

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038646**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.09.28

(21) Номер заявки
201990834

(22) Дата подачи заявки
2017.09.28

(51) Int. Cl. **C07D 405/12** (2006.01)
C07D 239/48 (2006.01)
C07F 9/24 (2006.01)
A61K 31/505 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(54) ПИРИМИДИНОВЫЕ ПРОЛЕКАРСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ И ДРУГИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(31) **16191568.1**

(32) **2016.09.29**

(33) **EP**

(43) **2019.08.30**

(86) **PCT/EP2017/074600**

(87) **WO 2018/060317 2018.04.05**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЯНССЕН САЙЕНСИЗ АЙРЛЭНД
АНЛИМИТЕД КОМПАНИ (IE)**

(56) DAVID MCGOWAN ET AL.: "Novel Pyrimidine Toll-like Receptor 7 and 8 Dual Agonists to Treat Hepatitis B Virus", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 59, no. 17, 8 September 2016 (2016-09-08), pages 7936-7949, XP055316160, US, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b00747, Scheme 3 and paragraph below Scheme 3; compound 34

WO-A1-2014053595

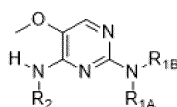
WO-A1-2012136834

WO-A1-2014053516

(72) Изобретатель:
**Мак Гоуен Дэвид Крейг, Херске
Флоранс Мари, Стопс Барт Хенри
Терезия, Эмбрехтс Вернер Констант
Йохан, Боллекенс Жак Арман Хенри
(BE), Гиллемон Жером Эмиль Жорж
(FR), Рабуассон Пьер Жан-Мари
Бернар, Йонкерс Тим Хьюго Мария
(BE), Кальмю Лоран Жак Эмиль (FR)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к соединению формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли и к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми эксципиентами, разбавителями или носителями. Изобретение также относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций, иммунных расстройств и онкологических заболеваний, а также к применению фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций, иммунных расстройств и онкологических заболеваний.



Соединение формулы (I)

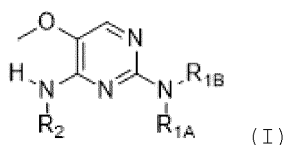
B1**038646****038646****B1**

Настоящее изобретение относится к производным пиримидинового пролекарства и применению этих производных пиримидинового пролекарства для лечения вирусных инфекций, иммунных расстройств и онкологических заболеваний или в качестве адъюванта вакцины, в тех случаях, когда требуется индуцирование иммунного ответа со стороны Т-хелпера 1-го типа (Th1).

Например, при лечении хронического гепатита типа В (HBV) ответ со стороны Th1 для активизации уже истощенных вирус-специфических клеток $CD8^+$ Т в инфицированных органах будет крайне полезен (Science 1999, 284, 825-829; J. Virol. 2003, 77, 68-76). Такой ответ индуцируется врожденной иммунной системой, в частности путем стимулирования толл-подобных рецепторов (TLR), таких как TLR3, 4, 7, 8 и 9 (Clin. Transl. Immunol. 2016, 5(5):e85). Агонисты TLR8 индуцируют один из наиболее сильных ответов со стороны Th1 в человеческих клетках за счет выработки IL-12p70 и повышения экспрессии CD40 или OX40L маркеров активации и опосредованно - IFN γ (J. Immunol. 2006, 176(12):7438-46; Hum Immunol. 2011 Jan; 72(1):24-31; J. Leukoc Biol. 2012, 91(1):105-17), которые продемонстрировали потенциальную возможность *ex vivo* в лечении хронической HBV (PLoS Pathog. 2013, 9, e1003208; J. Exp. Med. 2014, 211, 2047-2059; PLoS Path. 2013, 9, e1003490; PLoS Pathog. 2014, 10, e1004210).

В настоящее время только агонист TLR8, вводимый подкожно по онкологическим показаниям, находится в стадии развития (Clin. Cancer Res. 2014, 20, 3683; Cancer Immunother. 2013, 62, 1347; WO 2012/045089. См. также US 20080234251, US 20100029585). Поэтому по-прежнему существует настоятельная потребность в пероральных агонистах TLR8 для лечения инфекций, таких как хроническая HBV.

В соответствии с настоящим изобретением предложено соединение формулы (I),



или его фармацевтически приемлемая соль, где

R_{1A} выбирают из водорода, C_{1-3} алкила, гетероцикла или фосфорамидата,

R_{1B} выбирают из водорода, C_{1-3} алкила, гетероцикла или фосфорамидата,

при условии, что R_{1A} и R_{1B} одновременно не являются водородом, и где

R_2 представляет собой C_{1-8} алкил, замещенный гидроксильной группой, где гетероциклическая группа относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из тетрагидрофурана, тетрагидропирана, диоксана, азетидина, морфолина, пиперидина, пиперазина, пирролидина, тиоморфолина, диоксолинила и циклических сульфонов.

Настоящее изобретение касается композиции пролекарства фармацевтического соединения. Фармацевтическая композиция характеризуется биодоступностью примерно 50% или менее и молекулярным весом в интервале 100-1000 Да. Также описаны способ доставки фармацевтического соединения индивидууму, включающий стадию перорального введения указанного пролекарства индивидууму. Часть пролекарства присоединена к фармацевтическому соединению, где модификация позволяет ослабить потенциал агониста TLR8. Пролекарство ферментативно расщепляется до поступления в печень или уже в ней с получением фармацевтического соединения, таким образом, фармацевтическое соединение доставляется индивидууму с ограничением агонизма TLR8 до поступления в печень.

В первом варианте осуществления настоящего изобретения предложены соединения формулы (I), где R_{1A} и R_{1B} выбирают из водорода, C_{1-3} алкила, гетероцикла или фосфорамидата, при условии, что R_{1A} и R_{1B} одновременно не являются водородом, и где R_2 представляет собой C_{1-8} алкил, замещенный гидроксильной группой, где гетероциклическая группа относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из тетрагидрофурана, тетрагидропирана, диоксана, азетидина, морфолина, пиперидина, пиперазина, пирролидина, тиоморфолина, диоксолинила и циклических сульфонов.

Во втором варианте осуществления настоящего изобретения предложены соединения формулы (I), где R_{1A} и/или R_{1B} представляют собой фосфорамидат.

В еще одном варианте осуществления настоящего изобретения предложены соединения, где R_{1A} и/или R_{1B} представляют собой метил.

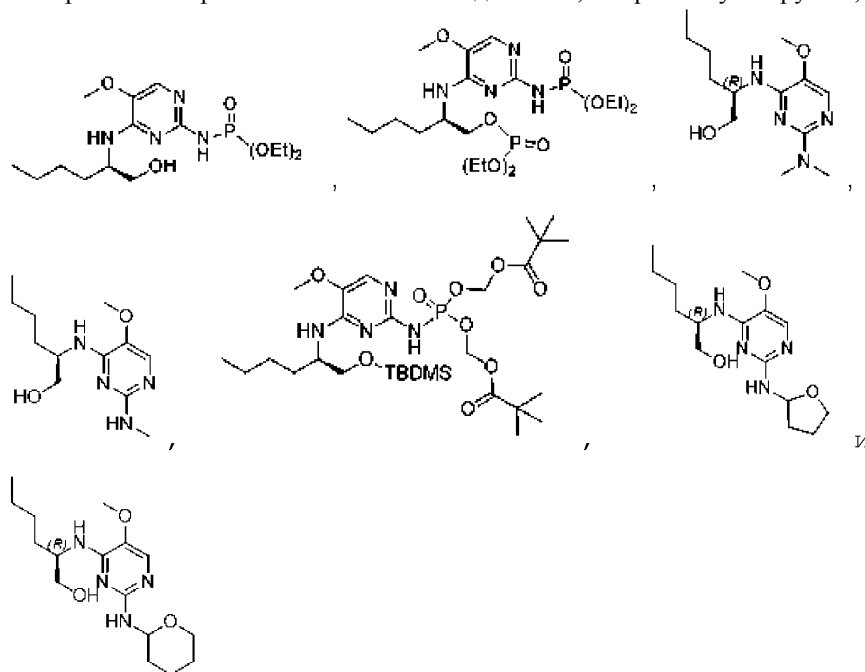
Соединения формулы (I) в любой стереохимической форме и их фармацевтически приемлемая соль обладают активностью в качестве фармацевтических препаратов, в частности индукторов интерферона.

В дополнительном аспекте в настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми формообразующими, разбавителями или носителями.

Кроме того, в еще одном аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций, иммунных расстройств и онкологических заболеваний.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций, иммунных расстройств и онкологических заболеваний.

В еще одном варианте изобретение относится к соединению, выбранному из группы, состоящей из



Термин "алкил" относится к насыщенному алифатическому углеводороду с неразветвленной цепью или разветвленной цепью, содержащему определенное количество атомов углерода.

"Гетероцикл" относится к молекулам, которые являются насыщенными или частично насыщенными и включают этилоксид, тетрагидрофуран, диоксан или другие циклические простые эфиры. Гетероциклы, содержащие азот, включают, например, азетидин, морфолин, пиперидин, пиперазин, пирролидин и т.п. Другие гетероциклы включают, например, тиоморфолин, диоксолинил и циклические сульфоны.

Фармацевтически приемлемые соли соединений формулы (I) включают их соли присоединения кислоты и соли оснований. Подходящие соли присоединения кислоты получают из кислот, образующих нетоксичные соли. Подходящие соли оснований получают из оснований, образующих нетоксичные соли.

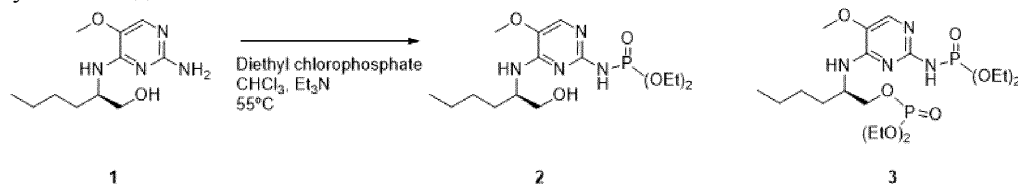
Соединения данного изобретения можно вводить в виде кристаллических или аморфных продуктов. Их можно получить, например, в виде твердых прессованных масс, порошков или пленок посредством таких способов как осаждение, кристаллизация, лиофильное высушивание, высушивание распылением или высушивание выпариванием. Их можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими соединениями данного изобретения или в комбинации с одним или несколькими другими лекарственными средствами. Как правило, они будут вводиться в виде состава в сочетании с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми формообразующими. Термин "формообразующее" используется в данном документе для описания любого ингредиента, отличного от соединения (соединений) данного изобретения. Выбор формообразующего в большой степени зависит от таких факторов как конкретный способ введения, влияние формообразующего на растворимость и стабильность и характера лекарственной формы.

Для целей введения, соединения настоящего изобретения или любая их подгруппа могут быть составлены в различные фармацевтические формы. В качестве подходящих композиций могут быть упомянуты все композиции, обычно применяемые для системно вводимых лекарственных средств. Для получения фармацевтических композиций данного изобретения эффективное количество конкретного соединения, необязательно в форме соли присоединения, в качестве активного ингредиента объединяют в однородную смесь с фармацевтически приемлемым носителем, при этом носитель может принимать широкое разнообразие форм в зависимости от формы препарата, требуемой для введения. Данные фармацевтические композиции предпочтительно представлены в виде стандартной лекарственной формы, подходящей, например, для перорального, ректального или чрескожного введения. Например, при получении композиций в пероральной лекарственной форме можно применять любую из общепринятых фармацевтических сред, такую как, например, вода, гликоли, масла, спирты и т.п., в случае пероральных жидких препаратов, таких как суспензии, сиропы, настойки, эмульсии и растворы; или твердых носителей, таких как крахмалы, сахара, каолин, разбавители, смазывающие средства, связывающие средства, разрыхлители и т.п., в случае порошков, пилюль, капсул и таблеток. Благодаря своей простоте введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее преимущественные стандартные лекарственные формы для перорального введения, в случае которых, несомненно, используют твердые фармацевтические носители. Также включены препараты в твердой форме, которые можно преобразовать в жидкие формы непосредственно перед применением. В композициях, подходящих для чрескожного введения, носитель

Специалисты в области лечения инфекционных заболеваний смогут определить эффективное количество, исходя из результатов тестов, представленных в данном документе далее. В целом, предполагается, что эффективное суточное количество будет составлять от 0,01 до 50 мг/кг массы тела, более предпочтительно от 0,1 до 10 мг/кг массы тела. Может оказаться целесообразным вводить требуемую дозу в виде двух, трех, четырех или более частей дозы с соответствующими интервалами в течение суток. Указанные части дозы можно составлять в виде стандартных лекарственных форм, например содержащих от 1 до 1000 мг, и в частности от 5 до 200 мг активного ингредиента в стандартной лекарственной форме.

Точная дозировка и частота введения зависят от конкретного применяемого соединения формулы (I), конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, подлежащего лечению, возраста, массы и общего физического состояния конкретного пациента, а также другого медикаментозного лечения, которое может получать индивидиум, как хорошо известно специалистам в данной области. Более того, очевидно, что эффективное количество может быть снижено или увеличено в зависимости от реакции получающего лечение субъекта и/или в зависимости от оценки врача, назначающего соединения данного изобретения. Следовательно, вышеупомянутые диапазоны эффективного количества являются только рекомендуемыми и не предназначены для ограничения объема или применения настоящего изобретения.

Получение соединений 2 и 3.

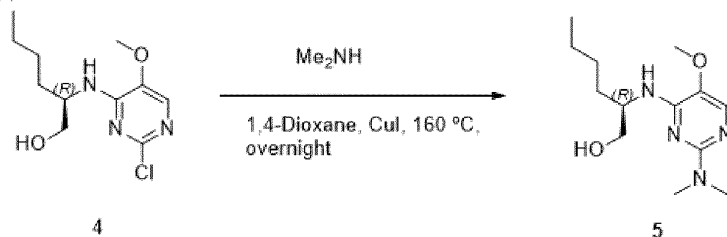


В закрытом сосуде к суспензии соединения 1 (синтез соединения 1 см. в WO 2012/136834) (0,5 г, 2,08 ммоль) в CHCl_3 (20 мл) по каплям добавляли диэтилхлорфосфат (0,3 мл, 2,08 ммоль) за 5 мин при комнатной температуре, а затем по каплям добавляли Et_3N (0,38 мл, 2,71 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 55°C . Растворитель удаляли при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали с помощью обращенно-фазовой хроматографии. Первая очистка (начиная с 95% $[0,1\% \text{HCOOH}]$ - 5% $[\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_3\text{OH} 1:1]$ и заканчивая 0% $[0,1\% \text{HCOOH}]$ - 100% $[\text{CH}_3\text{CN}:\text{CH}_3\text{OH} 1:1]$). Вторая очистка (начиная с 81% $[25 \text{ mM } \text{NH}_4\text{HCO}_3]$ - 19% $[100\% \text{CH}_3\text{CN}]$ и заканчивая 45% $[25 \text{ mM } \text{NH}_4\text{HCO}_3]$ - 55% $[100\% \text{CH}_3\text{CN}]$). Лучшие фракции объединяли и растворители удаляли, получая соединения:

2, LC-MS ES⁺ масса/заряд=377,1; Rt: 2,01 мин, метод А. $[\alpha]_D^{23} + 7,6$ (с 0,64, MeOH). Тпл. 161,4°C. ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ м.д. 0,91 (m, 3H), 1,26-1,43 (m, 10H), 1,57 (m, 1H), 1,67 (m, 1H), 3,60 (d, J= 5,1 Гц, 2H), 3,82 (s, 3H), 4,13 (m, 4H), 4,24 (m, 1H), 7,41 (s, 1H);

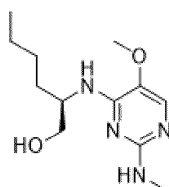
3, LC-MS ES⁺ масса/заряд=513,0; Rt: 2,49 мин, метод А. $[\alpha]_D^{23} +32,1$ (с 0,29, MeOH). ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ м.д. 0,91 (m, 3H), 1,22-1,44 (m, 16H), 1,68 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,98-4,24 (m, 10H), 4,41 (m, 1H), 7,46 (s, 1H).

Получение соединения 5.



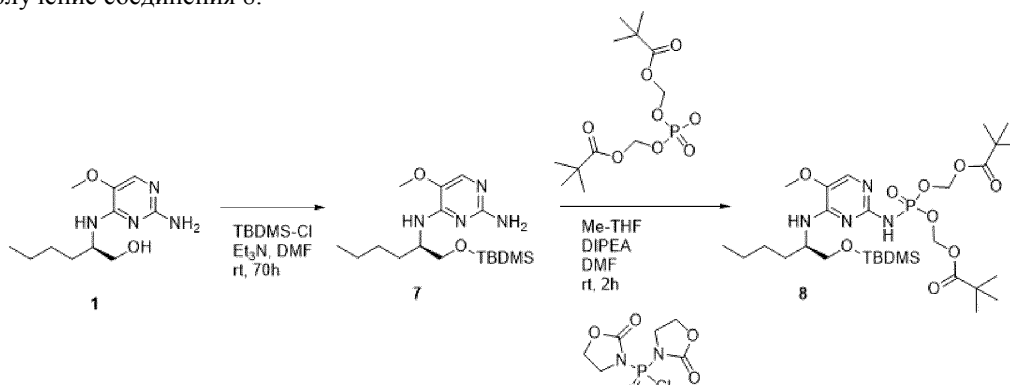
Водный раствор диметиламина (6,67 мл, 132,8 ммоль) и иодида меди (I) (19,28 мг, 0,13 ммоль) добавляли к раствору (R)-2-((2-хлор-5-метоксиимидин-4-ил)амино)гексан-1-ола (синтез см. в WO 2012/136834) (500 мг, 1,92 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл) в стальном реакторе. Реакционную смесь нагревали при 160°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали и фильтровали через подушку из Celite и растворитель упаривали досуха, получая неочищенный продукт, который очищали колоночной хроматографией на силикагеле с получением (R)-2-((2-(диметиламино)-5-метоксиимидин-4-ил)амино)гексан-1-ола (250 мг, 0,93 моль). LC-MS ES⁺ масса/заряд=269,1; Rt: 2,00 мин, метод А. ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ 0,90 (m, 3H), 1,25-1,47 (m, 4H), 1,58 (m, 1H), 1,67 (m, 1H), 3,05 (s, 6H), 3,61 (m, 2H), 3,77 (s, 3H), 4,21 (m, 1H), 7,35 (br s, 1H). [α]_D²³-8,25 (с 0,64, CH₃OH). Тпл. 86,1°C.

Получение соединения 6.



Соединение 6 получали аналогично процедуре приготовления соединения 5, за исключением того, что использовали метиламин. LC-MS ES⁺ масса/заряд=255,1; Rt: 1,85 мин, метод А. ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ м.д. 0,91 (m, 3H), 1,26-1,44 (m, 4H), 1,56 (m, 1H), 1,66 (m, 1H), 2,81 (s, 3H), 3,60 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 4,18 (m, 1H), 7,32 (br s, 1H). [α]_D²³+1,8 (с 0,59, CH₃OH). Тпл. 86,1°C.

Получение соединения 8.



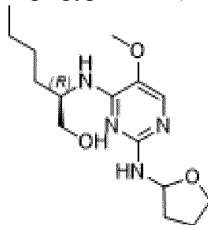
Стадия 1. Получение соединения 7 TBDMSCl (7,53 г; 49,9 ммоль) добавляли к раствору соединения 1 (10,0 г; 41,6 ммоль) и Et₃N (11,6 мл; 83,2 ммоль) в ДМФА (120 мл). Смесь перемешивали при к.т. в течение 70 ч. EtOAc и 10%-ный водн. NaHCO₃ выливали в раствор. Слои разделяли и органический слой промывали соляным раствором (дважды). Органический слой сушили над MgSO₄, твердые вещества отфильтровывали и растворитель из фильтрата удаляли при пониженном давлении, получая масло оранжевого цвета, которое очищали колоночной хроматографии на силикагеле, используя следующий градиент: от CH₂Cl₂ 100% до 90%, CH₃OH от 0 до 10% (с 5% водн. NH₃) с получением соединения 7 в виде бесцветного масла. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д. 0,01 (s, 6H), 0,80-0,88 (m, 12H), 1,17-1,34 (m, 4H), 1,45 (m, 1H), 1,61 (m, 1H), 2,48-2,52 (m, 12H), 3,49 (dd, J=10,00, 6,50 Гц, 1H), 3,58 (dd, J=10,00, 4,70 Гц, 3,66 (s, 3H), 4,09 (m, 1H), 5,44 (s, 2H), 5,84 (d, J=9,09 Гц, 1H), 7,37 (s, 1H). LC-MS ES⁺ масса/заряд=355, 1, Rt: 3,76, Метод: В). [α]_D²⁰+53,33 (с 0,3, ДМФА).

Стадия 2. В атмосфере N₂, хлорид бис(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфина (1,05 г, 4,11 ммоль) порциями добавляли к раствору ((гидроксифосфорил)бис(окси))бис(метилден)-бис(2,2-диметилпропаноату) (1,61 г, 4,93 ммоль) и диизопропилэтиламину (DIPEA) (2,83 мл, 16,4 ммоль) в безводном 2-метилтетрагидрофуран/ДМФА (20 мл /14,5 мл). Смесь перемешивали при к.т. в течение 2 ч.

Стадия 3. Затем вносили соединение 7 (729 мг; 2,06 ммоль) в безводном 2-метилтетрагидрофуране (17 мл) и реакционную смесь перемешивали при к.т. 2 ч. Реакционную смесь разбавляли, используя EtOAc и воду, органический слой промывали соляным раствором (дважды), сушили над MgSO₄, твердые

вещества отфильтровывали и растворитель из фильтрата удаляли при пониженном давлении, затем очищали колоночной хроматографией на силикагеле, используя подвижную фазу с градиентом: гептан/EtOAc (от 80/20 до 0/100) с получением 290 мг соединения 8 в виде бесцветного масла. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ м.д. 0,84 (t, J=6,82 Гц, 3H), 1,12 (s, 18 H), 1,18-1,34 (m, 4H), 1,41-1,65 (m, 2H), 3,42 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 4,03 (m, 1H), 4,61 (t, J=5,56 Гц, 1H), 5,60 (m, 4H), 6,44 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 8,77 (m, 1H). LC-MS ES $^+$ масса/заряд=547,6, Rt: 3,02, Метод: В.

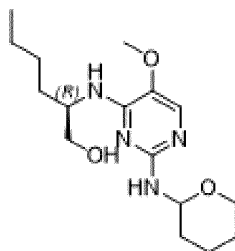
Получение (2R)-2-((5-метокси-2-((тетрагидрофуран-2-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)гексан-1-ола (9).



В колбу Шленка при комнатной температуре к смеси соединения 1 (4 г, 11,3 ммоль), 2,3-дигидрофурана (1031 мкл, 13,5 ммоль, 1,2 экв.) в безводном дихлорэтане (99 мл) добавляли смолу DOWEX(R) 50WX2 (100-200 меш) (один шпатель). Смесь перемешивали при 80°C в течение 20 ч. Добавляли дополнительное количество HCl (1М в воде) (688 мкл, 9,03 ммоль, 0,8 экв.) и реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 20 ч. Экстрагирование выполняли, используя CH $_2$ Cl $_2$ и воду, и слои разделяли. Органический слой сушили над MgSO $_4$, отфильтровывали и растворитель удаляли при пониженном давлении, получая указанное в заголовке соединение.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ м.д. 0,84 (t, J=6,57 Гц, 3H), 1,18-1,33 (m, 4 H), 1,46 (m, 1H), 1,58 (m, 1H), 1,74 (m, 2H), 1,96 (m, 2 H), 3,41 (m, 2 H), 3,61 (m, 1H), 3,64-3,73 (m, 4H), 4,04 (m, 1H), 4,65 (t, J=5,31 Гц, 1H), 5,73 (m, 1H), 6,00 (d, J=9,09 Гц, 1H), 6,54 (m, 1H), 7,42 (s, 1H). LC-MS ES $^+$ масса/заряд=311,3, Rt: 2,30, Метод: В).

Получение (2R)-2-((5-метокси-2-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)гексан-1-ола (10).



Соединение 10 получали согласно процедуре приготовления соединения 9, за исключением того, что использовали 3,4-дигидро-2H-пиран.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ м.д. 0,85 (m, 3H), 1,17-1,66 (m, 12H), 1,82 (br d, J=4,55 Гц, 1H), 3,35-3,50 (m, 3H), 3,70 (s, 3H), 3,77 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 4,66 (m, 1H), 5,01 (m, 1H), 6,02 (d, J=8,59 Гц, 1H), 6,46 (t, J=10,11 Гц, 1H), 7,43 (m, 1 H). LC-MS ES $^+$ масса/заряд=325,1, Rt: 2,45, Метод: В).

Аналитические методы

Код способа	Прибор	Колонка	Подвижная фаза	Градиент	Поток (мл/мин.)	Продолжительность анализа (мин)
					T (°C) колонки	
А	Agilent 1100 - DAD-MSD G1956A	YMC-Pack ODS-AQ C18 (50×4,6 мм, 3 мкм)	А: 0,1% HCOOH в H $_2$ O В: CH $_3$ CN	От 95% А до 5% А за 4,8 мин, удерживание в течение 1,0 мин, до 95% А за 0,2 мин.	2,6	6,0
					35	
В	Waters Acquity	BEH C18 (1,7 мкм, 2,1×100 мм)	А: 95% 7 мМ NH $_4$ OAc/5% CH $_3$ CN.	от 84,2% А и 15,8% В (удерживание в течение	0,343	6,07
					40	

			В: CH ₃ CN	0,49 мин) до 10,5% А и 89,5% В за 2,18 мин, удерживание в течение 1,94 мин, с возвращение м к начальным условиям через 0,73 мин, удерживание в течение 0,73 мин.		
--	--	--	-----------------------	--	--	--

Подтверждающие ADME данные.

Собственный клиренс (CL_{int}).

CL_{int} определяли в крысиных и человеческих микросомах печени. Инкубирование проводили при 37°C, с концентрацией соединения 1 µM и концентрацией микросомального белка, равной 1 мг/мл. Серийные образцы удаляли с интервалом вплоть до 60 мин и анализировали концентрацию соединения, чтобы определить собственный клиренс. Соединения инкубировали в крысиных и человеческих гепатоцитах (10⁶ клеток/мл) при 1 µM в течение 0, 10, 20, 40, 60 и 120 мин. Серийные образцы удаляли с интервалом вплоть до 120 мин и анализировали концентрацию соединения, чтобы определить присущую ему скорость клиренса.

Проницаемость и отток in vitro.

Проницаемость in vitro и потенциал для переноса Р-гликопротеином (Р-рр) определяли, используя клеточную линию, MDCK, трансфицированные человеческим MDR1 (Р-гликопротеином). Соединение добавляли к верхушечной (А) или базолатеральной (В) стороне слившегося монослоя клеток MDCK-MDR1. Проницаемость в направлении А→В в отсутствие или в присутствии GF 120918 и в направлении В→А в отсутствие GF 120918 измеряли путем наблюдения за появлением испытуемого соединения на противоположной стороне мембраны, используя специфический LC-MS/MS метод. Соотношение двусторонней проницаемости (оттока) (В→А - GF120918/А→В - GF120918) рассчитывали для того, чтобы определить, является ли испытуемое соединение субстратом для Р-рр.

Стабильность в плазме.

Стабильность в плазме измеряют в плазме крысы и человека в течение 7 или 24 ч при 37°C. Соединения инкубируют при концентрации 1 мкМ. Инкубирование выполняют вручную в 24-луночном планшете и отбирают серийные образцы (100 мкл) в различные моменты времени перед гашением ацетонитрилом.

Образцы анализировали методом LC-MS/MS (без внутреннего стандарта). Процентное содержание, остающееся в каждом из моментов времени, рассчитывали по отношению к средней площади под пиком образца с t=0. Время полувыведения (t_{1/2} в часах) вычисляли по этим данным.

Стабильность в SGF и стабильность в FASSIF.

Были измерены стабильность пролекарств в воспроизводимом желудочном соке (SGF) в присутствии пепсина и в воспроизводимом желудочном соке натошак (FASSIF), дополненном панкреатином и эстеразой. Испытуемые соединения инкубировали in vitro в продолжение 2 ч и образцы отбирали в разные моменты времени. Образцы анализировали на расхождение исходного соединения, используя метод LC-MS/MS. Процентное содержание, остающееся в каждом из моментов времени, рассчитывали по отношению к средней площади под пиком образца с t=0. Время полувыведения (t_{1/2} в часах) вычисляли по этим данным.

Фармакокинетика, измеренная на крысах.

Пролекарство вводили перорально крысам SD, используя водный раствор, в количестве, эквивалентном дозе 5 мг/кг. Пробы плазмы отбирали в различные моменты времени и анализировали концентрацию исходного соединения и пролекарства, используя LC-MS/MS. ФК параметры вычисляли, используя программу Phoenix WinNonlin 6.3. C_{max} (нг/мл) и AUC_(0-last) (нг·ч/мл) определяли как для пролекарства, так и для исходного вещества.

Таблица 1. Проницаемость в клеточной линии MDCK-MDR1

№ опыта	Эффективная проницаемость (Papp) A→B + GF120918	Эффективная проницаемость (Papp) A→B - GF120918	Соотношение двусторонней проницаемости B→A/A→B
2	1,6	0,4	54
3	1,6	<0,2	>61
5	47	20	3,2
6	27,5	6,8	10
8	10	<1	>43
10	17	1,8	33

Таблица 2. Собственный клиренс (CL_{int}) в микросомах печени и гепатоцитах

№ опыта	CL _{int} Микросомы печени крысы	CL _{int} Микросомы печени человека	CL _{int} гепатоциты крысы	CL _{int} гепатоциты человека
2	18	<7,7	20	<1,9
3	178*	297*	110	17
5	141	14	280	80
6	25	18	120	33
8	>347	н. о.	>280	>280
9	27	115	н. о.	н. о.
10	>347*	88-90	н. о.	н. о.

н.о. = не определяли,

*среднее данных в двух точках

Таблица 3. Стабильность в воспроизводимом желудочном соке (SGF) и воспроизводимом желудочном соке натошак (FASSIF) и стабильность в плазме крови крысы и человека

№ опыта	t _{1/2} SGF (ч)	t _{1/2} FASSIF (ч)	t _{1/2} плазма, крыса (ч)	t _{1/2} плазма, человек (ч)
2	>6	>6	>30	>30
3	>6	>6	>30	>30
5	>6	>6	>30	>30
6	>6	>6	>30	>30
8	3,9	0,1	<0,4	1
9	1	1,1	<0,4	<0,4
10	0,3	0,8	1,4	1,4

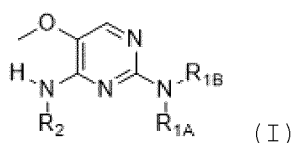
Таблица 4. Пероральное введение соединения 1 и пролекарства у крыс

№ опыта	C _{max} пролекарство	AUC _(0-last) пролекарство	C _{max} Соединение 1	AUC _(0-last) Соединение 1
1	н. п.	н. п.	177	486
2	1360	2567	BQL	BQL
5	88	144	37	60
6	129	206	47	114

н.п. = не применимо

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



или его фармацевтически приемлемая соль, где

R_{1A} выбирают из водорода, C₁₋₃ алкила, гетероцикла или фосфорамидата,R_{1B} выбирают из водорода, C₁₋₃ алкила, гетероцикла или фосфорамидата,

при условии, что R_{1A} и R_{1B} одновременно не являются водородом, и где

R_2 представляет собой C_{1-8} алкил, замещенный гидроксильной группой, где гетероциклическая группа относится к заместителю, выбранному из группы, состоящей из тетрагидрофурана, тетрагидропирана, диоксана, азетидина, морфолина, пиперидина, пиперазина, пирролидина, тиоморфолина, диоксолинила и циклических сульфонов.

2. Соединение согласно п.1, где R_{1A} и/или R_{1B} представляют собой фосфорамидат.

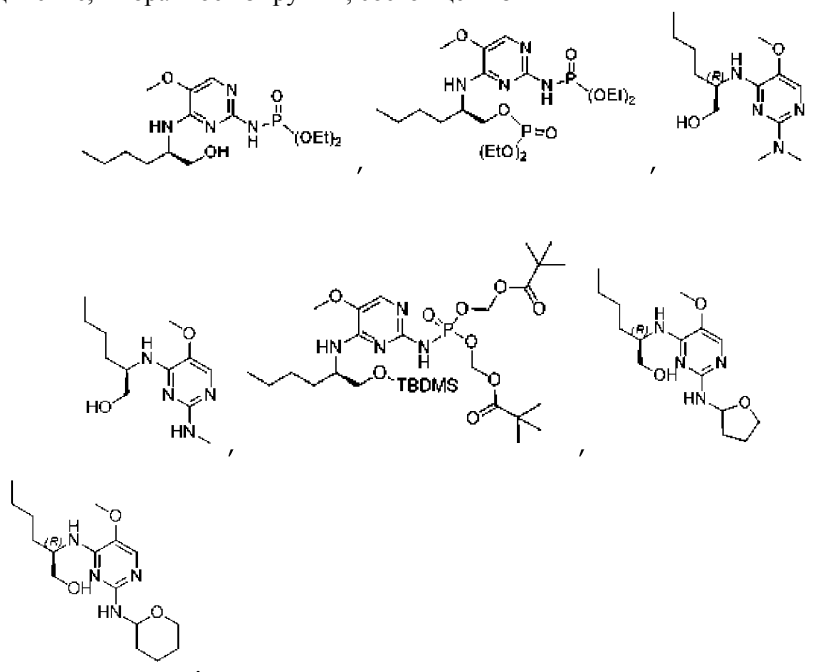
3. Соединение согласно п.1, где R_{1A} и/или R_{1B} представляют собой метил.

4. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль согласно любому из пп.1-3, вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми эксципиентами, разбавителями или носителями.

5. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли согласно любому из пп.1-3 в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций, иммунных расстройств и онкологических заболеваний.

6. Применение фармацевтической композиции согласно п.4 в качестве лекарственного препарата для лечения вирусных инфекций, иммунных расстройств и онкологических заболеваний.

7. Соединение, выбранное из группы, состоящей из



и



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2