sentence; page 4116, left column, summary.

(57) Изобретение относится к соединениям общей формулы I



I,

в которой группы R^1 , R^2 и R^3 имеют определения, приведенные в п.1, обладающим ценными фармакологическими свойствами, в частности являющимися модуляторами STING.

B1

037030

037030

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к новым циклическим динуклеотидным соединениям ("CDN") формулы I, включая их фармацевтически приемлемые соли, которые отличаются содержанием непуринового азотистого основания имидазопиридазинон, одного пуринового азотистого основания и одного неканонического фрагмента 2',5' фосфоротиоата и индуцируют выработку цитокинов. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям и комбинациям, содержащим соединения в соответствии с настоящим изобретением, и к их применению в медицине для лечения заболеваний, связанных с или модулированных посредством STING (стимулятора генов интерферона). В частности, фармацевтические композиции в соответствии с изобретением пригодны для терапии воспаления, аллергических и аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний, рака и в качестве адъювантов для вакцин.

Предпосылки создания изобретения

Роль иммунной системы заключается в защите организма от патогенных микроорганизмов и злокачественных клеток. Тем не менее, вирусы и раковые клетки находят способы уклониться от иммунной системы. Таким образом, цель иммунотерапии состоит в том, чтобы инициировать антигенспецифический иммунный ответ или повторно активировать ранее существовавший ответ в определенных типах клеток иммунной системы против патогенных возбудителей или раковых клеток.

Иммунная система состоит из нескольких специализированных линий, которые можно условно подразделить на две группы: врожденную и адаптивную иммунную систему. Для успешной иммунной реакции линии из обеих групп должны действовать согласованно. Основная роль врожденной иммунной системы заключается в создании быстрого иммунного ответа против патогенных микроорганизмов или злокачественных клеток, который, в отличие от адаптивной системы, не является антигенспецифическим и продолжительным. В дополнение к прямому уничтожению патогенов или трансформированных клеток врожденная иммунная система также активирует и впоследствии направляет адаптивную иммунную систему. Антигенпредставляющие клетки, такие как дендритные клетки, захватывают и представляют антигены в форме комплекса пептид-главный комплекс гистосовместимости (МНС) Т-клеткам в лимфоидных тканях. Это представление антигена вместе с секрецией определенных цитокинов приводит к активации и дифференцировке антигенспецифических эффекторных CD4 и CD8 Т-клеток. Выработка интерферона типа I (IFN) антигенпредставляющими клетками и другими типами клеток считается ключевым событием в активации Т-клеток, поскольку отсутствие IFN типа I приводило к снижению зависимого от Т-клеток иммунного ответа против вирусных инфекций или опухолевых клеток (Zitvogel et al., *Nature Reviews Immunology* 15, 405-414, 2015). С другой стороны, наличие сигнатуры IFN типа I во время лечения рака связано с повышенным количеством проникающих в опухоль Т-клеток и потенциально благоприятным клиническим исходом (Sistigu et al., *Nature Medicine* 20, 1301-1309, 2014).

Недавние исследования на мышах показали, что эффективная секреция IFN типа I в микроокружении опухоли и индукция зависимого от Т-клеток иммунного ответа против раковых клеток зависит от присутствия адаптерного белка - стимулятор генов интерферона (STING, также известный как Tmem173, MPYS, MITA, ERIS)(Woo et al., *Immunity* 41, 5, 830-842, 2014; Corrales et al., *Cell Reports* 11, 1018-1030, 2015; Deng et al., *Immunity* 41, 5, 843-852, 2014). Важность присутствия IFN типа I была наглядно подтверждена тем фактом, что делеция STING приводила к снижению уровней IFN типа I в микроокружении опухоли и к снижению противоопухолевого эффекта в некоторых мышинных моделях опухолей. С другой стороны, специфическая активация STING приводила к улучшенному антигенспецифическому Т-клеточному иммунному ответу против раковых клеток.

STING принадлежит к семейству сенсоров нуклеиновых кислот и является адаптером для передачи сигналов цитозольных ДНК. В своем базальном состоянии STING существует в виде димера с его N-концевым доменом, закрепленным в ER, и C-концевым доменом, находящимся в цитозоле. Циклические динуклеотиды (CDN), генерируемые белком циклическая GMP-AMP-синтаза (сGAS), являются естественными лигандами STING (Ablasser et al., *Nature* 498, 380-384, 2013). Связывание CDN со STING вызывает конформационные изменения, которые позволяют связывать и активировать TANK-связывающую киназу (TBK1) и регуляторный фактор интерферонов 3 (IRF3) и перемещать из ER в перинуклеарные эндосомы (Liu et al., *Science* 347, Issue 6227, 2630-1-2630-14, 2015). Фосфорилирование транскрипционного фактора IRF3 и NF-κB посредством TBK1 приводит к экспрессии множества цитокинов, включая IFN типа I.

Учитывая важность IFN типа I при некоторых злокачественных новообразованиях, включая вирусные инфекции и терапию рака, терапевтический интерес представляют стратегии, которые позволяют специфическую активацию STING.

В WO 2014/189805 описаны циклические динуклеотидные соединения, которые содержат два пуриновых азотистых основания и по меньшей мере один неканонический 2',5' фосфодиэфирный или фосфоротиоатный фрагмент и индуцируют STING-зависимую выработку цитокинов.

В WO 2015/185565 описаны циклические динуклеотидные соединения, которые содержат два пуриновых азотистых основания, один или два циклопентана вместо тетрагидрофурановых колец рибозы и один неканонический 2',5' фосфодиэфирный фрагмент и модулируют STING.

В WO 2016/120305 описаны циклические динуклеотидные соединения, которые содержат два пуриновых азотистых основания, один фрагмент рибозы, в котором 2'-ОН заменен на 2'-F, и один неканонический 2',5' фосфодиэфирный фрагмент и модулируют STING.

В US 2014/0329889, WO 2014/099824, WO 2015/017652, Cell 154, 748-762 (2013) и Molecular Cell 51, 226-235 (2013) описан циклический динуклеотид 2'3'-cGAMP (циклический [G(2',5')pA(3',5')p]), который содержит два пуриновых азотистых основания, один канонический 3',5' и один неканонический 2',5' фосфодиэфирный фрагменты. Неканонически связанный 2'3'-cGAMP связывается со STING человека с более высокой аффинностью, чем канонически связанный 3'3'-cGAMP или симметричный бактериальный c-di-GMP, и индуцирует выработку интерферона типа I.

В WO 2014/093936 описаны циклические динуклеотидные соединения, которые содержат два пуриновых азотистых основания и два канонических 3',5' фосфодиэфирных или фосфоротиоатных фрагмента и индуцируют STING-зависимую выработку цитокинов.

В US 7709458 описаны циклические динуклеотидные соединения, которые содержат два пуриновых азотистых основания и два канонических 3',5' фосфодиэфирных фрагмента и могут быть использованы для ингибирования пролиферации раковых клеток или для усиления апоптоза раковых клеток, в частности симметричного бактериального CDN c-di-GMP.

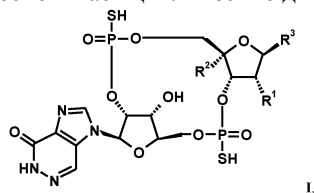
В US 7592326 описаны иммуностимулирующие циклические динуклеотидные соединения, которые содержат два пуриновых азотистых основания и два канонических 3',5' фосфодиэфирных фрагмента, в частности симметричный бактериальный CDN c-di-GMP.

В WO 2016/096174 и WO 2016/145102 описаны циклические динуклеотидные соединения, которые содержат два пуриновых азотистых основания и два канонических 3',5' фосфодиэфирных или фосфоротиоатных фрагмента и индуцируют STING-зависимую выработку цитокинов.

У Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 5631-5634 описаны иммуностимулирующие моно- и бисфосфоротиоатные аналоги симметричного бактериального CDN c-di-GMP.

Краткое изложение сущности изобретения

В первом аспекте изобретение обеспечивает циклические динуклеотидные соединения формулы I



I.

в которой

R¹ выбран из группы, включающей H, F, -O-C₁₋₃-алкил и OH, и

R² означает H или

R² означает -CH₂- и R¹ означает -O-, образуя совместно -CH₂-O- мостик, и

R³ означает пуриновое азотистое основание, которое выбирают из группы, включающей пурин, аденин, гуанин, ксантин, гипоксантин, связанный через его азот N⁹;

их изоформы, таутомеры, стереоизомеры, метаболиты, пролекарства, сольваты, гидраты и соли, в частности их физиологически приемлемые соли с неорганическими или органическими основаниями или их комбинации.

В другом аспекте изобретение обеспечивает новые соединения формулы I, включая их фармацевтически приемлемые соли, которые вызывают выработку цитокинов зависимым от STING способом *in vitro* и/или *in vivo* и обладают пригодными фармакологическими и фармакокинетическими свойствами для использования в терапии, то есть для применения в качестве лекарственных средств.

В другом аспекте изобретение обеспечивает новые соединения формулы I, включая их фармацевтически приемлемые соли, для применения в лечении заболевания или состояния, связанного с или модулированного посредством STING.

В другом аспекте изобретение обеспечивает новые соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли для лечения воспалительных, аллергических или аутоиммунных заболеваний, например аллергического ринита или астмы, для лечения инфекционных заболеваний или рака или для использования в качестве адъювантов для вакцин.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения заболевания или состояния, связанного с или модулированного посредством STING, у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения воспалительных, аллергических или аутоиммунных заболеваний, например аллергического ринита или астмы, для лечения инфекционных заболеваний или рака, у нуждающегося в этом пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом аспекте изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, содержащие соединения формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и один или большее количество фармацевти-

чески приемлемых наполнителей.

В другом аспекте изобретение обеспечивает применение соединения формулы I, включая его фармацевтически приемлемую соль, при изготовлении лекарственного средства для применения в лечении заболевания или состояния, при котором модуляция STING является благотворной, или для применения в лечении заболевания или состояния, связанного с или модулированного посредством STING.

В другом аспекте изобретение обеспечивает применение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли при изготовлении лекарственного средства для применения в лечении воспалительных, аллергических или аутоиммунных заболеваний, например аллергического ринита или астмы, для лечения инфекционных заболеваний или рака или для использования в качестве адъювантов для вакцин.

В другом аспекте изобретение обеспечивает комбинацию, содержащую соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство.

Другой задачей настоящего изобретения является обеспечение фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы I, или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство и один или большее количество фармацевтически приемлемых наполнителей.

В другом аспекте изобретение обеспечивает комбинацию, содержащую соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство для применения в терапии.

В другом аспекте изобретение обеспечивает комбинацию, содержащую соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство для применения в лечении заболевания или состояния, при котором модуляция STING является благотворной, или для применения в лечении заболевания или состояния, связанного с или модулированного посредством STING.

В другом аспекте изобретение обеспечивает комбинацию, содержащую соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство для применения в лечении воспаления, аллергических и аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний и рака.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения заболевания или состояния, при котором модуляция STING является благотворной или заболевания или состояния, связанного с или модулированного посредством STING, у пациента, включающий в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества комбинации, содержащей соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения воспалительных, аллергических или аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний или рака у пациента, включающий в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества комбинации, содержащую соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере одно дополнительное терапевтическое средство.

В другом аспекте изобретение обеспечивает адъювант для вакцины, содержащий соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, содержащую антиген или композицию антигенов и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте изобретение обеспечивает иммуногенную композицию, содержащую антиген или композицию антигенов и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в лечении или предупреждения заболевания.

В другом аспекте изобретение обеспечивает применение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли для изготовления иммуногенной композиции, содержащей антиген или композицию антигенов, для лечения или предупреждения заболевания.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения или предупреждения заболевания, включающий в себя введение человеческому субъекту, страдающему от или подверженному заболеванию, иммуногенную композицию, содержащую антиген или композицию антигенов и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте изобретение обеспечивает вакцинную композицию, содержащую антиген или композицию антигенов и соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в лечении или предупреждения заболевания.

В другом аспекте изобретение обеспечивает применение соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли для изготовления вакцинной композиции, содержащей антиген или композицию антигенов, для лечения или предупреждения заболевания.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ лечения или предупреждения заболевания, включающий в себя введение человеческому субъекту, страдающему от или подверженному заболеванию, вакцинной композиции, содержащей антиген или композицию антигенов и соединение формулы I

или его фармацевтически приемлемую соль.

Другие объекты в соответствии с настоящим изобретением станут очевидными для специалиста в данной области техники из приведенного выше и в дальнейшем описания, а также из примеров.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением проявляют несколько преимуществ, таких как благоприятная связывающая аффинность с STING человека, благоприятная клеточная активность, то есть в клетках, несущих различные аллели STING человека, благоприятная стабильность в клеточных анализах и благоприятные фармакокинетические (ФК) свойства.

Подробное описание

Если не указано иное, R^1 , R^2 и R^3 имеют определения, приведенные выше и в дальнейшем. Некоторые предпочтительные значения отдельных заместителей соединений в соответствии с изобретением будут приведены ниже. Любое и каждое из этих определений можно комбинировать друг с другом.

R^1 и R^2 :

В первом варианте осуществления R^1 и R^2 определены, как указано выше.

В другом варианте осуществления R^1 и R^2 оба означают H.

В еще одном варианте осуществления R^1 означает F и R^2 означает H.

В еще одном варианте осуществления R^1 означает -OH и R^2 означает H.

В еще одном варианте осуществления R^1 означает -OCH₃ и R^2 означает H.

В еще одном варианте осуществления R^1 означает -O- и R^2 означает -CH₂-, образуя совместно -O-CH₂- мостик.

R^3 :

В первом варианте осуществления R^3 определен, как указано выше.

В другом варианте осуществления R^3 означает пурин, связанный через его азот N⁹.

В другом варианте осуществления R^3 означает аденин, связанный через его азот N⁹.

В еще одном варианте осуществления R^3 означает гуанин, связанный через его азот N⁹.

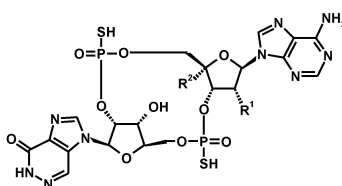
В еще одном варианте осуществления R^3 означает ксантин, связанный через его азот N⁹.

В еще одном варианте осуществления R^3 означает гипоксантин, связанный через его азот N⁹.

В нижеследующей таблице представлены дополнительные конкретные варианты осуществления I-1 - I-16 соединений формулы I

Вариант осуществления	R^1	R^2	R^3
I-1	H	H	H
I-2	F	H	H
I-3	F	H	H
I-4	F	H	H
I-5	F	H	H
I-6	F	H	H
I-7	OH	H	H
I-8	OH	H	H
I-9	OH	H	H
I-10	OH	H	H
I-11	OH	H	H
I-12	R^1 означает -O- и R^2 означает -CH ₂ -, образуя совместно -O-CH ₂ - мостик	H	H
I-13	R^1 означает -O- и R^2 означает -CH ₂ -, образуя совместно -O-CH ₂ - мостик	H	H
I-14	R^1 означает -O- и R^2 означает -CH ₂ -, образуя совместно -O-CH ₂ - мостик	H	H
I-15	R^1 означает -O- и R^2 означает -CH ₂ -, образуя совместно -O-CH ₂ - мостик	H	H
I-16	R^1 означает -O- и R^2 означает -CH ₂ -, образуя совместно -O-CH ₂ - мостик	H	H

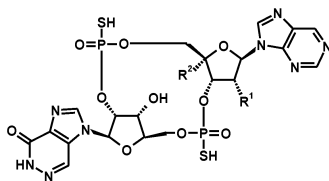
Предпочтительная подструктура соединений в соответствии с изобретением представлена в формуле Ia



Ia,

в которой R^1 и R^2 , а также их варианты осуществления определены, как описано выше.

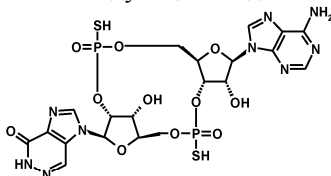
Предпочтительная подструктура соединений в соответствии с изобретением представлена в формуле Ib



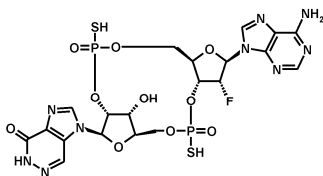
Ib

в которой R^1 и R^2 , а также его варианты осуществления определены, как описано выше.

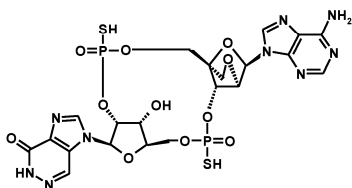
В частности, предпочтительны нижеследующие соединения в соответствии с изобретением



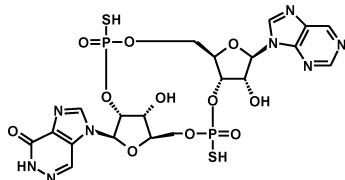
Ia.1,



Ia.2,



Ia.3, и



Ib.1

их таутомеры и стереоизомеры, их соли, в частности их физиологически приемлемые соли с неорганическими или органическими основаниями, их сольваты или гидраты.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением содержат хиральные атомы фосфора с конфигурацией Rp или Sp. Все стереоизомеры соединений общей формулы I, Ia, Ib, Ia.1, Ia.2, Ia.3 и Ib.1, либо в практически чистой форме, либо в виде их смесей, охватываются объектом изобретения. Предпочтительными являются соединения общей формулы I, Ia, Ib, Ia.1, Ia.2, Ia.3 и Ib.1 в виде, по существу, чистых (Rp,Rp), (Rp,Sp), (Sp,Rp) или (Sp,Sp) стереоизомеров, в частности, по существу, чистого (Rp,Rp) стереоизомера, т.е. оба атома фосфора имеют конфигурацию Rp.

Соединения в соответствии с изобретением и их промежуточные соединения могут быть получены с использованием способов синтеза, которые известны специалисту в данной области и описаны в литературных источниках по органическому синтезу. Предпочтительно соединения получают аналогично способам получения, более подробно описанным ниже, в частности, как описано в экспериментальном разделе. В некоторых случаях последовательность, принятая при проведении схем реакций, может варьироваться. Также могут быть использованы варианты этих реакций, которые известны специалисту в данной области, но подробно не описаны в настоящей заявке. Общие способы получения соединений в соответствии с изобретением станут понятны специалисту при изучении нижеследующих схем. Исходные соединения являются коммерчески доступными или могут быть получены способами, которые описаны в литературных источниках или в настоящей заявке, или могут быть получены аналогичным или подобным способом. Перед проведением реакции любые соответствующие функциональные группы в соединениях могут быть защищены с использованием обычных защитных групп. Эти защитные группы могут быть снова отщеплены на подходящей стадии в последовательности реакции с использованием способов, известных специалисту в данной области.

Раскрытые в настоящей заявке циклические динуклеотиды могут быть получены как подробно описано ниже или другими способами, известными специалистам в данной области. Специалисту в данной области техники должно быть понятно, что эти схемы никоим образом не являются ограничивающими и что могут быть произведены изменения некоторых частных вариантов без отклонения от сущности настоящего изобретения.

Циклические динуклеотидные соединения динуклеотиды могут быть получены способами, описанными в Chem. Rev. 113, 7354-7401 (2013), Org. Lett., 12, 3269-3271 (2010), Tetrahedron 49, 1115-1132 (1993), WO 2014/189805, WO 2016/096174, WO 2015/185565, WO 2016/145102 или WO 2016/120305 и процитированных там ссылок.

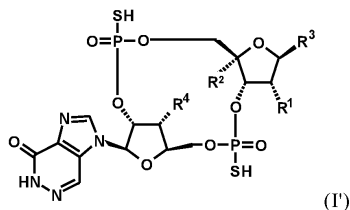
Термин "защитная группа", используемый в настоящей заявке, и если не указано иное, относится к химической функциональной группе, которая присоединена к атому кислорода, азота или фосфора для предотвращения дальнейшей реакции этого атома или для других целей. Специалистам в области органического синтеза известно широкое разнообразие защитных групп и они описаны, например, в "Protective Groups in Organic Synthesis" у T.W. Greene and P.G.M. Wuts, третье издание, 1999.

Соединения формулы (I) и их соли могут быть получены с помощью описанной ниже методики, что составляет дополнительные аспекты данного изобретения.

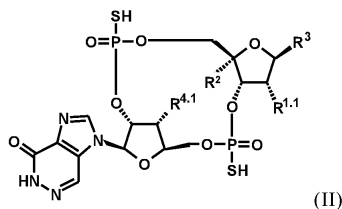
Специалистам в данной области понятно, что фосфоротиоатные фрагменты в формуле (I) могут существовать в R-конфигурации (R_P) или S-конфигурации (S_P). Описанная ниже методика может дать до четырех диастереомеров в отношении атомов фосфора, которые могут быть разделены хроматографическими методами, известными специалисту в данной области, например жидкостной хроматографией высокого давления с подходящими системами растворителей и колонками на разных стадиях синтеза. В некоторых случаях, например, когда одна стадия сульфуризации протекает диастереоселективно, описанная ниже методика предпочтительно может давать только два диастереомера, которые могут быть разделены хроматографическими методами, известными специалисту в данной области на разных стадиях синтеза.

Под заместителями, явно не указанными в следующих способах получения, подразумевают, что они охватывают определения, упомянутые выше в разделе "Краткое изложение сущности изобретения".

Соединение формулы

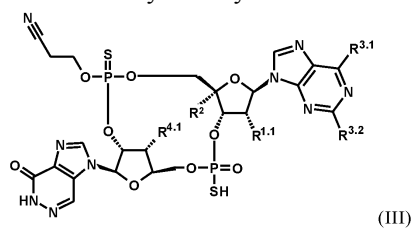


в которой R^4 и по выбору R^1 означают OH, могут быть получены путем снятия защиты с соединения формулы (II)



в которой $R^{4.1}$ и по выбору $R^{1.1}$ означают кислород, несущий подходящую защитную группу, такую как трет-бутилдиметилсилил (TBS). Например, $R^{1.1}$ означает H, F, O-алкил или OTBS или совместно с R^2 образует $-CH_2-O-$ мостик, и $R^{4.1}$ означает OTBS. Например, соединение формулы (II) растворяют в пригодном растворителе, например пиридине, обработанном смесью из триэтиламина тригидрофторида и триэтиламина, и перемешивают при подходящей температуре, например 20-60°C, в течение подходящего периода времени, например 1-6 ч.

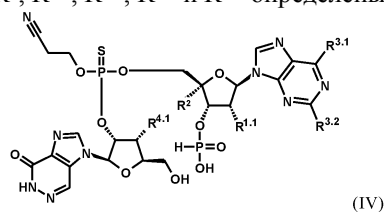
Соединение формулы (II) может быть получено путем снятия защиты с соединения формулы (III)



в которой или $R^{3.1}$ означает NH, несущий пригодную защитную группу, такую как бензоил, и $R^{3.2}$ означает H ("защищенный аденин") или $R^{3.1}$ означает OH и $R^{3.2}$ означает NH, несущий пригодную защитную группу, такую как изобутирил ("защищенный гуанин") или $R^{3.1}$ означает OH и $R^{3.2}$ означает H ("гипоксантин") или $R^{3.1}$ и $R^{3.2}$ оба означают ("пурин").

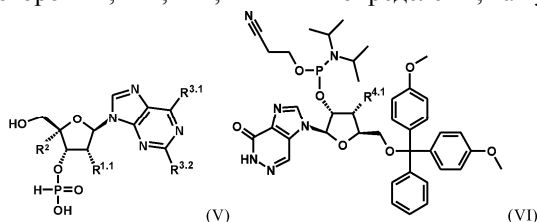
Например, соединение формулы (III) растворяют в пригодной смеси, например метиламина или водного раствора аммиака в метаноле или этаноле, и перемешивают при подходящей температуре, например 20-60°C, в течение подходящего периода времени, например 1-24 ч.

Соединение формулы (III) может быть получено циклизацией и последующей сульфуризацией соединения формулы (IV), в которой R^2 , $R^{3.1}$, $R^{3.2}$, $R^{1.1}$ и $R^{4.1}$ определены, как указано выше



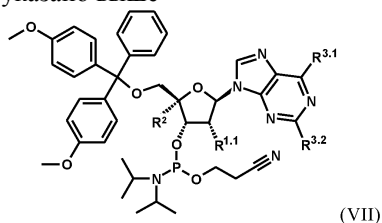
Например, соединение формулы (IV) растворяют в пригодном растворителе, например пиридине, и обрабатывают пригодным реагентом сочетания, например 2-хлор-5, 5-диметил-1,3,2-диоксафосфоринан 2-оксид (DMOCP), или пивалоилхлорид, или адамантоилхлорид, и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение подходящего периода времени, например 0.1-2 ч. Реакцию циклизации гасят путем обработки подходящим реагентом сульфуризации, например, таким как 3Н-1,2-бензодитиол-3-он или элементарная сера, и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение подходящего периода времени, например 0.1-2 ч.

Соединение формулы (IV) может быть получено путем сочетания соединения формулы (V) с соединением формулы (VI), в которой R^2 , $R^{3.1}$, $R^{3.2}$, $R^{1.1}$ и $R^{4.1}$ определены, как указано выше



Например, соединение формулы (VI) растворяют в пригодном растворителе, например ацетонитриле, и обрабатывают раствором соединения формулы (V), растворенном в пригодном растворителе, например ацетонитриле, по выбору в присутствии пригодного реагента сочетания, например тетразола, Activator 42® (раствор активатора, содержащий 5-(3,5-бис-(трифторметил)фенил)-1Н-тетразол в ацетонитриле), пиридиния дихлорацетат или пиридиния трифторацетат (или смеси реагентов сочетания), и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение приемлемого периода времени, например 0,1-2 ч. Реакцию сочетания гасят путем обработки пригодным реагентом сульфуризации, например 3-((N,N-диметиламинометилен)амино)-3Н-1,2,4-дигидро-1,2,4-дигидро-3-тион (DDTT), или фенилацетил дисульфид (PADS), или 3Н-1,2-бензодитиол-3-он 1,1-диоксид (реагент Бокажа), и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение приемлемого периода времени, например 0,1-2 ч. После выпаривания растворителя остаток растворяют в пригодном растворителе, например смеси дихлорметана и воды, и обрабатывают пригодным реагентом, например дихлоруксусной кислотой, и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение приемлемого периода времени, например 0,1-2 ч. Раствор, содержащий продукт (IV), получают путем добавления пригодного растворителя, например пиридина, и концентрации выпариванием.

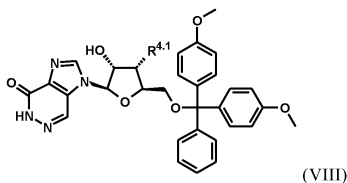
Соединение формулы (V) может быть получено реакцией соединения формулы (VII), в которой R^2 , $R^{3.1}$, $R^{3.2}$, $R^{1.1}$ и $R^{4.1}$ определены, как указано выше



Например, соединение формулы (VII) растворяют в пригодной смеси, например ацетонитриле, содержащем воду, и обрабатывают трифторацетатом пиридиния, и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение подходящего периода времени, например 1-30 мин. Затем добавляют трет-бутиламин, и смесь перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение подходящего периода времени, например 0,1-1 ч. Продукт выделяют выпариванием растворителя, затем растворяют в пригодном растворителе, например дихлорметане, содержащем воду, и обрабатывают дихлоруксусной кислотой и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение приемлемого периода времени, например 0,1-1 ч. Получают концентрированный раствор продукта (V) в ацетонитриле, например, путем добавления пиридина с последующей азеотропной перегонкой смеси с ацето-

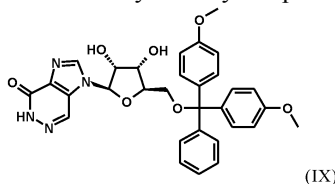
нитрилом.

Соединение формулы (VI) может быть получено путем реакции соединения формулы (VIII), в которой $R^{4,1}$ определен, как указано выше



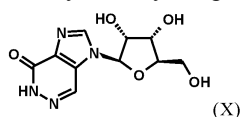
Например, после азеотропной перегонки с пригодным растворителем, например ацетонитрилом, соединение формулы (VIII) растворяют в пригодном растворителе, например дихлорметане, и подвергают реакции с фосфитирующим реагентом, например 2-цианозтил N,N,N',N' -тетраизопропилфосфородиамидит, в присутствии активатора, например 1H-тетразола, и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение подходящего периода времени, например 1-48 ч.

Соединение формулы (VIII) может быть получено путем реакции соединения формулы (IX)



Например, соединение формулы (IX) растворяют в пригодном растворителе, например пиридине, и подвергают реакции с пригодным силилирующим реагентом, например трет-бутилдиметилсилилхлоридом, в присутствии пригодного основания, например, имидазола, и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение подходящего периода времени, например 1-48 ч. Региоизомерные 2'- и 3'-силилированные продукты выделяют после водной обработки и могут быть разделены, например, при помощи хроматографии на силикагеле с пригодными системами растворителей.

Соединение формулы (IX) может быть получено путем реакции соединения формулы (X)



Например, соединение формулы (X) растворяют в пригодном растворителе, например пиридине, и подвергают реакции с 4,4'-диметокситритилхлоридом, и перемешивают при подходящей температуре, например 20°C, в течение подходящего периода времени, например 1-48 ч.

Соединения общей формулы I или их синтетические промежуточные соединения могут быть разделены на их диастереомеры, как указано ниже. Диастереомерные смеси соединений общей формулы I могут быть разделены на их диастереомеры, используя их различные физико-химические свойства с применением по сути известных способов, например хроматографии и/или фракционной кристаллизации.

Как указано выше, соединения формулы I могут быть превращены в соли, в частности для фармацевтического применения в фармацевтически приемлемые соли.

Соединения в соответствии с изобретением преимущественно можно также получать, используя способы, описанные в нижеследующих примерах, которые также могут быть объединены для этой цели со способами, известными специалисту в данной области техники из литературных источников.

Термины и определения.

Термины, конкретно не определенные в настоящей заявке, должны иметь значения, которые будут приданы им специалистом в данной области в свете раскрытия и контекста. Однако, как используют в описании, если не указано иное, нижеследующие термины имеют указанное значение, и соблюдаются следующие условные обозначения.

Термины "соединение(я) в соответствии с настоящим изобретением", "соединение(я) формулы (I)", "соединение(я) согласно изобретению" и тому подобное обозначают соединения формулы (I), предлагаемые в настоящем изобретении, включая их таутомеры, стереоизомеры и их смеси и их соли, в частности их фармацевтически приемлемые соли, и сольваты и гидраты таких соединений, включая сольваты и гидраты таких таутомеров, стереоизомеров и их соли.

Термины "лечение" и "лечить" охватывают как предупредительное, то есть профилактическое, так и терапевтическое, т.е. лечебное и/или паллиативное лечение. Таким образом, термины "лечение" и "лечить" включают терапевтическое лечение пациентов, у которых уже развилось указанное состояние, в частности, в явной форме. Терапевтическое лечение может быть симптоматическим лечением для облегчения симптомов конкретного показания или причинного лечения для того, чтобы полностью или частично изменить условия показания или для остановки или замедления прогрессирования заболевания.

Таким образом, композиции и способы в соответствии с настоящим изобретением можно использовать, например, в качестве терапевтического лечения в течение определенного периода времени, а также для длительной терапии. Кроме того, термины "лечение" и "лечить" включают профилактическое лечение, то есть лечение пациентов с риском развития состояния, упомянутого выше, снижая таким образом указанный риск.

Если настоящее изобретение относится к пациентам, нуждающимся в лечении, то в первую очередь оно относится к лечению млекопитающих, в частности людей.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество соединения в соответствии с настоящим изобретением, которое (I) лечит или предотвращает конкретное заболевание или состояние, (II) смягчает, ослабляет или устраняет один или несколько симптомов конкретного заболевания или состояния или (III) предотвращает или задерживает появление одного или нескольких симптомов конкретного заболевания или состояния, описанного в настоящей заявке.

Используемые в настоящей заявке термины "модулированный", или "модулирующий", или "модулировать (модулирует)", если не указано иное, относятся к активации пути STING одним или несколькими соединениями в соответствии с настоящим изобретением, в данном случае представляющими собой агонисты STING.

Термины "опосредованный", или "опосредование", или "опосредствовать", используемые в настоящей заявке, если не указано иное, относятся к (I) лечению, включая предупреждение конкретного заболевания или состояния, (II) ослабление, улучшение или устранение одного или большего количества симптомов конкретного заболевания или состояния или (III) предотвращение или задержку появления одного или большего количества симптомов конкретного заболевания или состояния, описанных в настоящей заявке.

В случае, когда соединение в соответствии с настоящим изобретением изображено в форме химического названия и в виде формулы, в случае любого расхождения преимущественную силу имеет формула.

Звездочка может быть использована в подформулах для обозначения связи, которая связана с основной молекулой, как определено.

Если не указано конкретно, то во всем описании и прилагаемой формуле изобретения данная химическая формула или название должны охватывать таутомеры и все стерео-, оптические и геометрические изомеры (например, энантиомеры, диастереомеры, E/Z изомеры и т.д.) и их рацематы, а также смеси в различных соотношениях отдельных энантиомеров, смесей диастереомеров или смесей любой из вышеуказанных форм, где существуют такие изомеры и энантиомеры, а также соли, включая их фармацевтически приемлемые соли и их сольваты, такие как, например, гидраты, включая сольваты свободных соединений или сольваты соли соединения.

Используемый в настоящей заявке термин "по существу, чистый" в отношении соединений общей формулы I относится к одному (Rp,Rp), (Rp,Sp), (Sp,Rp) или (Sp,Sp) диастереомеру, который является по меньшей мере на 75% чистым по отношению к другим возможным диастереомерам, принимая во внимание атомы фосфора. В предпочтительных вариантах осуществления, по существу, чистые соединения общей формулы I являются чистыми по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 97% и по меньшей мере на 99%.

Используемое в настоящей заявке выражение "фармацевтически приемлемый" относится к тем соединениям, веществам, композициям и/или лекарственным формам, которые с медицинской точки зрения пригодны к применению при контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергического ответа или другого нарушения или осложнения и соизмеримы с разумным соотношением польза/риск.

Используемый в настоящей заявке термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным раскрытых соединений, в которых исходное соединение модифицировано путем получения его солей с основаниями. Фармацевтически приемлемые соли в соответствии с настоящим изобретением могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит кислотный фрагмент, обычными химическими способами. Как правило, такие соли могут быть получены путем взаимодействия форм свободной кислоты этих соединений с достаточным количеством соответствующего основания в воде или в органическом разбавителе, таком как эфир, этилацетат, этанол, изопропанол или ацетонитрил, или их смеси. Альтернативно, соли могут быть получены ионным обменом, например, путем обработки водных растворов соединений в соответствии с изобретением (форма свободной кислоты или соли) с катионообменником.

Фармакологическая активность.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением проявляют благоприятную аффинность связывания со STING человека. Аффинность связывания может быть определена, например, с помощью анализа конкурентного связывания на основе скрининга сближения (SPA), как описано в Nat. Chem. Biol. 10, 1043-1048 (2014). Альтернативно, аффинность связывания может быть определена, например, с помощью изотермической титрационной калориметрии (ИТК), как описано в Molecular Cell 51, 226-235 (2013). Альтернативно, аффинность связывания может быть определена, например, с помо-

щью поверхностного плазмонного резонанса (SPR), как описано в WO 2016/145102. Альтернативно, аффинность связывания может быть определена с помощью дифференциальной сканирующей флуориметрии (DSF), например, как описано в WO 2016/145102.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением проявляют благоприятную клеточную активность. Индукцию цитокинов *in vitro* можно измерить в репортерных клеточных линиях, например в клетках THP1, аналогично тому, как описано в WO 2016/096174. Соединения в соответствии с настоящим изобретением проявляют благоприятную клеточную активность в клетках, несущих различные аллели STING человека. STING человека существует по меньшей мере в пяти известных вариантах (WT, HAQ, REF/232H, BODH, Q/293 Q). Чтобы проверить активность различных CDN на вариантах STING человека, клетки THP1-STING KO можно стабильно трансдуцировать векторами, кодирующими разные варианты STING. Кроме того, индукция цитокинов *in vitro* может быть измерена в первичных PBMCs человека или дендритных клетках человека.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением проявляют благоприятную стабильность в клеточных анализах *in vitro*, например, с клетками THP1, клетками Calu-3 или гепатоцитами человека. Кроме того, соединения в соответствии с настоящим изобретением проявляют благоприятную химическую стабильность в растворе и в твердом состоянии.

Кроме того, соединения в соответствии с настоящим изобретением обладают благоприятными фармакокинетическими свойствами (ФК). ФК свойства могут быть определены у видов доклинических животных, например у мышей, крыс, хомяков, собак, морских свинок, карликовых свиней, яванских макаков, макаков резус. ФК свойства соединения могут быть описаны, например, следующими параметрами: среднее время удержания (MRT), период полувыведения ($t_{1/2}$, т.е. время, необходимое для того, чтобы концентрация лекарственного средства достигла половины его исходного значения), объем распределения (V_D , т.е. кажущийся объем, в котором распределено лекарственное средство), площадь под кривой (AUC, т.е. интеграл кривой концентрация-время после однократного приема), клиренс (CL, т.е. объем плазмы, очищенной от лекарственного средства за единицу времени), как описано в E. Kerns & L. Di (Drug-like properties: concepts, structure design и methods: from ADME to toxicity optimization, Elsevier, 1-е изд., 2008).

Некоторые соединения в соответствии с настоящим изобретением проявляют благоприятную фармакологическую активность *in vivo*, например, в опухолевых моделях мышей MC38, 4T1, Colon26, EMT6 после внутриопухолевого или внутривенного применения.

Благоприятная аффинность связывания в сочетании с благоприятной клеточной активностью и/или благоприятной клеточной стабильностью и/или улучшенными ФК свойствами может обеспечить более низкие дозы для фармакологической эффективности. Более низкие дозы обладают преимуществами более низкой "лекарственной нагрузки" или "лекарственного отягощения" (исходным лекарственным средством и его метаболитами) для пациента, вызывая потенциально меньшие побочные эффекты, и более низкие производственные затраты на лекарственный продукт.

Связывание соединений в соответствии с изобретением со STING человека может быть продемонстрировано с использованием следующего анализа:

Дифференциальная сканирующая флуориметрия (DSF).

Материалы:

Hard-Shell®PCR тонкостенные 384-луночные планшеты (Catalog# HSP3805R, BIO-RAD).

Microseal® 'B' клейкая герметизирующая пленка для планшетов ПЦР (Catalog# MSB-1001, BIO-RAD).

SYPRO оранжевый раствор в ДМСО (SIGMA кат. № S5692-500UL), концентрация "5000x".

Измерительные приборы: считывающее устройство CFX384 Real-Time System (Bio-Rad).

Робот для пипетирования: HamiltonStarlet.

Буфер для анализа: 20 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7,5.

Целевой белок: Human STING (hSTING, остатки 155-341, последовательность дикого типа с N-концевой His8-меткой и TEV-сайтом расщепления, MM: 23601,5 Да).

Белковый исходный раствор: c=309 мкМ исходный раствор в буфере для анализа.

Конечные аналитические концентрации исследуемых соединений: 100 мкМ, 3 мкМ целевого белка, "5x" SYPR Orange.

Процедура анализа:

- 1) Исходные растворы соединений и их разведения готовили в буфере для анализа.
- 2) 5 мкл исходного раствора флуоресцентного красителя (5000x SYPRO Orange) смешивали с 50 мкл целевого белка (309 мкМ) и 945 мкл буфера.
- 3) 2 мкл этой смеси белка и красителя (25x SYPRO Orange и 15 мкМ белка) добавляли к 8 мкл раствора соединения. Конечный объем составлял 10 мкл.
- 4) Некоторые позиции лунок использовали в качестве отрицательного контроля.
- 5) Планшеты готовили для двойного измерения и центрифугировали в течение 2 мин при 1000 g.
- 6) При измерении было использовано 160 циклов при 0,5°C (диапазон температур 15 c/цикл, от 15 до 95°C).

Анализ данных: кривые диссоциации обрабатывали в Bio-Rad CFX Manager. Тип пика был установлен на "отрицательный". В случае примера 1.1, примера 2.1 и примера 4.1 по меньшей мере два измерения T_m были усреднены.

Определенные изменения в T_m представлены в табл. 1.

Таблица 1

Сдвиг hSTING T_m	
Пример	сдвиг hSTING T_m [°C]
1.1	16.1
1.2	12.0
2.1	23.6
2.2	15.0
3.1	17.0
3.2	9.0
4.1	13.9
4.2	9.0
ML-RR-CDA·2Na ⁺ (соединение 21 в WO 2014/189805)	12.0

Клеточная активность соединений в соответствии с изобретением может быть продемонстрирована с использованием следующего анализа THP1 *in vitro*.

Индукция цитокинов *in vitro*.

Индуктирующая цитокины активность соединений в соответствии с настоящим изобретением была продемонстрирована с использованием репортерной клеточной линии THP1.

Активация белка STING, экспрессируемого в клеточных линиях, приводит к увеличению продукции интерферона. Благодаря стабильной интеграции репортерной конструкции SEAP (секретируемой эмбриональной щелочной фосфатазы), индуцируемой регуляторным фактором интерферона (IRF), можно отслеживать функциональный путь передачи сигналов интерферона. С помощью колориметрического ферментного анализа Invivogen QUANTI-Blue™ и пригодного считывающего устройства оптической плотности (ОП) можно обнаружить и количественно определить активность SEAP. Этот метод может быть использован для характеристики фармакологической модификации белка STING.

Измерения активности SEAP проводили в клетках THP1-Blue ISG, стабильно экспрессирующих белок STING человека и IRF-индуцируемую репортерную конструкцию SEAP. Клетки культивировали для размножения в среде RPMI1640 с 10%-ной фетальной телячьей сывороткой, 50 мкг/мл пенициллин-стрептомицина, 100 мкг/мл зеоцина, и 100 мкг/мл нормоцина в инкубаторе при 37°C, 95% влажности и 5% CO₂. Готовые к анализу клетки хранили в виде замороженных исходных растворов.

При подготовке к анализу клетки оттаивали в среде, не содержащей зеоцин/нормоцин, и распределяли в планшеты для анализа с плотностью 15000 клеток/15 мкл на лунку. Соединения получали путем серийного 8- или 16-точечного разведения в 50%-ном водном ДМСО и стадии конечного разведения в среде для обеспечения в анализе конечной концентрации ДМСО 0,5%. 5 мкл разбавленных соединений плюс 5 мкл среды добавляли в планшеты с последующей 24-часовой инкубацией при 37°C.

В день анализа 75 мкл на лунку реагента Quanti-Blue добавляли во все лунки планшета, и планшеты инкубировали в течение еще 30 мин при 37°C. ОП измеряли при 620 нм на считывающем устройстве EnVision (PerkinElmer).

Значения EC₅₀ и коэффициенты Хилла были получены из 8- или 16-точечных нелинейных подгонок кривой по четырем параметрам с использованием программного обеспечения Megalab (Boehringer Ingelheim), с применением ОП при 620 нм. Значения EC₅₀ для примера 1.1, примера 2.1, примера 3.1 и примера 4.1 являются средними по меньшей мере для двух измерений (см. табл. 2)

Таблица 2

Значения EC ₅₀	
Пример	EC ₅₀ [мкМ]
1.1	0.21
1.2	5.8
2.1	0.05
2.2	0.79
3.1	0.17
3.2	8.5
4.1	0.19
4.2	6.2
ML-RR-CDA·2Na ⁺ (Соединение 21 в WO 2014/189805)	0.65

В приведенном выше анализе THP1 пример 1.1 является более действующим, чем соответствующий диастереомерный пример 1.2. Рентгенограмма примера 1.1 в комплексе со STING человека показывает, что оба атома фосфора имеют конфигурацию R_p. Аналогичным образом предполагают, что более действенные соответствующие диастереомеры примера 2.1, примера 3.1, примера 4.1 также имеют конфигурацию R_p у обоих атомов фосфора.

В гене STING человека было идентифицировано несколько однонуклеотидных полиморфизмов, которые могут влиять на ответную реакцию на циклические динуклеотиды. Для определения активности

соединений в соответствии с изобретением были получены линии репортерных клеток THP1-BLUE ISG, экспрессирующие различные варианты STING человека. Для этого сначала удаляли эндогенный STING человека с использованием системы CRISPR/CAS9: клетки THP1-Blue ISG подвергали электропорации с помощью плазмид ALL-IN-ONE CRISPR, нацеленных на ген STING (приобретенных у Sigma, кодирующих gRNA и GFP в качестве репортерного гена для успешной трансдукции). GFP-положительные клетки затем сортировали через 24 ч после трансфекции и размножали. После этого клетки диспергировали в полутвердой среде метоцела, чтобы сделать возможным выделение клонов из одной клетки. Затем клоны подвергали скринингу на чувствительность к cGAMP с использованием анализа репортерного гена Quanti-blue. Нечувствительные клоны впоследствии были проанализированы на предмет потери STING с помощью вестерн-блоттинга и секвенирования локуса STING.

Для сверхэкспрессии вариантов STING человека подтвержденный клон THP1-Blue ISG hSTING KO трансдуцировали индивидуальными ретровирусными плазмидами (MSCV-ires-GFP-Blasti), кодирующими аллельные варианты hSTING (WT, HAQ, R232H, ВОДН и R293Q). Трансдуцированные клетки сортировали по различным уровням флуоресценции GFP, а экспрессию аллеля STING анализировали вестерн-блоттингом. Были отобраны и использованы для характеристики популяции CDN, экспрессирующих эктопический белок STING (WT, HAQ, R232H, AQ и R293Q) в сопоставимых уровнях с уровнями эндогенного STING из родительских немодифицированных клеточных линий THP1-Blue ISG. Примеры в соответствии с настоящим изобретением проявляют клеточную активность во всех пяти из приведенных выше вариантов.

Клеточную стабильность соединений в соответствии с изобретением измеряли следующим образом: соединение растворяли в среде для культивирования клеток (MEM с добавлением 10% FCS, 1% заменимых аминокислот и 1% пирувата) до конечной концентрации 10 мкМ и инкубировали с линией эпителиальных клеток легких человека Calu-3 (60000 клеток/луночку в 24-луночной планшете) в течение до 24 ч. Образцы супернатантов клеточных культур отбирали через 1, 6, 24 ч и количественно определяли ЖХ-МС/МС.

У мышей ЖК соединений в соответствии с изобретением определяли, используя следующий метод: ЖК у мышей.

Эксперимент на животных.

Соединение растворяли в растворе физиологического NaCl и вводили внутривенно самцу мыши C57BL/6NRJ в дозе 10 мкмоль/кг. Образец крови 20 объемом 20 мкл собирали через 0,25, 0,5, 0,75, 1 и 2 ч, принимая EDTA в качестве антикоагулянта. Плазму крови генерировали центрифугированием и хранили при -20°C. Концентрацию соединения определяли методом ЖХ-МС/МС. Определенные зависимости концентрации от времени (среднее значение для дублирующих экспериментов) приведены в табл. 3.

Таблица 3

Пример	T = 0.25 ч	T = 0.5 ч	T = 0.75 ч	T = 1 ч	T = 2 ч
1.1	3080 нМ	1200 нМ	550 нМ	249 нМ	120 нМ
2.1	1970 нМ	699 нМ	401 нМ	241 нМ	78 нМ
3.1	2710 нМ	1280 нМ	595 нМ	260 нМ	111 нМ

Соответственно настоящее изобретение относится к соединению общей формулы I в качестве лекарственного средства.

Кроме того, настоящее изобретение относится к применению соединения общей формулы I или к фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением для лечения и/или предупреждения заболеваний или состояний, на которые можно оказывать влияние модуляцией STING у пациента или заболеваний, или состояний, связанных с или модулированных посредством STING у пациента. Предпочтительно пациент является человеком.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или состояния, связанного с или модулированного посредством STING, у млекопитающего, нуждающегося в таком лечении, который включает стадию введения млекопитающему, предпочтительно человеку, терапевтически эффективного количества соединения или фармацевтической композиции в соответствии с настоящим изобретением.

Заболевания и состояния, которые связаны с или модулируются посредством или на которые можно оказывать влияние путем модуляции STING, включают воспаление, аллергические или аутоиммунные заболевания, например аллергический ринит или астму, инфекционные заболевания или рак. Кроме того, благодаря своей активности соединения в соответствии с настоящим изобретением пригодны в качестве адъювантов для вакцин.

Аутоиммунные заболевания включают, но не ограничиваются этим, системную красную волчанку, псориаз, инсулинозависимый сахарный диабет (IDDM), дерматомиозит и синдром Шегрена (SS).

Воспаление представляет собой группу сосудистых, клеточных и неврологических ответных реакций на повреждение. Воспаление можно охарактеризовать как движение воспалительных клеток, таких как моноциты, нейтрофилы и гранулоциты, в ткани. Обычно оно связано со снижением барьерной функции эндотелия и отека в тканях. Воспаление можно классифицировать как острое или хроническое. Ост-

рое воспаление является первоначальной реакцией организма на вредные раздражители и достигается за счет увеличения движения плазмы и лейкоцитов из крови в поврежденные ткани. Каскад биохимических событий распространяет и вызывает воспалительную ответную реакцию, вовлекая местную сосудистую систему, иммунную систему и различные клетки в пределах поврежденной ткани. Длительное воспаление, известное как хроническое воспаление, приводит к прогрессивному сдвигу в типе клеток, которые присутствуют в месте воспаления, и характеризуется одновременным разрушением и заживлением ткани от воспалительного процесса.

Когда это происходит как часть иммунного ответа на инфекцию или как острый ответ на повреждение, то воспаление может быть целебным и обычно самоограничивающимся. Тем не менее, воспаление может быть вредным при различных условиях. Это включает в себя возникновение чрезмерного воспаления в ответ на инфекционные агенты, которые могут привести к значительному повреждению органов и смерти (например, при сепсисе). Кроме того, хроническое воспаление, как правило, вредно и является причиной многих хронических заболеваний, вызывающих серьезные и необратимые повреждения тканей. В таких условиях иммунный ответ часто направлен против собственных тканей (аутоиммунитет), хотя хронические ответы на инородные тела также могут привести к неспецифическому повреждению собственных тканей. Следовательно, цель противовоспалительной терапии состоит в том, чтобы уменьшить это воспаление, подавить аутоиммунитет, когда он присутствует, и дать возможность прогрессировать физиологическому процессу или заживлению и восстановлению ткани.

Соединения в соответствии с изобретением могут быть использованы для лечения воспаления любой ткани и органов тела, в том числе воспаления опорно-двигательного аппарата, сосудистого воспаления, воспаления нервов, воспаления системы органов пищеварения, глазного воспаления, воспаления репродуктивной системы, а также других воспалений, примеры которых приведены ниже.

Воспаление опорно-двигательного аппарата относится к любому воспалительному состоянию опорно-двигательной системы, в частности, тех состояний, которые поражают скелетные суставы, в том числе суставы кисти руки, запястья, локтя, плеча, челюсти, позвоночника, шеи, бедра, колена, лодыжки и стопы, и состояний, которые поражают ткани, соединяющие мышцы и кости, такие как сухожилия. Примеры мышечно-скелетного воспаления, которое можно лечить соединениями в соответствии с изобретением включают артрит (включая, например, остеоартрит, ревматоидный артрит, псориатический артрит, анкилозирующий спондилит, острый и хронический инфекционный артрит, артрит, связанный с подагрой и псевдоподагрой, и юношеский идиопатический артрит), тендинит, синовит, теносиновит, бурсит, фиброзит (фибромиалгия), эпикондилит, миозит и остеит (включая, например, болезнь Педжета, остит лобковой кости и фиброзную остеодистрофию). Глазное воспаление относится к воспалению любой структуры глаза, включая веки. Примеры воспаления глаз, которые можно лечить с помощью соединений в соответствии с изобретением включают блефарит, блефарохалазис, конъюнктивит, дакриoadенит, кератит, сухой кератоконъюнктивит (синдром сухого глаза), склерит, трихиаз и увеит. Примеры воспаления нервной системы, которое можно лечить соединениями в соответствии с изобретением, включают энцефалит, синдром Гийена-Барре, менингит, нейромиотонию, нарколепсию, рассеянный склероз, миелит и шизофрению.

Примеры воспаления сосудистой или лимфатической системы, которые можно лечить соединениями в соответствии с изобретением, включают атеросклероз, артрит, флебит, васкулит и лимфангит.

Примеры воспалительных состояний пищеварительной системы, которые можно лечить с помощью соединений в соответствии с изобретением, включают холангит, холецистит, энтерит, энтероколит, гастрит, гастроэнтерит, воспалительное заболевание кишечника (такое как болезнь Крона и язвенный колит), илеит и проктит.

Примеры воспалительных состояний репродуктивной системы, которые можно лечить с помощью соединений в соответствии с изобретением, включают цервицит, хориоамнионит, эндометрит, эпидидимит, омфалит, оофорит, орхит, сальпингит, трубно-яичниковый абсцесс, уретрит, вагинит, вульвит и вульводинию.

Средства могут быть использованы для лечения аутоиммунных состояний, имеющих воспалительный компонент. Такие состояния включают в себя острую диссеминированную общую алопецию, болезнь Бехчета, болезнь Шагаса, синдром хронической усталости, вегетососудистую дистонию, энцефаломиелит, анкилозирующий спондилит, апластическую анемию, гнойный гидраденит, аутоиммунный гепатит, аутоиммунный оофорит, целиакию, болезнь Крона, сахарный диабет 1 типа, гигантоклеточный артериит, синдром Гудпасчера, болезнь Грейвса, синдром Гийена-Барре, тиреоидит Хашимото, пурпuru Шенлейна-Геноха, болезнь Кавасаки, красную волчанку, микроскопический колит, микроскопический полиартериит, смешанное заболевание соединительной ткани, рассеянный склероз, тяжелую миастению, синдром пляшущих глаз, неврит зрительного нерва, тиреоидит Орда, обыкновенную пузырчатку, узелковый полиартериит, полимиалгию, ревматоидный артрит, синдром Рейтера, синдром Шегрена, височный артериит, гранулематоз Вегенера, аутоиммунную гемолитическую анемию, интерстициальный цистит, болезнь Лайма, очаговую склеродермию, псориаз, склеродермию, неспецифический язвенный колит и витилиго.

Средства могут быть использованы для лечения опосредованных Т-клетками заболеваний гипер-

чувствительности, имеющих воспалительный компонент. Такие состояния включают контактную гиперчувствительность, контактный дерматит (в том числе вызванный ядовитым плющом), крапивницу, кожную аллергию, респираторные аллергии (сенная лихорадка, аллергический ринит) и чувствительную к глютену энтеропатию (целиакию).

Другие воспалительные состояния, которые можно лечить с помощью средств, включают, например, аппендицит, дерматит, дерматомиозит, эндокардит, фиброзит, гингивит, глоссит, гепатит, гнойный гидраденит, ирит, ларингит, мастит, миокардит, нефрит, отит, панкреатит, паротит, перикардит, перитонит, фарингит, плеврит, пневмонит, воспаление предстательной железы, пиелонефрит и стоматит, отторжение трансплантата (с участием таких органов, как почка, печень, сердце, легкое, поджелудочная железа (например, островковые клетки), костный мозг, роговица, тонкая кишка, кожные аллотрансплантаты, кожные гомотрансплантаты и ксенотрансплантаты сердечного клапана, сывороточная реакция и реакция "трансплантат против хозяина"), острый панкреатит, хронический панкреатит, острый респираторный дистресс-синдром, синдром Сезари, врожденную гиперплазию надпочечников, подострый тиреоидит, гиперкальциемию, связанную с раком, обыкновенную пузырчатку, буллезный герпетический дерматит, многоформную эритему, эксфолиативный дерматит, себорейный дерматит, сезонный или круглогодичный аллергический ринит, бронхиальную астму, контактный дерматит, атопический дерматит, реакции сверхчувствительности к лекарствам, аллергический конъюнктивит, кератит, опоясывающий герпес с поражением глаз, воспаление радужной оболочки глаза и иридоциклит, хориоретинит, неврит зрительного нерва, симптоматический саркоидоз, скоротечную или диссеминированную химиотерапию туберкулеза легких, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпура у взрослых, вторичную тромбоцитопению у взрослых, приобретенную (аутоиммунную) гемолитическую анемию, лейкозы и лимфомы у взрослых, острый лейкоз детского возраста, региональный энтерит, аутоиммунный васкулит, рассеянный склероз, хроническую обструктивную болезнь легких, отторжение трансплантата солидных органов, сепсис. Предпочтительные способы лечения включают лечение отторжения трансплантата, ревматоидного артрита, псориатического артрита, рассеянного склероза, диабета I типа, астмы, воспалительного заболевания кишечника, системной красной волчанки, псориаза, хронического заболевания легких и воспаления, сопровождающегося инфекционными состояниями (например, сепсиса).

В одном аспекте заболевание или состояние, подлежащее лечению с использованием соединений в соответствии с изобретением, представляет собой рак. Примеры раковых заболеваний и состояний, при которых соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли или сольваты могут иметь потенциально благоприятные противоопухолевые эффекты, включают, но не ограничиваются ними, рак легкого, костей, поджелудочной железы, кожи, головы, шеи, матки, яичников, желудка, толстой кишки, груди, пищевода, тонкой кишки, кишечника, эндокринной системы, щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечника, мочепускающего канала, предстательной железы, полового члена, яичек, мочеочника, мочевого пузыря, почки или печени; рак прямой кишки; рак анальной области; карциномы маточных труб, эндометрия, шейки матки, влагалища, вульвы, почечной лоханки, почечно-клеточный рак; саркому мягких тканей; миксомы; рабдомиому; фиброму; липому; тератомы; холангиокарциному; гепатобластому; ангиосаркому; гемангиому; гепатоаденому; фибросаркому; хондросаркому; миелому; хронический или острый лейкоз; лимфоцитарные лимфомы; первичную лимфому ЦНС; новообразования ЦН; опухоли спинного мозга; плоскоклеточную карциному; синовиальную саркому; злокачественные плевральные мезотелиомы; глиому ствола головного мозга; аденому гипофиза; бронхиальную аденому; хондроматозную ханлартому; эндотелиому; болезнь Ходжкина или комбинацию одного или нескольких из вышеуказанных видов рака.

Предпочтительными видами рака, которые можно лечить соединениями в соответствии с изобретением, являются рак кожи, легких, печени, толстой кишки, головного мозга, молочной железы, яичников, предстательной железы, поджелудочной железы, почек, желудка, головы, шеи и рак уретерия, а также лимфома и лейкомия.

Новые соединения могут быть использованы для профилактики, кратковременного или долгосрочного лечения вышеупомянутых заболеваний, по выбору также в сочетании с хирургическим вмешательством, лучевой терапией или другими "передовыми" соединениями, такими как, например, цитостатические или цитотоксические вещества, ингибиторами пролиферации клеток, антиангиогенными веществами, стероидами или антителами.

При их роли в качестве адъювантов в некоторых вариантах осуществления данные соединения и композиции могут быть применены в качестве адъювантов в терапевтической или профилактической стратегии с использованием вакцины (вакцин). Таким образом, по существу, чистые CDN в соответствии с настоящим изобретением или пролекарства или их фармацевтически приемлемые соли могут быть применены вместе с одной или несколькими вакцинами, выбранными для стимуляции иммунного ответа на один или несколько заранее определенных антигенов. По существу, чистые CDN в соответствии с настоящим изобретением или их пролекарства или их фармацевтически приемлемые соли могут быть предоставлены вместе или в дополнение к таким вакцинам.

Такая вакцина (вакцины) может содержать инактивированные или аттенуированные бактерии или вирусы, содержащие представляющие интерес антигены, очищенные антигены, живые векторы вирусной

или бактериальной доставки, рекомбинантно спроектированные для экспрессии и/или секретирования антигенов, векторы антигенпредставляющих клеток (АПК), содержащие клетки, которые нагружены антигенами или трансфицированные композицией, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую антигены, носители для доставки липосомального антигена или открытые векторы нуклеиновой кислоты, кодирующие антигены. Этот список не является ограничивающим. Например, такая вакцина(ы) может также включать инактивированную опухолевую клетку, которая экспрессирует и секретирует один или несколько GM-CSF, CCL20, CCL3, IL-12p70, лиганд FLT-3, цитокины.

В связанном аспекте настоящее изобретение относится к способам индукции, стимуляции или адъювирования иммунного ответа у индивидуума. Эти способы включают введение, по существу, чистых CDN в соответствии с настоящим изобретением или их пролекарств или фармацевтически приемлемых солей индивидууму.

Диапазон доз соединений общей формулы I, вводимых в сутки, обычно составляет от 0,0001 до 10 мг, например от 0,001 до 1 мг. Каждая стандартная дозировка может содержать от 0,0001 до 10 мг, например от 0,001 до 1 мг.

Разумеется, фактические фармацевтически эффективные количества или терапевтические дозы будут зависеть от факторов, известных специалистам в данной области техники, таких как возраст и масса тела пациента, путь введения и тяжесть заболевания. В любом случае соединение или композицию следует вводить в дозах и путем, который позволяет доставить терапевтически эффективное количество в соответствии с конкретным состоянием пациента.

В соответствии с изобретением соединения, композиции, включая любые комбинации с одним или несколькими дополнительными терапевтическими средствами, могут быть введены через слизистую оболочку (например, перорально, подъязычно, вагинально, назально, цервикально и т.д.), внутриопухолевым, периопухолевым, трансдермальным, ингаляционным или парентеральным (например, подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутриартериальные, внутрикожные, внутриоболочечные и эпидуральные введения) путем. В большинстве случаев можно использовать один из внутривенных, внутриопухолевых, периопухолевых или подкожных путей введения.

Фармацевтические композиции.

Для целей настоящего описания фармацевтические композиции могут быть введены различными способами, включая непарентеральное, парентеральное, посредством ингаляционного спрея, местное или ректальное введение в составах, содержащих фармацевтически приемлемые носители, адъюванты и лекарственные основы. Внутриопухолевое (непосредственно в опухолевую массу) или периопухолевое (вокруг опухолевой массы) введение соединений в соответствии с настоящим изобретением может непосредственно активировать локально инфильтративную ДК, непосредственно стимулировать апоптоз опухолевых клеток или повышать чувствительность опухолевых клеток к цитотоксическим агентам.

Фармацевтические композиции настоящего описания могут быть представлены в форме стерильного инъекционного препарата, такого как стерильная водная или масляная суспензия для инъекций. Эта суспензия может быть приготовлена в соответствии с известным уровнем техники с использованием тех пригодных диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов, которые были упомянуты выше. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, таком как раствор в 1,3-бутан-диоле или приготовленный в виде лиофилизированного порошка. Среди приемлемых лекарственных основ и растворителей, которые могут быть использованы, находятся вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителей или суспендирующей среды могут быть использованы стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. К тому же в препаратах для инъекций равным образом можно применять жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

Составы, пригодные для местного применения в полости рта, включают таблетки для рассасывания, содержащие активное вещество в ароматизированной основе, обычно сахарозе и акации или трагаканте; пастилки, содержащие активное вещество в инертной основе, такой как желатин и глицерин, или сахароза и акация; и жидкости для полоскания рта, содержащие активное вещество в пригодном жидком носителе.

Составы, пригодные для вагинального введения, могут быть представлены в виде маточных колец, тампонов, кремов, гелей, паст, пен или составов для распыления, содержащих в дополнение к активному веществу такие носители, которые известны в данной области техники как приемлемые.

Составы, предназначенные для парентерального введения, включают водные и неводные изотонические стерильные инъекционные растворы, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостаты и растворенные вещества, которые делают композицию изотонической с кровью предполагаемого реципиента; и водные и неводные стерильные суспензии, которые могут включать суспендирующие агенты и загустители. Составы могут быть представлены в герметичных контейнерах с единичными или многократными дозами, например в ампулах и флаконах, и могут храниться в условиях сублимационной сушки (лиофилизированных), требующих только добавления стерильного жидкого носителя, на-

пример воды для инъекции, непосредственно перед использованием. Инъекционные растворы и суспензии могут быть приготовлены из стерильных порошков, гранул и таблеток ранее описанного типа.

Комбинированная терапия.

Соединения в соответствии с изобретением могут быть использованы сами по себе или же их можно комбинировать с фармацевтически приемлемыми наполнителями в количестве, достаточном для того, чтобы вызывать, модифицировать или стимулировать соответствующий иммунный ответ. Иммунный ответ может включать, без ограничения, специфический иммунный ответ, неспецифический иммунный ответ, как специфический, так и неспецифический ответ, врожденный ответ, первичный иммунный ответ, адаптивный иммунитет, вторичный иммунный ответ, иммунный ответ памяти, активацию иммунных клеток, пролиферацию иммунных клеток, дифференцировку иммунных клеток и экспрессию цитокинов. В некоторых вариантах осуществления соединения и их композиции, описанные в настоящей заявке, вводят в сочетании с одной или несколькими дополнительными композициями, включая вакцины, предназначенные для стимуляции иммунного ответа один или несколько заранее определенных антигенов; адъюванты; антагонисты пути CTLA-4 и PD-1, липиды, липосомы, химиотерапевтические агенты, иммуномодулирующие клеточные линии и т.д.

Описанные в настоящей заявке соединения и композиции могут быть введены до, после и/или одновременно с дополнительной терапевтической или профилактической композицией или средством. К ним относят, без ограничения, костимулирующую молекулу B7, интерлейкин-2, интерферон- γ , GM-CSF, антагонисты CTLA-4, лиганд OX-40/OX-40, лиганд CD40/CD40, сарграмостим, левамизол, вирус коровьей оспы, бацилла Кальмета-Герена (BCG), липосомы, квасцы, полный или неполный адъювант Фрейнда, детоксифицированные эндотоксины, минеральные масла, поверхностно-активные вещества, такие как липолецитин, плуроновые полиолы, полианионы, пептиды и масляные или углеводородные эмульсии. Предпочтительными являются носители для индукции Т-клеточного иммунного ответа, которые преимущественно стимулируют цитолитический Т-клеточный ответ по сравнению с гуморальным иммунным ответом, хотя можно также использовать носители, которые стимулируют оба типа ответа. В тех случаях, когда агент представляет собой полипептид, может быть введен сам полипептид или полинуклеотид, кодирующий полипептид. Носителем может быть клетка, такая как антигенпредставляющая клетка (APC) или дендритная клетка. Антигенпредставляющие клетки включают такие типы клеток, как макрофаги, дендритные клетки и В-клетки. Другие профессиональные антигенпредставляющие клетки включают моноциты, клетки Купфера маргинальной зоны, микроглию, клетки Лангерганса, переплетающиеся дендритные клетки, фолликулярные дендритные клетки и Т-клетки. Также могут быть использованы факультативные антигенпредставляющие клетки. Примеры факультативных антигенпредставляющих клеток включают астроциты, фолликулярные клетки, эндотелий и фибробласты. Носителем может быть бактериальная клетка, которая трансформируется для экспрессии полипептида или для доставки полинуклеотида, который впоследствии экспрессируется в клетках вакцинированной особи. Адъюванты, такие как гидроксид алюминия или фосфат алюминия, могут быть добавлены для увеличения способности вакцины запускать, усиливать или продлевать иммунный ответ. Дополнительные материалы, такие как цитокины, хемокины, и последовательности бактериальных нуклеиновых кислот, такие как CpG, агонист толл-подобных рецепторов (TLR) 9, а также дополнительные агонисты для TLR 2, TLR 4, TLR 5, TLR 7, TLR 8, TLR9, включая липопrotein, LPS, монофосфорилипид А, липотейхоевую кислоту, имиквимод, резиквимод, и кроме того, агонисты индуцируемого ретиноевой кислотой гена I (RIG-I), такие как поли I:C, используемые отдельно или в сочетании с описанными композициями, также являются потенциальными адъювантами. Другие типичные примеры адъювантов включают синтетический адъювант QS-21, содержащий гомогенный сапонин, очищенный из коры *Quillaja saponaria* и *Corynebacterium parvum* (McCune et al., Cancer, 1979; 43:1619).

Способы совместного введения с дополнительным терапевтическим средством хорошо известны в данной области (Hardman, et al. (изд.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10-е изд., McGraw-Hill, New York, NY; Poole and Peterson (изд.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA; Chabner и Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA). Как правило, совместное введение или введение вместе означает лечение субъекта двумя или большим количеством средств, где средства можно вводить одновременно или в разное время. Например, такие средства могут быть доставлены одному субъекту в виде отдельных введений, которые могут происходить, по существу, в одно и то же время или в разное время и которые можно осуществлять одним и тем же путем или различными путями введения. Такие средства могут быть доставлены одному субъекту в виде одного и того же введения (например, в одной и той же композиции), так что их вводят в одно и то же время одним и тем же путем введения.

Благодаря адъювантным свойствам соединений в соответствии с настоящим изобретением их применение также может сочетаться с другими терапевтическими методами, включая другие вакцины, адъюванты, антигены, антитела и иммуномодуляторы. Примеры приведены ниже.

Адъюванты.

Вдобавок к соединениям в соответствии с настоящим изобретением и их композициям, описанным

в настоящей заявке, композиции или способы в соответствии с настоящим изобретением дополнительно могут содержать одно или несколько дополнительных веществ, которые, в силу их природы, могут стимулировать или иным образом использовать иммунную систему для ответа на антигены рака, присутствующие в опухолевых клетках-мишенях. Такие адъюванты включают, но не ограничиваются ними, липиды, липосомы, инактивированные бактерии, которые вызывают врожденный иммунитет (например, инактивированные или аттенуированные *Listeria monocytogenes*), композиции, которые опосредуют врожденную иммунную активацию через толл-подобные рецепторы (TLRs), (NOD)-подобные рецепторы (NLRs), индуцируемые ретиноевой кислотой геновые (RIG-I)-подобные рецепторы (RLRs), рецепторы лектинов С-типа (CLRs) и/или ассоциированные с патогеном молекулярные структуры ("PAMPS"). Примеры PAMP включают липопроотеины, липополипептиды, пептидогликаны, зимозан, липополисахариды, нейссерияльные порины, флагеллин, профиллин, галактоцерамиды, мурамилдипептид. Пептидогликаны, липопроотеины и липотейхоевые кислоты являются компонентами клеточной стенки грамположительных бактерий. Липополисахариды экспрессируются большинством бактерий, и одним из примеров является MPL. Флагеллин относится к структурному компоненту бактериальных жгутиков, который секретируется патогенными и комменсальными бактериями. Галактозилцерамид является активатором естественных киллерных Т-клеток (NKT). Мурамилдипептид является биоактивным пептидогликановым мотивом, общим для всех бактерий.

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с ингибитором контрольных точек иммунного ответа, таким как ингибитор контрольных точек иммунного ответа, который выбирают из группы, включающей антагонист пути CTLA-4, антагонист пути PD-1, антагонист пути Tim-3, антагонист пути Vista, антагонист пути BTLA, антагонист пути LAG-3 или антагонист пути TIGIT. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек иммунного ответа выбран из группы, включающей анти-CTLA-4 антитело, анти-PD-1 антитело, анти-Tim-3 антитело, анти-Vista антитело, анти-BTLA антитело, анти-LAG-3 антитело или анти-TIGIT антитело.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с антагонистами пути CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения солидной опухоли или гематологического злокачественного новообразования. Считается, что CTLA-4 является важным негативным регулятором адаптивного иммунного ответа. Активированные Т-клетки активируют CTLA-4, который связывает CD80 и CD86 на антигенпредставляющих клетках с более высокой аффинностью, чем CD28, ингибируя таким образом стимуляцию Т-клеток, экспрессию гена IL-2 и пролиферацию Т-клеток. Противоопухолевые эффекты блокады CTLA4 наблюдали в мышиных моделях рака толстой кишки, метастатического рака предстательной железы и метастатической меланомы. В некоторых вариантах осуществления антагонист пути CTLA-4 представляет собой молекулу анти-CTLA-4 антитела, которое выбирают из группы, включающей тремелимуаб и ипилимуаб.

Ипилимуаб (антитело CTLA-4, также известное как MDX-010, CAS № 477202-00-9) и тремелимуаб (моноклональное антитело IgG2, ранее известное как тицилимуаб, CP-675,206) являются гуманизированными моноклональными антителами, которые связываются с человеческим CTLA4 и предотвращают его взаимодействие с CD80 и CD86. Другие негативные иммунорегуляторы, на которые может воздействовать подобная стратегия, включают запрограммированную гибель клеток 1 (PD-1), аттенуатор В- и Т-лимфоцитов, трансформирующий фактор роста бета, интерлейкин-10 и фактор роста эндотелия сосудов.

В некоторых вариантах осуществления соединения в соответствии с настоящим изобретением можно использовать в комбинации с анти-CTLA-4 антителом и анти-PD-1 антителом. В одном варианте осуществления комбинация включает молекулу анти-PD-1 антитела, например, как описано в настоящей заявке, и анти-CTLA-4 антитела, например ипилимуаб. Примерные дозы, которые можно использовать, включают дозу молекулы анти-PD-1 антитела приблизительно от 1 до 10 мг/кг, например 3 мг/кг, и дозу анти-CTLA-4 антитела, например ипилимуаб, приблизительно 3 мг/кг.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с антагонистами пути PD-1. В некоторых вариантах осуществления комбинацию используют для лечения солидной опухоли или гематологического злокачественного новообразования. PD-1 является еще одним негативным регулятором адаптивного иммунного ответа, который экспрессируется на активированных Т-клетках. PD-1 связывается с B7-H1 и B7-DC, и вовлечение PD-1 подавляет активацию Т-клеток. Противоопухолевые эффекты были продемонстрированы при блокаде пути PD-1. В литературных источниках сообщалось, что молекулы анти-PD-1 антител (например, ниволумаб (Opdivo®), пембролизумаб (Keytruda®) и пидилизумаб), и AMP-224 являются примерами блокаторов пути PD-1, которые могут найти применение в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления антагонист пути PD-1 представляет собой молекулу анти-PD-1 антитела, которое выбирают из группы, включающей ниволумаб, пембролизумаб или пидилизумаб.

В некоторых вариантах осуществления антагонист пути PD-1 представляет собой иммуноадгезин (например, иммуноадгезин, содержащий внеклеточную или PD-1-связывающую часть PD-L1 или PD-L2,

слитую с константной областью (например, область Fc последовательности иммуноглобулина). В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 представляет собой AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune, например, раскрытый в WO 2010/027827 и WO 2011/066342), является растворимым слитым рецептором PD-L2 Fc, который блокирует взаимодействие между PD-1 и B7-H1.

В некоторых вариантах осуществления антагонист пути PD-1 представляет собой ингибитор PD-L1 или PD-L2. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 или PD-L2 представляет собой анти-PD-L1 антитело или анти-PD-L2 антитело. В некоторых вариантах осуществления ингибитор анти-PD-L1 выбран из YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C или MDX-1105. В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой анти-PD-L1 антитело MSB0010718C. MSB0010718C (также называемый A09-246-2; Merck Serono) представляет собой моноклональное антитело, которое связывается с PD-L1.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с антагонистами пути TIM-3. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения солидной опухоли или гематологического злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления антагонист пути TIM-3 представляет собой анти-TIM-3 антитело. В некоторых вариантах осуществления молекулы анти-TIM-3 антитела раскрыты в US 2015/0218274, опубликованной 6 августа 2015 г., под названием "Молекулы антител к TIM-3 и их применение".

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с антагонистами пути LAG-3. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения солидной опухоли или гематологического злокачественного новообразования. В некоторых вариантах осуществления антагонист пути LAG-3 представляет собой анти-LAG-3 антитело. В некоторых вариантах осуществления молекулы антител анти-LAG-3 раскрыты в US 2015/0259420, поданной 13 марта 2015 г., под названием "Молекулы антител к LAG-3 и их применение".

Аминокислотный катаболизм.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с ингибитором метаболизма аминокислот, таким как ингибитор IDO или аргиназы-1 или аргиназы-2, для противодействия иммуноингибирующему действию иммуносупрессивных иммунных клеток, таких как клетки-супрессоры миелоидного происхождения.

Пуринергический сигнальный путь.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с ингибиторами пуринергического сигнального пути, такими как антагонисты CD39 и CD73 пути или ингибиторы рецепторов A2A/A2B.

Хемокины и хемокиновые рецепторы.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с антагонизмом хемокинов или хемокиновых рецепторов, чтобы ингибировать рекрутинг супрессивных иммунных клеток в микроокружение опухоли. Например, но не исключительно, соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с антагонистом CCR2 или CCR5 для уменьшения инфильтрации миелоидных супрессорных клеток и регуляторных Т-клеток.

Агонисты Т-клеточных рецепторов.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с агонистом Т-клеточного рецептора, таким как агонист CD28, агонист OX40, агонист GITR, агонист CD137, агонист CD27 или агонист HVEM.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с агонистом CD27. Типичные агонисты CD27 включают агонистическое антитело против CD27, например, как описано в публикации PCT № WO 2012/004367.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с агонистом GITR. В некоторых вариантах осуществления комбинацию применяют для лечения солидной опухоли или гематологического злокачественного новообразования. Типичные агонисты GITR включают, например, слитые белки GITR и антитела анти-GITR (например, двухвалентные анти-GITR антитела).

Антагонисты TLR.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с агонистом толл-подобных рецепторов. Используемый в настоящей заявке термин "толл-подобный рецептор" (или "TLR") относится к члену семейства белков толл-подобных рецепторов или к его фрагменту, который распознает микробный продукт и/или инициирует адаптивный иммунный ответ. В одном варианте осуществления TLR активирует дендритную клетку (DC). Толл-подобные рецепторы (TLR) представляют собой рецепторы распознавания образов, которые первоначально были идентифицированы как сенсоры врожденной иммунной системы, распознающие микробные патогены. TLR содержат семейство консервативных мембранно-охватывающих молекул, содержащих эктодомен из обогащенных лейцином повторов, трансмембранный домен и внутриклеточный домен TIR (Toll/IL-1R). TLR распознают различные структуры в микробах, часто называемые "PAMP" (ассоциированные с патогеном молекулярные структуры). Связывание лиганда с TLR вызывает каскад внутриклеточных сигнальных путей, которые индуцируют выработку факторов, вовлеченных в воспаление и иммунитет.

Агонисты TLR, известные в данной области и находящие применение в настоящем изобретении, включают, но не ограничиваются ними, следующие:

Pam3Cys, агонист TLR-1/2;
 CFA, агонист TLR-2;
 MALP2, агонист TLR-2;
 Pam2Cys, агонист TLR-2;
 FSL-1, агонист TLR-2;
 Hib-OMPC, агонист TLR-2;
 полирибозиновая:полирибозитидиновая кислота (Poly I:C), агонист TLR-3; полиаденозин-полиуридилловая кислота (poly AU), агонист TLR-3;
 полиинозиновая-полицитидиловая кислота, стабилизированная поли-L-лизином и карбоксиметил-целлюлозой;
 (Hiltonol®), агонист TLR-3;
 монофосфорилипид A (MPL), агонист TLR-4;
 LPS, агонист TLR-4;
 бактериальный флагеллин, агонист TLR-5;
 сиалил-Tn (STn), углевод, связанный с муцином MUC1 в ряде раковых клеток человека, и агонист TLR-4;
 имиквимод, агонист TLR-7;
 резиквимод, агонист TLR-7/8;
 локсорибин, агонист TLR-7/8 и
 неметилированный CpG динуклеотид (CpG-ODN), агонист TLR-9.

Благодаря их адъювантным качествам агонисты TLR предпочтительно используют в комбинациях с другими вакцинами, адъювантами и/или иммуномодуляторами и их можно сочетать в различных комбинациях. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления моно- или ди-FCDN-соединения, которые связываются со STING и индуцируют STING-зависимую активацию TBK1 и инактивированную опухолевую клетку, которая экспрессирует и секретирует один или несколько цитокинов, которые стимулируют индукцию, рекрутинг и/или созревание, как описано в настоящей заявке, можно вводить вместе с одним или несколькими агонистами TLR в терапевтических целях.

Терапевтические средства на основе антител.

Соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с терапевтическими антителами. В некоторых вариантах осуществления механизм действия терапевтического антитела представляет собой антителозависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC). ADCC представляет собой механизм клеточно-опосредованной иммунной защиты, при котором эффекторная клетка иммунной системы активно лизует клетку-мишень, антигены которой на мембранной поверхности связаны специфическими антителами. Это один из механизмов, посредством которых антитела, как часть гуморального иммунного ответа, могут действовать для ограничения и сдерживания инфекции. Классическая ADCC опосредуется естественными киллерными клетками (NK); макрофаги, нейтрофилы и эозинофилы также могут опосредовать ADCC. ADCC является важным механизмом действия терапевтических моноклональных антител, включая трастузумаб и ритуксимаб, против опухолей. Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут действовать как усиливающие действие ADCC.

Ниже приведен примерный список антител, которые можно использовать вместе с соединениями в соответствии с настоящим изобретением:

муромонаб-CD3, инфликсимаб, адалимумаб, омализумаб, даклизумаб, ритуксимаб, ибритумомаб, тозитумомаб, цетуксимаб, трастузумаб, алемтузумаб, Lum-1 ипилимумаб, витаксин, бевацизумаб и абциксимаб.

Дополнительные терапевтические антитела, которые можно использовать в сочетании с соединениями в соответствии с настоящим изобретением, включают ингибитор рецепторов пролактина (PRLR), ингибитор HER3, ингибитор EGFR2 и/или EGFR4, ингибитор M-CSF, антитело анти-APRIL или антитело анти-SIRPα или антитело анти-CD47.

Химиотерапевтические средства.

В дополнительных вариантах осуществления описанных в настоящей заявке способов соединения в соответствии с настоящим изобретением применяют в комбинации с химиотерапевтическими средствами (например, низкомолекулярными фармацевтическими соединениями). Таким образом, способы дополнительно включают введение субъекту эффективного количества одного или нескольких химиотерапевтических средств дополнительного лечения или комбинированного лечения. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько химиотерапевтических средств выбирают из группы, включающей ацетат абиратерона, альтретамин, ангидровинбластин, ауристатин, бексаротен, бикалутамид, BMS 184476, 2,3,4,5,6-пентафтор-N-(3-фтор-4-метоксифенил)бензолсульфонамид, блеомицин, N,N-диметил-L-валил-L-валил-N-метил-L-валил-L-пролин-1-L-пролин-трет-бутиламид, кахектин, цемадотин, хлорамбу-

цил, циклофосфамид, 3',4'-дидегидро-4'-дезоксид-8'-норвин-калеукобластин, доцетаксел, доксетаксел, циклофосфамид, карбоплатин, кармустин, цисплатин, криптофицин, циклофосфамид, цитарабин, дакарбазин (DTIC), дактиномицин, даунорубицин, децитабин, доластатин, доксорубицин (адриамицин), этопозид, 5-фторурацил, финастерид, флутамид, гидроксиуреа и гидроксиуреатаксаны, ифосфамид, лиарозол, лонидамин, ломустин (CCNU), энзалутамид, мехлорэтамид (азотистый иприт), мелфалан, изетионат мивобулина, ризоксин, сертенеф, стрептозоцин, митомицин, метотрексат, таксаны, нилутамид, онапристон, паклитаксел, преднимустин, прокарбазин, RPR109881, фосфат страмустина, тамоксифен, тасонермин, таксол, третиноин, винбластин, винкристин, сульфат виндезина и винфлунин.

В дополнительных вариантах осуществления описанных в настоящей заявке способов соединения в соответствии с настоящим изобретением применяют в комбинации с химиотерапевтическими средствами и/или дополнительными средствами для лечения показаний, как описано в способах настоящей заявки. В некоторых вариантах осуществления соединения в соответствии с настоящим изобретением применяют в комбинации с одним или несколькими средствами, которые выбирают из группы, включающей сотрастаурин, нилотиниб, 5-(2,4-дигидроксид-5-изопропилфенил)-N-этил-4-(4-(морфолинометил)-фенил)изоксазол-3-карбоксамида, дактолисиб, 8-(6-метоксипиридин-3-ил)-3-метил-1-(4-пиперазин-1-ил-3-трифторметил-фенил)-1,3-дигидроимидазо[4,5-с]хинолин-2-он, 3-(2,6-дихлор-3,5-диметоксифенил)-1-(6-((4-(4-этилпиперазин-1-ил)фенил)амино)пиридин-4-ил)-1-метилмочевина, бупарлисиб, 8-(2,6-дифтор-3,5-диметоксифенил)-N-(4-((диметиламино)метил)-1H-имидазол-2-ил)хиноксалин-5-карбоксамида, (S)-N1-(4-метил-5-(2-(1,1,1-трифтор-2-метилпропан-2-ил)пиридин-4-ил)тиазол-2-ил)пирролидин-1,2-дикарбоксамида, (S)-1-(4-хлорфенил)-7-изопропокси-6-метокси-2-(4-(метил-((1R,4S)-4-(4-метил-3-оксопиперазин-1-ил)циклогексил)метил)амино)фенил)-1,2-дигидроизохинолин-3(4H)-он, деферасирокс, летрозол, (4S,5R)-3-(2'-амино-2-морфолино-4'-(трифторметил)-[4,5'-бипиридин]-6-ил)-4-(гидроксиметил)-5-метилоксазолидин-2-он, (S)-5-(5-хлор-1-метил-2-оксо-1,2-дигидропиридин-3-ил)-6-(4-хлорфенил)-2-(2,4-диметоксипиридин-5-ил)-1-изопропил-5,6-дигидропирроло[3,4-d]имидазол-4(1H)-он, 4-((2-(((1R,2R)-2-гидроксициклогексил)амино)бензо[d]тиазол-6-ил)окси)-N-метилпиколинамид, иматинибамезилат, 2-фтор-N-метил-4-(7-(хинолин-6-илметил)имидазо[1,2-b][1,2,4]триазин-2-ил)бензамид, руксолитиниб, панобиностат, осилдростат, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид, (S)-N-((S)-1-циклогексил-2-((S)-2-(4-(4-фторбензоил)тиазол-2-ил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-2-(метиламино)пропанамид, сонидегиб фосфат, церитиниб, 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-(пиперазин-1-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиридин-6-карбоксамида, N-(4-((1R,3S,5S)-3-амино-5-метилциклогексил)пиридин-3-ил)-6-(2,6-дифторфенил)-5-фторпиколинамида, 2-(2',3-диметил-[2,4'-бипиридин]-5-ил)-N-(5-(пиперазин-2-ил)пиридин-2-ил)ацетамид, энкорафениб, 7-циклопентил-N,N-диметил-2-((5-((1R,6S)-9-метил-4-оксо-3,9-диазабицикло[4.2.1]-нонан-3-ил)пиридин-2-ил)амино)-7H-пирроло[2,3-d]пиридин-6-карбоксамида, бинимтиниб, мидостаурин, эверолимус, 1-метил-5-((2-(5-(трифторметил)-1H-имидазол-2-ил)пиридин-4-ил)окси)-N-(4-(трифторметил)-фенил)-1H-бензо[d]имидазол-2-амин, пасиреотид, диаспартат, довитиниб, (R,E)-N-(7-хлор-1-(1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)азепан-3-ил)-1H-бензо[d]имидазол-2-ил)-2-метилизооникотинамид, N6-(2-изопропокси-5-метил-4-(1-метилпиперидин-4-ил)фенил)-N4-(2-(изопропилсульфонил)-фенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиридин-4,6-диамин, 3-(4-(4-((5-хлор-4-((5-метил-1H-пиразол-3-ил)амино)пиридин-2-ил)амино)-5-фтор-2-метилфенил)пиперидин-1-ил)тиазан-1,1-диоксид, 5-хлор-N2-(2-фтор-5-метил-4-(1-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)пиперидин-4-ил)фенил)-N4-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиридин-2,4-диамин, 5-хлор-N2-(4-(1-этилпиперидин-4-ил)-2-фтор-5-метилфенил)-N4-(5-метил-1H-пиразол-3-ил)пиридин-2,4-диамин, вальсподар и ваталаниб сукцинат.

В других вариантах осуществления соединения в соответствии с настоящим изобретением можно применять в комбинации с ингибитором PKC, ингибитором BCR-ABL, ингибитором HSP90, ингибитором PI3K и/или mTOR, ингибитором FGFR, ингибитором PI3K, ингибитором FGFR, ингибитором PI3K, ингибитором цитохрома P450 (например, ингибитором CYP17), ингибитором HDM2, ингибитором ароматазы, ингибитором p53 и/или взаимодействия p53/Mdm2 или ингибитором тирозинкиназы CSF-1R.

Подходящие препараты включают, например, таблетки, капсулы, суппозитории, растворы, в частности растворы для инъекции (п.к., в.в., в.м.), и инфузии - эликсир, эмульсии или диспергируемые порошки. Содержание фармацевтически активного соединения (соединений) должно находиться в диапазоне от 0,1 до 90 мас.%, предпочтительно от 0,5 до 50 мас.% композиции в целом, т.е. в количествах, которые достаточны для достижения диапазона доз, указанного ниже. При необходимости указанные дозы могут быть введены несколько раз в сутки.

Доза для упомянутых выше компонентов по комбинации обычно составляет 1/5 от самой низкой обычно рекомендуемой дозы до 1/1 от обычно рекомендуемой дозы.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или состояния, связанного с или модулированного посредством, или на которые можно оказывать влияние модуляцией STING у пациента, причем указанный способ включает в себя стадию введения пациенту, предпочтительно человеку, который нуждается в таком лечении терапевтически эффективного количества соединения в соответствии с настоящим изобретением в сочетании с терапевтически эффективным количеством одного или нескольких дополнительных терапевтических средств, описанных в настоящем доку-

менте выше.

Применение соединения в соответствии с изобретением в комбинации с дополнительным терапевтическим средством может происходить одновременно или с перерывами во времени.

Соединение в соответствии с изобретением и одно или несколько дополнительных терапевтических средств могут оба присутствовать вместе в одном составе или отдельно в двух одинаковых или разных составах, например, в виде так называемого набора компонентов.

Следовательно, в другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, которая содержит соединение в соответствии с изобретением и одно или несколько дополнительных терапевтических средств, описанных выше и далее, необязательно вместе с одним или несколькими инертными носителями и/или разбавителями.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из следующих более подробных примеров, которые в качестве примера иллюстрируют принципы изобретения.

Синтез соединений в соответствии с настоящим изобретением.

Общие технические замечания.

Термины "температура окружающей среды" и "комнатная температура" используют взаимозаменяемо и обозначают температуру около 20°C, например от 15 до 25°C.

Как правило, спектры ^1H ЯМР и/или масс-спектры были получены из приготовленных соединений. Если не указано иное, то все хроматографические операции осуществляли при комнатной температуре. Во время синтеза циклического динуклеотида испарение растворителей обычно осуществляли роторным испарением под сниженным давлением при температуре водяной бани, не превышающей 35°C. Кроме того, во время синтеза циклического динуклеотида реакции проводили в атмосфере азота или аргона.

Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР): для спектров ^1H химические сдвиги были отнесены к сигналу растворителя ДМСО (2,50 ч./млн) или для измерений в D_2O , к DSS (4,4-диметил-4-силапентан-1-сульфоная кислота). На спектры ^{31}P ЯМР косвенно ссылались путем сравнения абсолютных частот $^1\text{H}/^{31}\text{P}$ (Bruker BioSpin GmbH, программное обеспечение: TopSpin, au program: xsi). Все спектры ^{31}P ЯМР были записаны с разделением протонов.

Список сокращений.

ACN - ацетонитрил,

водн. - водный,

°C - градус Цельсия,

DA - диодная матрица,

DBU - диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен,

CEP - (2-цианозтил)-(N,N-диизопропил)]фосфорамидит,

DCM - дихлорметан,

DDTT - 3-((N,N-диметиламинометилиден)амино)-3H-1,2,4-дитиазол-3-тион DIPEA диизопропилэтиламин,

DMAP - 4-диметиламинопиридин,

ДМФА - N,N-диметилформамид,

DMOCP - 2-хлор-5,5-диметил-2-оксо-1,3,2-диоксафосфоринан,

DMT - 4,4'-диметокситритил,

ЭРИ-МС - масс-спектрометрия с ионизацией электрораспылением,

EtOAc - этилацетат,

экв. - эквивалент,

FC - флэш-хроматографии, SiO_2 применяют, если никакие дальнейшие детали не предоставлены,

ч - час,

HCl - хлорид водорода,

HATU - [диметиламино-(1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридин-3-илокси)-метил]диметил-аммония гексафторфосфат,

ВЭЖХ - высокоэффективная жидкостная хроматография,

л - литр,

LiHMDS - гексаметилдисилазид лития,

m/z - отношение массы к заряду,

MeOH - метанол,

мин - минута,

мл - миллилитр,

МС - масс-спектр,

н.о. - не определено,

NH_4OH - раствор NH_3 в воде,

$\text{Pd-PEPSI-Irpent}^{\text{TM}}$ - дихлор[1,3-бис-(2,6-ди-3-пентилфенил)имидазол-2-илиден](3-хлорпиридил)-палладий(II),

psi - фунт на квадратный дюйм,

КТ - комнатная температура (около 20°C),
 SEM - 2-(триметилсилил)этоксиметил,
 раств. - растворитель,
 TBS - трет-бутил-диметилсилил,
 TEA - триэтиламин,
 TEAF - формиаттриэтиламмония,
 TF/TFA - трифторуксусная кислота,
 TFAA - ангидрид трифторуксусной кислоты,
 ТГФ - тетрагидрофуран,
 Ву - время удерживания в минутах.
 Аналитические конфигурации ВЭЖХ.
 Конфигурация А (градиент ВЭЖХ).

VWR/Hitachi: насос L-2130; VWR/Hitachi: L-2200 автоматический пробоотборник; VWR/Hitachi: колоночный термостат L-2350 (установлен на 30°C); VWR/Hitachi: УФ/Vis детектор с переменной длиной волны L-2400; EZChrom версия программного обеспечения 3.3.1 SP1.

YMC*GEL ODS-A 12 нм (10 мкм; 250×0.4 мм)) канал A=20 мм TEAF (pH 6.8) в воде; канал B=100% ацетонитрил, 20 мм TEAF (pH 6.8). Градиент: 0 мин 100% A; 30 мин. 100% B; 40 мин. 100% B, 30°C; скорость потока: 1.0 мл/мин; УФ 261 нм;

Конфигурация В (изократическая ВЭЖХ).

VWR/Hitachi: насос L-7100; VWR/Hitachi: УФ/Vis детектор с переменной длиной волны L-7400; VWR/Hitachi: D-7500 Integrator.

Аналитическая ВЭЖХ (конфигурация С; YMC*GEL ODS-A 12 нм (10 мкм; 250×0.4 мм)) 11% ацетонитрил, 20 мм TEAF (pH 6.8) в воде; скорость потока: 1.0 мл/мин; УФ 264 нм;

Аналитика ЖХ-МС.

Система ВЭЖХ: VWR/Hitachi: насос L-2130; VWR/Hitachi: L-2200 автоматический пробоотборник; VWR/Hitachi: колоночный термостат L-2350; VWR/Hitachi: L-2450 детектор на диодной матрице; Agilent: OpenLab.

МС-система: спектрометр Bruker Esquire ЖХ 6000.

Система А.

Колонка: Kromasil 100-5 Cs, 5 мкм, 50×3 мм.

Скорость потока: 0.4 мл/мин, 35°C, диапазон УФ обнаружения: 220-300 нм.

Масс-спектр: записан на масс-спектрометре с использованием отрицательной и положительной электрораспылительной ионизации.

Растворители: А: ацетонитрил

В: вода

С: 20 мМ NH₄HCO₃ (pH 7) в воде

Градиент:	Время	A%	B%	C%
	0	20	75	5
	20	95	0	5
	23	95	0	5
	24	20	75	5
	30	20	75	5

Получение образцов: образцы (2-10 мкл) растворяли в 175 мкл ацетонитрила и 175 мкл воды, объем введенной пробы 2-10 мкл.

Система В.

Колонка: ACE 3 ВОДН 110-3 C₁₈, 5 мкм, 50×3 мм.

Скорость потока: 0.4 мл/мин, 35°C, диапазон УФ обнаружения: 220-300 нм.

Масс-спектр: записан на масс-спектрометре с использованием отрицательной и положительной электрораспылительной ионизации.

Растворители: А: ацетонитрил

В: вода

С: 20 мМ NH₄HCO₃ (pH 7) в воде

Градиент:	Время	A%	B%	C%
	0	2	93	5
	20	60	35	5
	23	95	0	5
	24	2	93	5
	30	2	93	5

Поставщик устройства:		Agilent		
Описание:		Agilent 1200 с ДМ- и МС-детектором		
Название метода:		СИСТЕМА С		
Колонка:		Sunfire, 3 x 30 мм, 2.5 мкм		
Поставщик колонки:		Waters		
Градиент/Растворитель	% раств. [H ₂ O, 0,1%ТФУ]	% раств. [Ацетонитрил]	Поток [мл/мин]	Темп [°C]
Время [мин]				
0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60
1.20	0	100	2.2	60
1.25	0	100	3	60
1.40	0	100	3	60

Поставщик устройства:		Agilent		
описание:		Agilent 1200 с ДМ- и МС-детектором		
Название метода:		СИСТЕМА D		
Колонка:		XBridge C18, 3 x 30 мм, 2.5 мкм		
Поставщик колонки:		Waters		
Градиент/Растворитель	% раств. [H ₂ O,0.1%NH ₃]	% раств. [Ацетонитрил]	Поток [мл/мин]	Темп [°C]
Время [мин]				
0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60
1.20	0	100	2.2	60
1.25	0	100	3	60
1.40	0	100	3	60

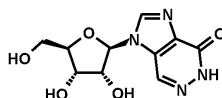
Поставщик устройства:		Agilent		
Описание:		Agilent 1200 с ДМ- и МС-детектором		

Название метода:		СИСТЕМА E		
Колонка:		Stable Bond, 3 x 30 мм, 1.8 мкм		
Поставщик колонки:		Agilent		
Градиент/Растворитель	% раств. [H ₂ O,0.1%TFA]	% раств. [Ацетонитрил]	Поток [мл/мин]	Темп [°C]
Время [мин]				
0.00	97	3	2.2	60
0.20	97	3	2.2	60
1.20	0	100	2.2	60
1.25	0	100	3	60
1.40	0	100	3	60

Поставщик устройства:		Agilent		
Описание:		Agilent 1200 с ДМ- и МС-детектором		
Название метода:		System F		
Колонка:		Nucleodur SiOH, 3 x 30 мм, 5.0 мкм		
Поставщик колонки:		Macherey-Nagel		
Градиент/растворитель	% раств. DCM	% раств. MeOH	Поток [мл/мин]	Темп [°C]
Время [мин]				
0.00	100	0	2.5	30
0.60	100	0	2.5	30
1.80	95	5	2.5	30
2.60	75	25	2.5	30
3.00	50	50	2.5	30
3.10	0	100	2.5	30
3.50	0	100	2.5	30
3.55	100	0	2.5	30
3.80	100	0	2.5	30
5.00	100	0	3.0	30
5.20	100	0	3.0	30

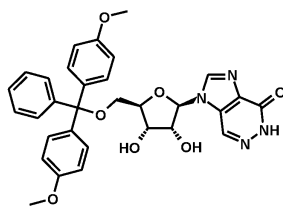
Синтезы промежуточных соединений.

Промежуточное соединение 1.1. Имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид(1-(β-D-рибофуранозил)имидазо[4,5-d]пиридазин-4(5H)-он)



Указанное в заголовке соединение получали, как описано в J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1989, 1769-1774.

Промежуточное соединение 1.2. 5'-DMT-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид

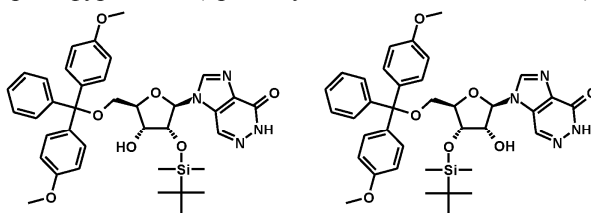


Имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид (промежуточное соединение 1.1, 4.00 г, 14.9 ммоль) подвергали азеотропной перегонке с безводным пиридином (3×20 мл), сушили в вакууме и растворяли в безводном пиридине (25 мл). К этому раствору добавляли раствор 4,4'-диметокситриэтилхлорида (5.05 г, 14.9 ммоль) в безводном пиридине (15 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч. при комнатной температуре. Реакционную смесь выпаривали под сниженным давлением, и полученный остаток очищали при помощи препаративной ВЭЖХ с обращенными фазами (X-Bridge C18, ацетонитрил/вода/ NH_3).

ЖХ-МС (система D):

$\text{V}_\text{у}$ =0.82 мин; ЭРИ-МС: 571 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Промежуточное соединение 1.3-а и промежуточное соединение 1.3-б. 5'-DMT-2'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид (промежуточное соединение 1.3-а) и 5'-DMT-3'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид (промежуточное соединение 1.3-б)



Промежуточное соединение 1.3-а

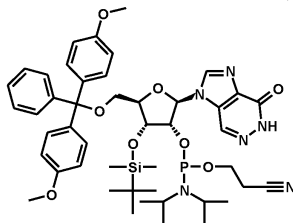
Промежуточное соединение 1.3-б

5'-DMT-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид (промежуточное соединение 1.2, 5.30 г, 9.29 ммоль) подвергали азеотропной перегонке с безводным пиридином (3×30 мл), сушили в вакууме и растворяли в безводном пиридине (20 мл). К этому раствору добавляли имидазол (1.90 г, 27.9 ммоль) и трет-бутилхлордиметилсилан (1.54 г, 10.2 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч. при комнатной температуре. Реакционную смесь разделяли между дихлорметаном и водой. Органический слой отделяли, и водный слой экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические экстракты промывали рассолом, сушили с применением гидрофобной фритты и выпаривали под сниженным давлением. Полученный остаток очищали при помощи колоночной хроматографии среднего давления (силикагель, градиент 5-20% ацетона в дихлорметане). ЖХ-МС (система F):

Промежуточное соединение 1.3-а: $\text{V}_\text{у}$ =1.57 мин; ЭРИ-МС: 685 $[\text{M}+\text{H}]^+$;

промежуточное соединение 1.3-б: $\text{V}_\text{у}$ =1.67 мин; ЭРИ-МС: 685 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Промежуточное соединение 1.4. 5'-DMT-3'-TBS-2'-CEP-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид



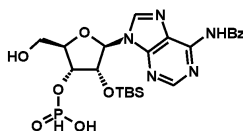
5'-DMT-3'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид (промежуточное соединение 1.3-б, 1.75 г, 2.56 ммоль) подвергали азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом (3×25 мл), сушили в вакууме и растворяли в безводном дихлорметане (45 мл). К этому раствору добавляли 2-цианоэтил N,N,N',N'-тетраизопропилфосфородиамидит (1.62 мл, 5.12 ммоль) и тетразол (5.69 мл 0.5 М раствора в ацетонитриле, 2.85 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли с дихлорметаном и промывали водным раствором гидрокарбоната натрия. Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические экстракты сушили, используя гидрофобную фритту, и выпаривали под сниженным давлением. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией среднего давления (силикагель (деактивированный триэтиламином в дихлорметане), градиент 20-100% этилацетат (3% триэтиламин) в циклогексане). Продукт получали в виде смеси диастереоизомеров.

ЖХ-МС (система D):

$\text{V}_\text{у}$ =1.33 мин; ЭРИ-МС: 885 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^{31}P ЯМР (162 МГц, 303 К, CDCl_3) δ 150.9 и 149.7 ч./млн.

Промежуточное соединение 1.5. 5'-ОН-2'-TBS-3'-Н-фосфонат-N⁶-Bz-аденозин



N^6 -Bz-5'-DMT-2'-TBS-3'-CEP-аденозин (получен от ChemGenes, 0.890 г, 0.90 ммоль) растворяли в ацетонитриле (15 мл) и воде (0.033 мл, 1.83 ммоль, 2 экв.) при комнатной температуре. Добавляли трифторацетат пиридиния (0.210 г, 1.09 ммоль, 1.2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляли трет-бутиламин (10 мл, 95.7 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь выпаривали под сниженным давлением, повторно растворяли в безводном ацетонитриле (25 мл) и выпаривали под сниженным давлением с получением от белой до бесцветной пены. Остаток растворяли в дихлорметане (25 мл) и воде (0.162 мл, 9 ммоль, 10 экв.). Добавляли дихлоруксусную кислоту (0.670 мл, 8.12 ммоль, 9 экв.) в дихлорметане (25 мл) и полученный раствор оранжевого цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляли пиридин (1.31 мл, 16.23 ммоль, 18 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин.

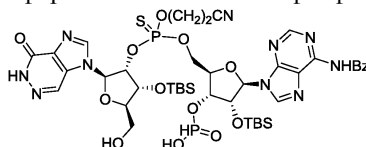
Аналитика ЖХ-МС сырого вещества подтверждала наличие промежуточного соединения 1.5.

ЖХ-МС (система А):

Ву=3.10 мин; ЭРИ-МС: 550 $[M+H]^+$.

Колбу закупоривали, тщательно запечатывали и хранили при +2°C в течение 16 ч. Растворители выпаривали под сниженным давлением и остаток подвергали азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом (4×15 мл). Во время последней процедуры выпаривания раствор концентрировали до приблизительно 5 мл конечной азеотропной смеси. Полученный безводный раствор промежуточного соединения 1.5 немедленно использовали в следующей последовательности реакций.

Промежуточное соединение 1.6. Линейный димер 5'-OH-3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-цианоэтилфосфоротиоат-2'-TBS-3'-H-фосфонат- N^6 -Bz-аденозин



5'-DMT-3'-TBS-2'-CEP-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид (промежуточное соединение 1.4, 1.340 г, 1.51 ммоль, 1.7 экв.) подвергали азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом (4×10 мл). Во время последней процедуры выпаривания раствор концентрировали до приблизительно 3 мл конечной азеотропной смеси. Полученный раствор добавляли к 5'-OH-2'-TBS-3'-H-фосфонат- N^6 -Bz-аденозину (промежуточное соединение 1.5), растворенному в приблизительно 5 мл безводного ацетонитрила (теоретическое количество желаемого вещества: 0.495 г, 0.90 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Добавляли ((N,N-диметиламино-метилиден)амино)-3Н-1,2,4-дитиазолин-3-тион (DDTT) (0.203 г, 0.99 ммоль, 1.1 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Летучие компоненты выпаривали под сниженным давлением и остаток растворяли в дихлорметане (25 мл) и воде (0.162 мл, 9 ммоль, 10 экв.). Добавляли дихлоруксусную кислоту (1.340 мл, 16.24 ммоль, 18 экв.) в дихлорметане (25 мл) и раствор оранжевого цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Добавляли пиридин (10 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин.

Аналитика ЖХ-МС сырого вещества подтверждала наличие промежуточного соединения 1.6 в виде смеси диастереоизомеров.

ЖХ-МС (система А).

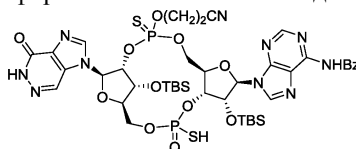
Промежуточное соединение 1.6-а: Ву=7.36 мин;

промежуточное соединение 1.6-б: Ву=7.57 мин;

ЭРИ-МС: 1063 $[M+H]^+$ для каждого диастереоизомера.

Колбу закупоривали, тщательно запечатывали и хранили при +2°C в течение 16 ч. Смесь выпаривали под сниженным давлением и остаток совместно выпаривали с безводным пиридином (2×20 мл) под сниженным давлением. Добавляли еще порцию 40 мл безводного пиридина и остаток концентрировали под сниженным давлением до приблизительно 20 мл общего объема. Полученный безводный раствор промежуточного соединения 1.6 немедленно использовали в следующей последовательности реакций.

Промежуточное соединение 1.7. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-цианоэтилфосфоротиоат-2'-TBS- N^6 -Bz-аденозин-(3'→5')-фосфоротиоат



2-Хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфоринан 2-оксид (ДМОСР) (0.581 г, 3.15 ммоль, 3.5 экв.) добавляли к сырому 5'-ОН-3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-СЕ-PS-2'-TBS-3'-Н-фосфонат-N⁶-Bz-аденозину (промежуточное соединение 1.6) (теоретическое количество желаемого вещества в сыром препарате: 0.957 г, 0.90 ммоль) в безводном пиридине в общем объеме приблизительно 20 мл. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Добавляли воду (0.570 мл, 31.6 ммоль, 35.1 экв.) и 3Н-1,2-бензодитиол-3-он (0.230 г, 1.37 ммоль, 1.5 экв.) и перемешивание продолжали при комнатной температуре. Через 20 мин реакционную смесь выливали в раствор гидрокарбоната натрия (4.500 г, 53.6 ммоль) в 150 мл воды и встряхивали на шейкере при комнатной температуре в течение 5 мин с последующим добавлением смеси из этилацетат/метил-трет-бутилового эфира (150 мл, 1:1). Органическую фазу отделяли и водную фазу дополнительно экстрагировали два раза с этилацетат/метил-трет-бутиловым эфиром (2×75 мл, 1:1). Объединенные органические фазы сушили посредством безводного сульфата магния с последующим выпариванием растворителей под сниженным давлением и конечным совместным выпариванием со 100 мл безводного толуола. Сырое вещество очищали при помощи препаративной флэш-хроматографии (160 г силикагель, градиент 0-12,5% MeOH в дихлорметане) с получением 0.78 г чистого обогащенного промежуточного соединения 1.7 (смесь диастереомеров).

ЖХ-МС (система А):

промежуточное соединение 1.7-а: Ву=7.56 мин;

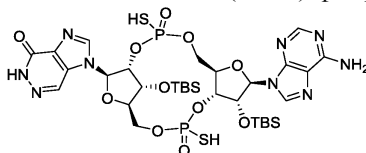
промежуточное соединение 1.7-б: Ву=8.18 мин;

промежуточное соединение 1.7-с: Ву=9.02 мин;

промежуточное соединение 1.7-д: Ву=10.17 мин;

ЭРИ-МС: 1077 [M+H]⁺ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 1.8. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоат-2'-TBS-аденозин-(3'→5')-фосфоротиоат



125 мл 33% метиламина в абсолютном этаноле добавляли к чистому обогащенному 3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-цианоэтилфосфоротиоат-2'-TBS-N⁶-Bz-аденозин-(3'→5')-фосфоротиоату (промежуточное соединение 1.7; 0.780 г) и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Все летучие компоненты выпаривали под сниженным давлением и дополнительно сушили в вакууме с получением 0.758 г сырого промежуточного соединения 1.8 (смесь диастереомеров), которое применяли непосредственно в следующей реакции.

ЖХ-МС (система А):

промежуточное соединение 1.8-а: Ву=1.47 мин;

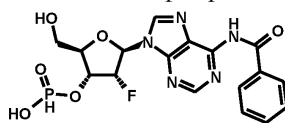
промежуточное соединение 1.8-б: Ву=3.60 мин;

промежуточное соединение 1.8-с: Ву=3.90 мин;

промежуточное соединение 1.8-д: Ву=5.53 мин;

ЭРИ-МС: 920 [M+H]⁺ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 2.1. 5'-ОН-2'-F-3'-Н-фосфонат-N⁶-Bz-2'-деоксиаденозин



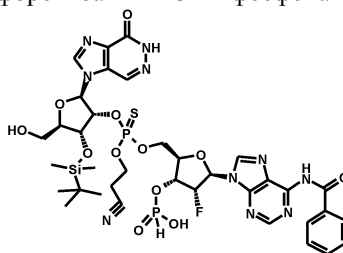
N⁶-Бензоил-5'-DMT-2'-F-3'-H-деоксиаденозин-3'-СЕР (получен от Alfa Aesar) (1.05 г, 1.20 ммоль) растворяли в ацетонитриле (6 мл) и воде (0.043 мл, 2.40 ммоль, 2 экв.) при комнатной температуре. Добавляли трифторацетат пиридиния (278 мг, 1.44 ммоль, 1.2 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. После этого добавляли трет-бутиламин (6.0 мл, 57.1 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь выпаривали в вакууме, повторно растворяли (2×) в безводном ацетонитриле (12 мл) и снова выпаривали в вакууме с получением от белой до бесцветной пены. Остаток растворяли в дихлорметане (14.4 мл) и воде (0.22 мл, 12.0 ммоль, 10 экв.). Добавляли дихлоруксусную кислоту в дихлорметане (6%, 14.4 мл) и полученный раствор оранжевого цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Добавляли пиридин (1.64 мл, 20.3 ммоль, 17 экв.) и реакционную смесь выпаривали в вакууме и подвергали азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом (3×11 мл). Наконец, оставшийся сырой продукт сушили в высоком вакууме в течение еще 30 мин и применяли без дальнейшей очистки.

Аналитика ЖХ-МС сырого вещества подтверждала наличие промежуточного соединения 2.1.

ЖХ-МС (система Е):

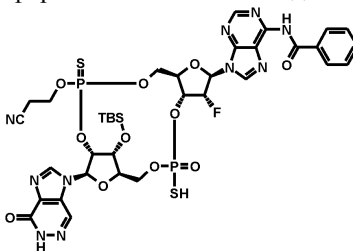
Ву=0.64 мин; ЭРИ-МС: 438 [M+H]⁺.

Промежуточное соединение 2.2. Линейный димер 5'-ОН-3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→')-цианоэтилфосфоротиоат-2'-F-3'-Н-фосфонат-N⁶-Bz-2'-деоксиаденозин



5'-DMT-3'-TBS-2'-CEP-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид (промежуточное соединение 1.4, 1.38 г, 1.56 ммоль, 1.0 экв.) растворяли в безводном ацетонитриле (10 мл) и подвергали азеотропному выпариванию в вакууме. Эту операцию повторяли еще три раза, оставляя около 5 мл азеотропной смеси в колбе при последнем испарении. Добавляли 10 штук молекулярного сита (3 Å) и полученную смесь добавляли к 5'-ОН-2'-F-3'-Н-фосфонат-N⁶-Bz-2'-деоксиаденозину (промежуточное соединение 2.1), растворенному в приблизительно 3 мл безводного ацетонитрила (теоретическое количество желаемого вещества: 523 мг, 1.20 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. Добавляли ((N,N-диметиламинометилиден)амино)-3Н-1,2,4-дитиазолин-3-тион (DDTT) (275 мг, 1.34 ммоль, 0.9 экв.) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Летучие компоненты выпаривали в вакууме, а остаток растворяли в дихлорметане (20 мл) и воде (0.216 мл, 12 ммоль, 7.7 экв.). Добавляли дихлоруксусную кислоту в дихлорметан (6%, 19.2 мл) и полученный раствор оранжевого цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. После этого периода добавляли пиридин (12 мл) и реакционную смесь выпаривали в вакууме. Наконец, оставшийся сырой продукт сушили в высоком вакууме в течение еще 30 мин и применяли без дальнейшей очистки и характеристики.

Промежуточное соединение 2.3. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-цианоэтилфосфоротиоат-2'-F-N⁶-Bz-2'-деоксиаденозин-(3'→5')-фосфоротиоат



Сырое промежуточное соединение 2.2 (максимальное теоретическое количество желаемого вещества: 1.48 г, 1.56 ммоль) растворяли в 36 мл безводного пиридина и уменьшали до приблизительно 20 мл в вакууме. Добавляли 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфоринан 2-оксид (ДМОСР) (775 мг, 4.20 ммоль, 2.7 экв.) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. Добавляли воду (0.75 мл, 41.3 ммоль, 26.5 экв.) и 3Н-1,2-бензодитиол-3-он (0.302 г, 1.80 ммоль, 1.15 экв.) и перемешивание продолжали при комнатной температуре. Через 5 мин реакционную смесь выливали в раствор гидрокарбоната натрия (4.00 г, 47.6 ммоль) в 140 мл воды и перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин с последующим добавлением смеси из этилацетата/метил-трет-бутилового эфира (140 мл, 1:1). Органическую фазу отделяли и водную фазу дополнительно экстрагировали посредством этилацетата/метил-трет-бутилового эфира (1:1). Органические фазы объединяли и растворитель удаляли в вакууме.

Оставшийся остаток растворяли в минимальном объеме дихлорметана и очищали при помощи препаративной флэш-хроматографии (силикагель, DCM/MeOH: 100/0→80/20). Фракции были проанализированы при помощи ВЭЖХ-МС. Фракции, содержащие продукт, объединяли, и растворитель удаляли в вакууме с получением 900 мг смеси диастереоизомеров.

Аналитика ЖХ-МС вещества подтверждала наличие промежуточных соединений 2.3-a/b/c/d.

ЖХ-МС (система E):

промежуточное соединение 2.3-a: V_y=0.95 мин;

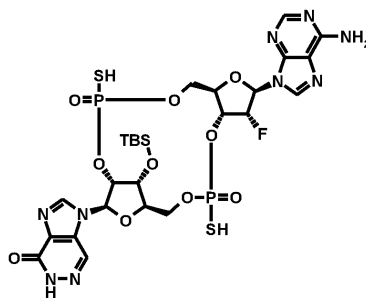
промежуточное соединение 2.3-b: V_y=0.98 мин;

промежуточное соединение 2.3-c: V_y=1.00 мин;

промежуточное соединение 2.3-d: V_y=1.03 мин;

ЭРИ-МС: 965 [M+H]⁺ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 2.4. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоат-2'-F-2'-деоксиаденозин-(3'→5')-фосфоротиоат



К 10 мл метанола и 10 мл водн. аммиака (30-33%) добавляли 300 мг (макс, теоретическое количество желаемого вещества: 0.31 ммоль) промежуточного соединения 2.3. Полученную смесь перемешивали при 50°C в течение 15 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и азот барботировали через смесь в течение 30 мин. Растворитель удаляли в вакууме, смесь повторно растворяли в безводном ацетонитриле (30 мл) и снова выпаривали в вакууме. Остаток растирали в порошок с безводным ацетонитрилом, фильтровали, промывали посредством 5 мл ACN и сушили в течение ночи при комнатной температуре. Сырой продукт растворяли в ДМФА и очищали при помощи препаративной ВЭЖХ (X-Bridge C-18; ацетонитрил/H₂O/NH₃). Фракции, содержащие продукт, собирали и растворитель удаляли путем лиофилизации. С помощью этого метода могут быть разделены все четыре диастереоизомера.

Аналитика ЖХ-МС вещества подтверждала наличие промежуточных соединений 2.4-a/b/c/d.

ЖХ-МС (система C):

промежуточное соединение 2.4-a: Ву=1.04 мин;

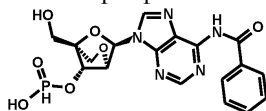
промежуточное соединение 2.4-b: Ву=1.10 мин;

промежуточное соединение 2.4-c: Ву=1.13 мин;

промежуточное соединение 2.4-d: Ву=1.15 мин;

ЭРИ-МС: 808 [M+H]⁺ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 3.1. 5'-ОН-3'-Н-фосфонат-N⁶-Bz-аденин



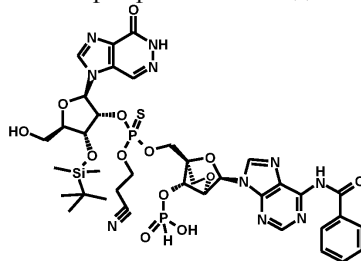
Промежуточное соединение 3.1 получали аналогично промежуточному соединению 2.1 с использованием "LNA -А амидит" (ЭКВ-0063-1000, получен от Exiqon) в качестве исходного вещества.

Аналитика ЖХ-МС сырого вещества подтверждала наличие промежуточного соединения 3.1.

ЖХ-МС (система E):

Ву=0.63 мин; ЭРИ-МС: 448 [M+H]⁺.

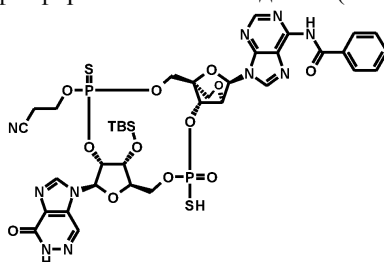
Промежуточное соединение 3.2. Линейный димер 5'-ОН-3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-цианоэтилфосфоротиоат-3'-Н-фосфонат-N⁶-Bz-аденин



* LNA - заблокированная нуклеиновая кислота

Промежуточное соединение 3.2 получали аналогично промежуточному соединению 2.2, используя промежуточное соединение 3.1 и промежуточное соединение 1.4 в качестве исходных веществ.

Промежуточное соединение 3.3. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-цианоэтил-фосфоротиоат- N⁶-Bz-аденин-(3'→5')-фосфоротиоат



Промежуточное соединение 3.3 получали аналогично промежуточному соединению 2.3, используя

промежуточное соединение 3.2 в качестве исходного вещества.

Аналитика ЖХ-МС вещества подтверждала наличие промежуточных соединений 3.3-a/b/c/d.

ЖХ-МС (система E):

промежуточное соединение 3.3-a: $V_u=0.94$ мин;

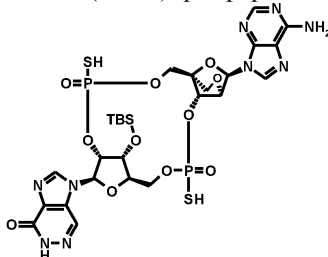
промежуточное соединение 3.3-b: $V_u=0.98$ мин;

промежуточное соединение 3.3-c: $V_u=0.99$ мин;

промежуточное соединение 3.3-d: $V_u=1.03$ мин;

ЭРИ-МС: 975 $[M+H]^+$ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 3.4. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоатаденин-(3'→5')-фосфоротиоат



Промежуточное соединение 3.4 получали аналогично промежуточному соединению 2.4, используя промежуточное соединение 3.3 в качестве исходного вещества.

Аналитика ЖХ-МС вещества подтверждала наличие промежуточных соединений 3.4-a/b/c/d.

ЖХ-МС (система C):

промежуточное соединение 3.4-a: $V_u=0.81$ мин;

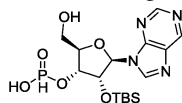
промежуточное соединение 3.4-b: $V_u=0.89$ мин;

промежуточное соединение 3.4-c: $V_u=0.91$ мин;

промежуточное соединение 3.4-d: $V_u=0.99$ мин;

ЭРИ-МС: 818 $[M+H]^+$ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 4.1. 5'-ОН-2'-TBS-3'-H-фосфонатпурин- β -D-рибофуранозид



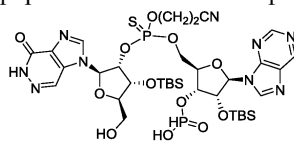
Промежуточное соединение 4.1 получали аналогично промежуточному соединению 1.5, используя 5'-DMT-2'-TBS-3'-СЕР-пурин- β -D-рибофуранозид в качестве исходного вещества, которое может быть получено, как описано в Fu et al. Biochemistry 1993, 32, 10629-10637. В отличие от промежуточного соединения 1.5 это промежуточное соединение не хранили в течение ночи, но использовали сразу в следующей последовательности реакций.

Аналитика ЖХ-МС сырого вещества подтверждала наличие промежуточного соединения 4.1.

ЖХ-МС (система B):

$V_u=8.56$ мин; ЭРИ-МС: 431 $[M+H]^+$.

Промежуточное соединение 4.2. Линейный димер 5'-ОН-3'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2'→5')-цианозтил-фосфоротиоат-2'-TBS-3'-H-фосфонатпурин- β -D-рибофуранозид



Промежуточное соединение 4.2 получали аналогично промежуточному соединению 1.6, используя промежуточное соединение 1.4 и описанное выше промежуточное соединение 4.1 в качестве исходных веществ.

Аналитика ЖХ-МС сырого вещества подтверждала наличие промежуточного соединения 4.2 в виде смеси диастереоизомеров.

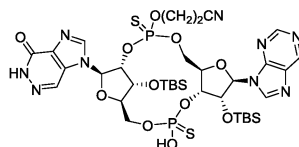
ЖХ-МС (система B):

промежуточное соединение 4.2-a: $V_u=14.86$ мин;

промежуточное соединение 4.2-b: $V_u=15.01$ мин;

ЭРИ-МС: 944 $[M+H]^+$ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 4.3. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2'→5')-цианозтилфосфоротиоат-2'-TBS-пурин- β -D-рибофуранозид-(3'→5')-фосфоротиоат



Промежуточное соединение 4.3 (в виде смесей диастереомеров) получали аналогично промежуточному соединению 1.7, используя промежуточное соединение 4.2 в качестве исходного вещества.

ЖХ-МС (система В):

промежуточное соединение 4.3-a: $V_R=15.76$ мин;

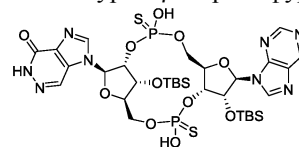
промежуточное соединение 4.3-b: $V_R=16.61$ мин;

промежуточное соединение 4.3-c: $V_R=17.68$ мин;

промежуточное соединение 4.3-d: $V_R=19.26$ мин;

ЭРИ-МС: 958 $[M+H]^+$ для каждого диастереоизомера.

Промежуточное соединение 4.4. Циклический димер 3'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоат-2'-TBS-пурин- β -D-рибофуранозид-(3'→5')-фосфоротиоат



Промежуточное соединение 4.4 (в виде смесей диастереомеров) получали аналогично промежуточному соединению 1.8, используя промежуточное соединение 4.3 в качестве исходного вещества.

ЖХ-МС (система В):

промежуточное соединение 4.4-a: $V_R=10.31$ мин;

промежуточное соединение 4.4-b: $V_R=11.82$ мин;

промежуточное соединение 4.4-c: $V_R=12.26$ мин;

промежуточное соединение 4.4-d: $V_R=14.47$ мин;

ЭРИ-МС: 905 $[M+H]^+$ для каждого диастереоизомера.

Синтез соединений в соответствии с настоящим изобретением.

Общее примечание: следующие пары соединений являются диастереомерами и отличаются по конфигурации по меньшей мере одного атома фосфора соответственно:

пример 1.1 и пример 1.2;

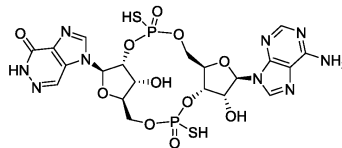
пример 2.1 и пример 2.2;

пример 3.1 и пример 3.2;

пример 4.1 и пример 4.2.

пример 1.1 и пример 1.2.

Циклический (имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоатаденозин-(3'→5')-фосфоротиоат)



30 мл безводного пиридина и 15 мл безводного триэтиламина добавляли к сырому 3'-TBS-имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоат-2'-TBS-аденозин-(3'→5')-фосфоротиоату (промежуточное соединение 1.8; 0.76 г). Полученный раствор концентрировали под сниженным давлением до приблизительно 5 мл общего объема с последующим одновременным добавлением тригидрофторида триэтиламина (3.590 мл, 21.7 ммоль) и 11 мл безводного триэтиламина. Этот раствор перемешивали при 50°C в течение 3,5 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакцию гасили посредством метокситриметилсилана (10 мл, 72.4 ммоль) и дополнительно перемешивали при комнатной температуре, чтобы потребить избыток HF. Через 30 мин все летучие компоненты выпаривали под сниженным давлением, после чего следовало окончательное совместное выпаривание с 50 мл безводного толуола под сниженным давлением. Остаток дополнительно сушили в вакууме с получением сырой смеси, содержащей пример 1.1 и пример 1.2.

Добавляли 65 мл воды и полученную суспензию помещали в ультразвуковую баню при комнатной температуре. Через 15 мин эту суспензию выливали в 60 мл хлороформа и органическую фазу отделяли. Эту экстракцию повторяли еще два раза с хлороформом. Объединенные органические фазы экстрагировали посредством 50 мл воды и объединенную водную фазу, содержащую продукт, фильтровали с помощью 0,45 мкм шприцевого фильтра Rotilabo®-СМЕ (внешний диаметр: 33 мм) для удаления компонентов в виде частиц. Раствор продукта разбавляли водой до 500 мл и наносили на анионообменную колонку Q Sepharose™ Fast Flow (40-165 мкм; 125×35 мм; -120 мл) Cl⁻-форма, предварительно регенерированную посредством 2 М хлорида натрия, и промывали водой. Колонку промывали водой (2 объема ко-

лонки) с последующим градиентом 0-1 М буфера бикарбоната триэтиламмония (TEAB, pH 7) в воде на 25 объемах колонки (длина волны детектирования 254 нм). Пример 1.1 и пример 1.2 элюировали в виде смеси изомеров с ~0.6 М TEAB. Фракции, содержащие продукт, осторожно концентрировали под сниженным давлением до конечного объема приблизительно 10 мл.

Разделение примера 1.1 (четвертое элюирование) и примера 1.2 (третье элюирование) осуществляли путем повторных полупрепаративных очисток ВЭЖХ с обращенной фазой. Раствор продукта наносили на колонку YMC*GEL ODS-A 12 нм (10 мкм; 250×16 мм; ~50 мл), предварительно уравновешенную посредством 4% ацетонитрила, 20 мм формиата триэтиламмония (TEAF, pH 6.8) в воде. Элюирование проводили ступенчатым градиентом 4, 6 и 20%-ным ацетонитрилом, 20 мм TEAF (pH 6.8) в воде.

Получение примера 1.1, натриевая соль ("четвертый элюированный диастереомер").

Обессоливание примера 1.1, соль TEA проводили при помощи препаративной жидкостной хроматографии среднего давления с обращенной фазой (MPLC). Раствор продукта (~40 мл) наносили на колонку Merck LiChroprep®RP-18 (15-25 мкм; 450×25 мм; ~220 мл), предварительно уравновешенную водой. Колонку промывали водой для удаления избытка буфера TEAF. После этого 2 % 2-пропанола в воде применяли для элюирования обессоленного примера 1.1. Содержащие продукт фракции частично концентрировали под сниженным давлением и затем наносили на катионообменную колонку SP Sepharose™ Fast Flow (45-165 мкм; 125×35 мм; ~120 мл) Na⁺-форма, предварительно регенерированную посредством 2 М хлорида натрия, и промывали водой. Колонку промывали водой до тех пор, пока больше не было обнаружено УФ-поглощения (длина волны детектирования 254 нм). Содержащие продукт фракции осторожно выпаривали под сниженным давлением и дополнительно сушили в вакууме с получением примера 1.1 в виде динатриевой соли.

ВЭЖХ (конфигурация A):

V_y=8.56 мин; ЭРИ-МС: 692 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, 318 К, 500 мкл (CD₃)₂SO+30 мкл D₂O) δ 8.70 (s, 1H), 8.63 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 6.07 (d, J=8.4 Гц, 1H), 5.91 (d, J=7.5 Гц, 1H), 5.07-4.99 (m, 2H), 4.95 (dd, J=7.5, 4.5 Гц, 1H), 4.44 (d, J=4.4 Гц, 1H), 4.33-4.21 (m, 3H), 4.05-3.93 (m, 1H), 3.92-3.77 (m, 2H) ч./млн.

³¹P ЯМР (162 МГц, D₂O): δ 52.4 (s, 1P), 55.3 (s, 1P) ч./млн.

Получение примера 1.2, натриевая соль ("третий элюирующий диастереомер").

Обессоливание и замену соли с TEA на натрий из примера 1.2, соль TEA осуществляли подобным образом, как описано для примера 1.1, соль TEA.

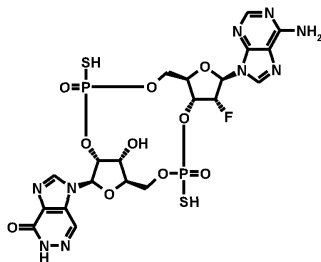
ВЭЖХ (конфигурация A):

V_y=7.75 мин; ЭРИ-МС: 692 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, 318 К, 500 мкл (CD₃)₂SO+30 мкл D₂O) δ 8.72 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 6.04 (d, J=8.4 Гц, 1H), 5.88 (d, J=8.2 Гц, 1H), 5.25 (dd, J=8.5, 4.4 Гц, 1H), 5.08 (ddd, J=11.2, 8.4, 4.5 Гц, 1H), 4.92 (dd, J=8.2, 4.3 Гц, 1H), 4.37-4.27 (m, 1H), 4.27-4.21 (m, 3H), 4.08 (dd, J=11.0, 4.2 Гц, 1H), 3.82-3.77 (m, 1H), 3.67-3.60 (m, 1H) ч./млн.

³¹P ЯМР (162 МГц, D₂O): δ 55.8 (s, 1P), 57.0 (s, 1P) ч./млн.

Примеры 2.1 и 2.2. Циклический (имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоат-2'-F-2'-деоксиаденозин-(3'→5')-фосфоротиоат



16 мг (19 мкмоль) промежуточного соединения 2.4-d добавляли к 1 мл безводного пиридина и 4 мл безводного ацетонитрила и растворитель подвергали азеотропному выпариванию в вакууме. Остаток два раза ресуспендировали в 10 мл безводного ацетонитрила и снова азеотропно выпаривали в вакууме. К остатку добавляли 80,7 мкл (1.0 ммоль) безводного пиридина и 168 мкл (1.2 мкмоль) TEA, прежде чем осторожно добавляли через шприц 103 мкл (0.63 ммоль) TEA*3HF. Полученную смесь перемешивали при 50°C в течение 90 мин. После охлаждения до комнатной температуры реакцию гасили путем добавления 20 мл водн. раствора карбоната триэтиламмония (конц.=1 моль/л). Полученную смесь перемешивали в течение еще 15 мин. при комнатной температуре. Смесь осторожно загружали на картридж Water Sep Pak C18 © (5 г C18-материал, предварительно кондиционированный сначала посредством 25 мл ацетонитрила и после этого посредством 25 мл воды) и промывали при помощи 60 мл воды. После этого продукт вымывали из картриджа с использованием 100 мл смеси ацетонитрил/триэтиламмония ацетат/вода (полученный путем добавления 1 мл водн. раствора ацетата триэтиламмония (конц.=1 моль/л) к 100 мл воды и 25 мл ацетонитрила). Содержащий фракции продукт объединяли, и растворитель удаляли

путем лиофилизации. Полученный продукт дополнительно очищали при помощи преп. ВЭЖХ (Atlantis C18; 20 мм водн. NH₄OAc/ацетонитрил=98/2→80/20). Затем растворитель удаляли сублимационной сушилкой, продукт растворяли в 2 мл воды и выливали на колонку Bio-Rad Spin (наполненную посредством 250 мг ВТ AG 50W-2 смолы 100-200 меш водородная форма, кондиционированной посредством 3 мл 1М водн. NaOH, и после этого промывали 6 мл воды, что дало pH~7)) и элюировали с 12 мл воды. Содержащие конечный продукт фракции объединяли и растворитель удаляли путем сублимационной сушки.

Пример 2.1.

ЖХ-МС (система С):

Ву=0.61 мин, ЭРИ-МС: 694 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, 303 К, D₂O) δ ч./млн. 8.73 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 6.40 (d, J=15.9 Гц, 1H), 6.26 (d, J=8.6 Гц, 1H), 5.55 (dd, J=51.1, 3.8 Гц, 1H), 4.83-4.99 (m, 2H), 4.75 (d, J=4.2 Гц, 1H), 4.65 (ddd, J=12.2, 9.0, 2.2 Гц, 1H), 4.53-4.59 (m, 2H), 4.43-4.48 (m, 1H), 4.16-4.24 (m, 2H).

³¹P ЯМР (162 МГц, D₂O): δ 55.7 (s, 1P), 52.2 (s, 1P) ч./млн.

Пример 2.2.

Пример 2.2 получали аналогично примеру 2.1, используя промежуточное соединение 2.4-с в качестве исходного вещества.

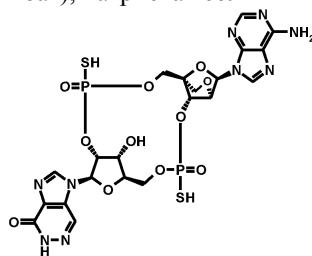
ЖХ-МС (система С):

Ву=0.30 мин, ЭРИ-МС: 694 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, 303K, D₂O) δ ч./млн. 8.80 (s, 1H), 8.55 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 6.44 (d, J=15.0 Гц, 1H), 6.28 (d, J=8.5 Гц, 1H), 5.54-5.73 (m, 1H), 4.99-5.10 (m, 2H), 4.64-4.70 (m, 1H), 4.58 (d, J=4.4 Гц, 1H), 4.52-4.57 (m, 2H), 4.37-4.45 (m, 1H), 4.22 (ddd, J=12.3, 3.5, 1.1 Гц, 1H), 4.08 (ddd, J=11.7, 3.6, 1.7 Гц, 1H).

³¹P ЯМР (162 МГц, D₂O): 55.5 (s, 1P), 55.9 (s, 1P) ч./млн.

Примеры 3.1 и 3.2. Циклический (имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоатаденин-(3'→5')-фосфоротиоат), натриевая соль



Примеры 3.1 и 3.2 получали аналогично примерам 2.1 и 2.2, используя промежуточное соединение 3.4-d (для примера 3-1) и 3.4-с (для примера 3-2) в качестве исходного вещества соответственно.

Пример 3.1.

ЖХ-МС (система Е):

Ву=0.37 мин, ЭРИ-МС: 704 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, 303 К, D₂O) δ ч./млн. 8.79 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 6.26 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.14 (s, 1H), 5.08 (s, 1H), 4.97 (ddd, J=9.6, 8.4, 4.4 Гц, 1H), 4.81 (d, J=5.4 Гц, 1H), 4.82-4.70 (m, 3H), 4.55 (d, J=2.0 Гц, 1H), 4.35 (dd, J=11.9, 2.7 Гц, 1H), 4.25-4.16 (m, 3H), 4.08 (d, J=8.5 Гц, 1H).

³¹P ЯМР (162 МГц, D₂O): δ 56.0 (s, 1P), 53.0 (s, 1P) ч./млн.

Пример 3.2.

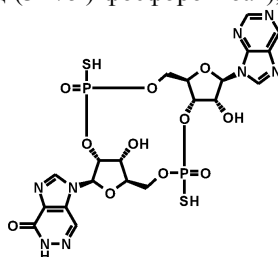
ЖХ-МС (система Е):

Ву=0.29 мин, ЭРИ-МС: 704 [M+H]⁺.

¹H ЯМР (400 МГц, 303 К, D₂O) δ ч./млн. 8.85 (s, 1H), 8.56 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 6.26 (d, J=8.4 Гц, 1H), 6.16 (s, 1H), 5.20 (s, 1H), 5.00 (ddd, J=13.0, 8.4, 4.5 Гц, 1H), 4.87 (d, J=5.0 Гц, 1H), 4.83-4.73 (m, 2H), 4.62 (d, J=4.5 Гц, 1H), 4.54-4.52 (m, 1H), 4.47 (dd, J=11.3, 5.0 Гц, 1H), 4.27-4.20 (m, 2H), 4.12 (dd, J=11.3, 3.1 Гц, 1H), 4.10 (d, J=8.5 Гц, 1H).

³¹P ЯМР (162 МГц, D₂O): 55.7 (s, 1P), 55.8 (s, 1P) ч./млн.

Примеры 4.1 и 4.2. Циклический (имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоатпури-β-D-рибофуранозид-(3'→5')-фосфоротиоат), натриевая соль



Примеры 4.1 и 4.2 получали аналогично примерам 1.1 и 1.2, используя промежуточное соединение 4.4-d и промежуточное соединение 4.4-с в качестве исходного вещества. В дополнение к процедуре, описанной для примеров 1.1 и 1.2, перед началом реакции исходное вещество один раз подвергали азеотропной перегонке с использованием смеси 2:1 безводного пиридина и безводного триэтиламина.

Пример 4.1.

ВЭЖХ (конфигурация В):

t_R =10.22 мин, ЭРИ-МС: 677 $[M+H]^+$.

1H ЯМР (400 МГц, 318 К, 500 мкл $(CD_3)_2SO$ +30 мкл D_2O) δ 9.16 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 6.06 (d, $J=8.3$ Гц, 1H), 6.06 (d, $J=7.4$ Гц, 1H), 5.11-4.98 (m, 3H), 4.44 (d, $J=4.4$ Гц, 1H), 4.34-4.25 (m, 3H), 4.08-3.97 (m, 1H), 3.93-3.83 (m, 1H), 3.84-3.77 (m, 1H).

^{31}P ЯМР (162 МГц, D_2O): δ 55.3 (s, 1P), 52.6 (s, 1P) ч./млн.

Пример 4.2.

ВЭЖХ (конфигурация В):

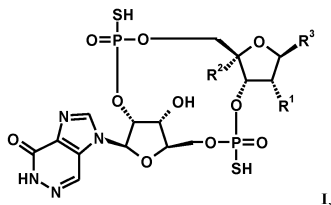
t_R =5.50 мин, ЭРИ-МС: 677 $[M+H]^+$.

1H ЯМР (400 МГц, 318 К, 500 мкл $(CD_3)_2SO$ +30 мкл D_2O) δ 9.16 (s, 1H), 8.94 (s, 1H), 8.82 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 8.59 (s, 1H), 6.04 (d, $J=8.5$ Гц, 1H), 6.03 (d, $J=8.1$ Гц, 1H), 5.30 (dd, $J=8.5$, 4.3 Гц, 1H), 5.09 (ddd, $J=11.3$, 8.4, 4.6 Гц, 1H), 5.01 (dd, $J=8.2$, 4.3 Гц, 1H), 4.45-4.32 (m, 1H), 4.32-4.19 (m, 3H), 4.13 (dd, $J=11.0$, 4.1 Гц, 1H), 3.84-3.75 (m, 1H), 3.71-3.61 (m, 1H).

^{31}P ЯМР (162 МГц, D_2O): δ 55.8 (s, 1P), 57.8 (s, 1P) ч./млн.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I



в которой

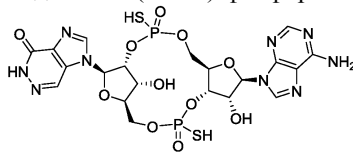
R^1 выбран из группы, включающей H, F, $-O-C_{1-3}$ алкил и OH, и

R^2 означает H или

R^2 означает $-CH_2-$ и R^1 означает $-O-$, образуя совместно $-CH_2-O-$ мостик, и

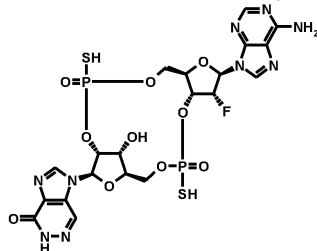
R^3 означает пуриновое азотистое основание, которое выбирают из группы, включающей пурин, аденин, гуанин, ксантин, гипоксантин, связанный через его N^9 азот, или его соль.

2. Соединение по п.1, представляющее собой циклический (имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2' $\rightarrow$ 5')-фосфоротиоат-аденозин-(3' $\rightarrow$ 5')-фосфоротиоат)



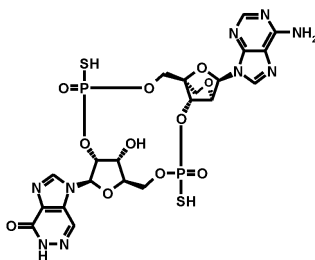
или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Соединение по п.1, представляющее собой циклический (имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2' $\rightarrow$ 5')-фосфоротиоат-2'-F-2'-деоксиаденозин-(3' $\rightarrow$ 5')-фосфоротиоат)



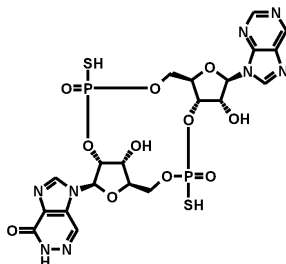
или его фармацевтически приемлемую соль.

4. Соединение по п.1, представляющее собой циклический (имидазопиридазинон- β -D-рибофуранозид-(2' $\rightarrow$ 5')-фосфоротиоат-аденин-(3' $\rightarrow$ 5')-фосфоротиоат)



или его фармацевтически приемлемую соль.

5. Соединение по п.1, представляющее собой циклический (имидазопиридазинон-β-D-рибофуранозид-(2'→5')-фосфоротиоат-пурин-β-D рибофуранозид-(3'→5')-фосфоротиоат)



или его фармацевтически приемлемую соль.

6. Соединение по любому из пп.1-5, которое находится в форме натриевой соли.

7. Соединение по любому из пп.1-5, которое представляет собой (Sp,Sp), (Rp,Rp), (Sp,Rp) или (Rp,Sp) стереоизомер.

8. Соединение по любому из пп.1-5, которое представляет собой (Rp,Rp) стереоизомер.

9. Фармацевтическая композиция, содержащая одно или большее количество соединений по любому из пп.1-5 совместно с одним или большим количеством инертных носителей и/или разбавителей.

10. Вакцина, содержащая соединение по любому из пп.1-5 в качестве адъюванта.

11. Способ лечения заболеваний или состояний, связанных с или модулированных посредством STING (стимулятора генов интерферона), выбранных из воспаления, аллергических заболеваний, аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний или рака, у нуждающегося в этом пациента, где способ включает введение пациенту соединения по любому из пп.1-5.

12. Применение соединения по любому из пп.1-5 в качестве адъюванта для вакцины.

13. Применение соединения по любому из пп.1-5 в качестве лекарственного средства для лечения заболеваний или состояний, связанных с или модулированных посредством STING, выбранных из воспаления, аллергических заболеваний, аутоиммунных заболеваний, инфекционных заболеваний или рака.

