

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **038805**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.10.21**

(21) Номер заявки  
**201991315**

(22) Дата подачи заявки  
**2017.12.01**

(51) Int. Cl. **C07H 21/00** (2006.01)  
**C07H 21/02** (2006.01)  
**A61K 31/7084** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

---

(54) **ЦИКЛИЧЕСКИЕ ДИНУКЛЕОТИДЫ В КАЧЕСТВЕ АГОНИСТОВ STING  
(СТИМУЛЯТОР ГЕНОВ ИНТЕРФЕРОНА)**

---

(31) **2016-234553; 2017-107216; 62/589,300**

(32) **2016.12.01; 2017.05.30; 2017.11.21**

(33) **JP; JP; US**

(43) **2019.12.30**

(86) **PCT/IB2017/057588**

(87) **WO 2018/100558 2018.06.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**ТАКЕДА ФАРМАСЬЮТИКАЛ  
КОМПАНИ ЛИМИТЕД (JP)**

(72) Изобретатель:  
**Йосикава Масато, Сайтох Морихиса,  
Като Таисуке, Йоситома Яйои, Секи  
Томохиро, Накагава Ясуо, Томинари  
Юсуке, Сето Масаки, Сасаки Юсуке,  
Оканива Масанори, Ода Цунео, Сибуй  
Акито, Хидака Косуке, Сиокава  
Дзениу, Мурата Сюмпей, Окабе  
Ацутоси, Накада Есихиса, Мотизуки**

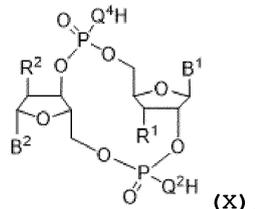
**Митийо (JP), Фриз Брайан Скотт  
(US), Тавараиси Таисуке, Вада  
Ясуфуми (JP), Гринспэн Пол Д. (US)**

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

(56) **WO-A1-2014189805  
WO-A1-2014179335  
WO-A1-2017027646  
WO-A1-2017161349  
WO-A1-2016096174**

**YAN H. ET AL.: "Synthesis and immunostimulatory properties of the phosphorothioate analogues of cdiGMP", BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, PERGAMON, AMSTERDAM, NL, vol. 18, no. 20, 15 October 2008 (2008-10-15), pages 5631-5634, XP025562123, ISSN: 0960-894X, DOI: 10.1016/J.BMCL.2008.08.088 [retrieved on 2008-08-29] page 5632; compounds 7a, 7b**

(57) В описании предложено соединение, обладающее агонистической активностью STING, которое, как можно ожидать, будет пригодным в качестве средства для профилактики или лечения заболеваний, связанных со STING. Данное изобретение относится к соединению, представленному формулой (X)



где каждый символ является таким, как определено в описании, или его солью, к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (X), а также к способу лечения рака, включающему введение соединения формулы (X).

**B1****038805****038805 B1**

### Область техники, к которой относится изобретение

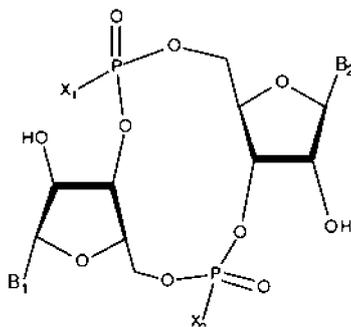
В данном описании предложен циклический динуклеотид, имеющий агонистическую активность STING (гены, стимулированные интерфероном), который может быть пригоден в качестве агента для профилактики или лечения рака и других заболеваний.

### Уровень техники

STING представляет собой рецептор, распознающий нуклеиновую кислоту, отличную от TLR (толл-подобный рецептор). Примеры распознаваемого природного лиганда включают в себя циклические динуклеотиды (CDN), полученные из бактерий/простейших, 2',3'-цГМФ, синтезированные вышестоящим cGAS (циклическая ГМФ-АМФ синтаза) и т.п. (Trends in Immunology 35:88-93 (2014)). Сообщается, что 2',3'-цГМФ, который является одним из природных лигандов, разлагается с помощью ENPP1 (экто-нуклеотидпирофосфатаза/фосфодиэстераза), которая является одной из пирофосфатаз/фосфодиэстераз, и что другие CDN разлагаются фосфодиэстеразой (Nat. Chem. Biol. 10:10431048 (2014); Cell. Res. 25:539-550 (2015); Biochemistry 55:837-849 (2016)). STING активируется данными природными лигандами и индуцирует фосфорилирование TBK1 (TANK-связывающей киназы 1) в нисходящем направлении по ходу транскрипции и активирует сигнал IRF3 (регуляторный фактор интерферона 3) и сигнал NFκB в дальнейшем нисходящем направлении, и, таким образом, индуцирован ответ типа интерферона I (IFN) ответ (Trends in Immunology 35:88-93 (2014)). Важность сигнала STING при раке указывается с помощью теста с использованием нокаутированной мыши. Сообщается, что у мышей с аллотрансплантатом опухоли, при использовании нокаутированных мышей для STING и его нижестоящего сигнала, IRF3, раковые клетки растут путем подавления раковой иммунной системы по сравнению с мышами дикого типа. (Immunity 41: 830-842 (2014)). Кроме того, также сообщается, что рост раковых клеток у мышей с аллогенным трансплантатом опухоли подавляется лучевой терапией, но у нокаутированных мышей для STING и IFNAR1 (интерферон (α и β) рецептор 1, рецептор IFN типа I, продуцируемый нисходящим сигналом), эффект от лучевой терапии уменьшается (Immunity 41:843-852 (2014)). По этим причинам считается, что STING играет важную роль в подавлении роста раковых клеток, а активация иммунного сигнала, который индуцируется активацией STING, приводит к противораковой активности. Следовательно, агонист STING может быть использован в качестве противоопухолевого средства, нацеленного на иммунитет против рака. Кроме того, считается, что активация STING играет важную роль в иммунном действии вакцины, поскольку активация активировать естественный иммунитет (Ther Adv Vaccines 1:131-143 (2013)). Следовательно, агонист STING может использоваться в качестве адьюванта для различных вакцин.

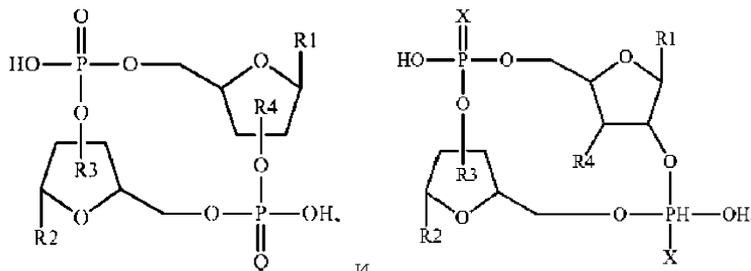
Известны следующие циклические нуклеотиды.

В патентном документе 1 (WO 2014/093936) описано соединение, представленное следующей формулой:



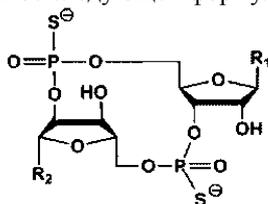
причем каждый символ является таким, как определено в патенте 1, который в соответствии с патентным документом 1 является STING-зависимым активатором TBK1 и пригоден для лечения рака (особенно солидного рака) и т.п. и также пригоден в качестве адьюванта.

В патентном документе 2 (WO 2014/189805) описано соединение, представленное следующей формулой:



причем каждый символ является таким, как определено в патентном документе 2, который согласно патентному документу 2 является иммуностимулятором через STING и пригоден для лечения рака и т.п.

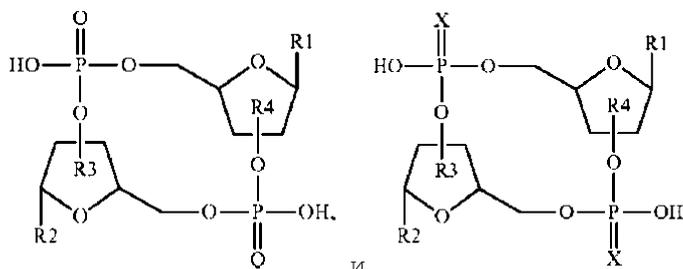
В патентном документе 3 (WO 2015/077354) и непатентном документе 8 (Cell reports 11, 1018-1030 (2015)) описано соединение, представленное следующей формулой:



причем каждый символ является таким, как определено в патентном документе 3, который согласно патентному документу 3 является агонистом STING и пригоден для лечения рака и т.п.

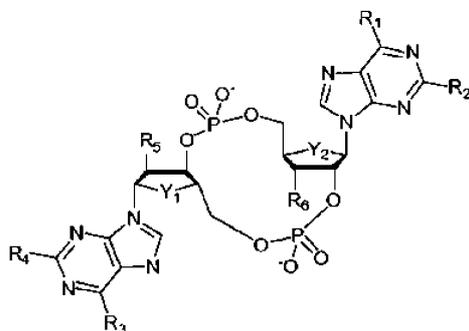
В патентном документе 4 (WO 2013/185052) и непатентном документе 9 (Sci. Transl. Med. 283, 283ra52 (2015)) описано ц-ди-АМФ, ц-ди-ГМФ, ц-ди-ИМФ, ц-АМФ-ГМФ, ц-АМФ-ИМФ и ц-ГМФ-ИМФ, которые согласно патентному документу 4 являются STING-зависимыми активаторами ТВК1.

В патентном документе 5 (WO 2014/189806) описано соединение, представленное следующей формулой:



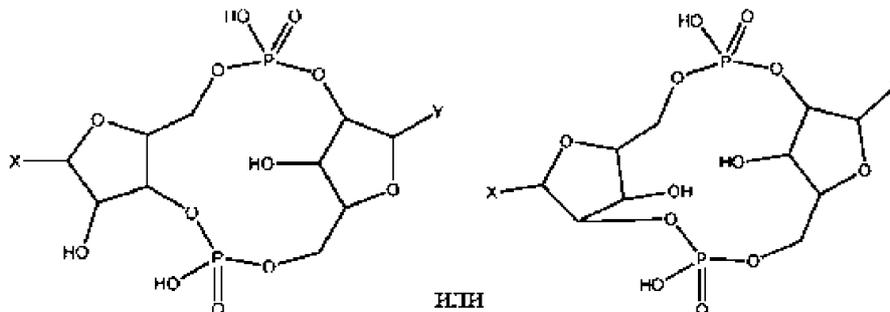
где каждый символ такой, как определено в патентном документе 5, который в соответствии с патентным документом 5 ингибирует STING-зависимую трансдукцию сигнала и пригоден для лечения аутоиммунного заболевания и т.п.

В патентном документе 6 (WO 2015/185565) описано соединение, представленное следующей формулой:



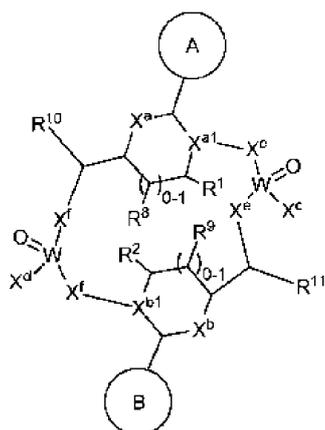
где каждый символ является таким, как определено в патентном документе 6, который согласно патентному документу 6 является модулятором STING и пригоден для лечения воспаления, аллергического аутоиммунного заболевания, рака и т.п., а также пригоден в качестве адьюванта вакцины.

В патентном документе 7 (WO 2014/179760) описано соединение, представленное следующей формулой:



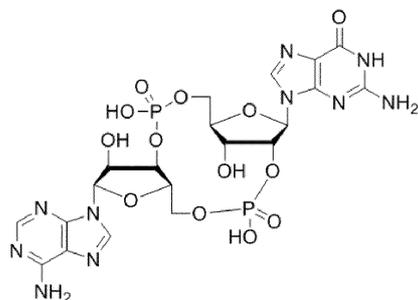
где каждый символ такой, как определено в патентном документе 7, который в соответствии с патентным документом 7 может увеличивать выработку интерферона типа I и пригоден для лечения рака, аутоиммунного заболевания, аллергической реакции и т.п., а также пригоден в качестве адьюванта.

В патентном документе 8 (WO 2014/179335) и непатентном документе 10 (Mol. Cell 154, 748-762 (2013)) описано соединение, представленное следующей формулой:



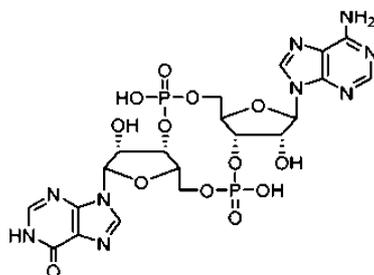
причем каждый символ такой, как определено в патентном документе 8, которое в соответствии с патентным документом 8 может увеличивать выработку интерферона типа I и пригоден для лечения заболеваний, характеризующихся воспалением, аутоиммунным заболеванием, синдромом Шегрена и т.п.

В патентном документе 9 (WO 2015/017652) описано соединение, представленное следующей формулой:



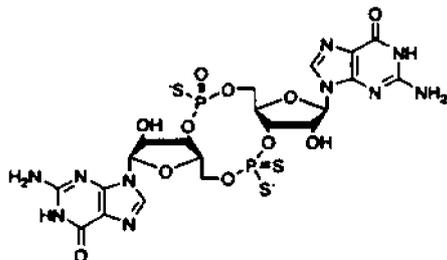
которое в соответствии с патентным документом 9 является модулятором STING, пригодно для лечения рака, аутоиммунного заболевания и т.п., а также пригодно в качестве вакцины.

В патентном документе 10 (WO 2016/096577) описано соединение, представленное следующей формулой:



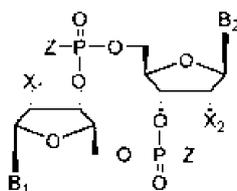
которое в соответствии с патентным документом 10 является агонистом STING, и пригодно для лечения рака (особенно солидного рака поджелудочной железы) и т.п.

В патентном документе 11 (WO 2011/003025) описано соединение, представленное следующей формулой:



которое в соответствии с патентным документом 11 является агонистом STING.

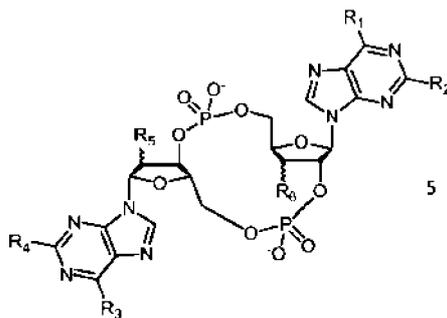
В патентном документе 12 (WO 2016/096174) описано соединение, представленное следующей формулой:



Формула (I)

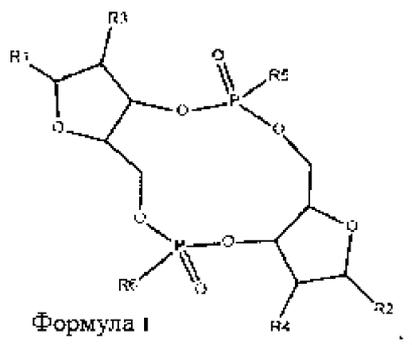
которое в соответствии с патентным документом 12 является агонистом STING.

В патентном документе 13 (WO 2016/120305) описано соединение, представленное следующей формулой:



которое в соответствии с патентным документом 13 является агонистом STING.

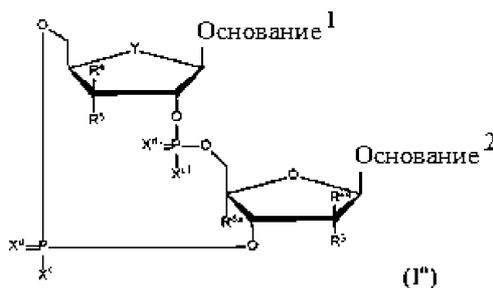
В патентном документе 14 (WO 2016/145102) описано соединение, представленное следующей формулой:



Формула I

причем каждый символ является таким, как определено в патентном документе 14, которое в соответствии с патентным документом 14 является агонистом STING.

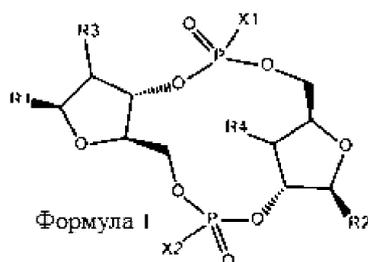
В патентном документе 15 (WO 2017/027646) описано соединение, представленное следующей формулой:



(I'')

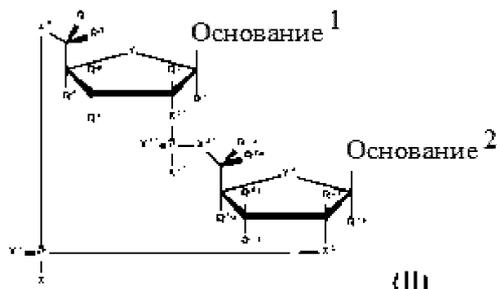
причем каждый символ является таким, как определено в патентном документе 15, которое в соответствии с патентным документом 15 является агонистом STING.

В патентном документе 16 (WO 2017/075477) описано соединение, представленное следующей формулой:



причем каждый символ является таким, как определено в патентном документе 16, которое в соответствии с патентным документом 16 является агонистом STING.

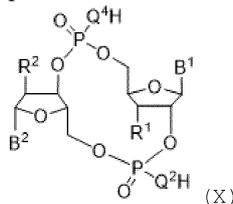
В патентном документе 17 (WO 2017/027645) описано соединение, представленное следующей формулой:



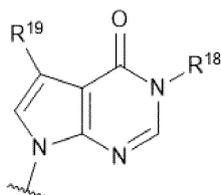
причем каждый символ является таким, как определено в патентном документе 17, которое в соответствии с патентным документом 17 является агонистом STING.

#### Краткое описание сущности изобретения

В одном аспекте в данном описании предложено соединение, представленное формулой (X)



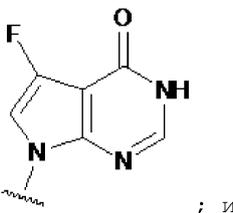
где  $Q^2$  и  $Q^4$ , каждый независимо, представляют собой атом кислорода или атом серы,  
 $B^1$  представляет собой



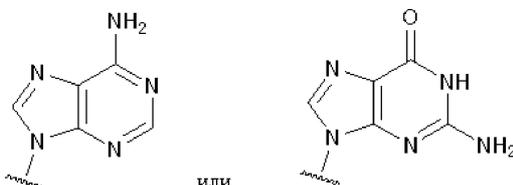
$R^{18}$  представляет собой водород или  $C_{1-6}$ алкил; и

$R^{19}$  представляет собой атом галогена или его соль.

В другом аспекте в данном описании предложено соединение, представленное формулой (I),  
 где  $B^1$  представляет собой



$B^2$  представляет собой



В другом аспекте в данном описании предложено лекарственное средство, содержащее соединение или соль формулы (X).

В другом варианте реализации изобретения лекарственное средство является агонистом STING. В другом варианте реализации изобретения лекарственное средство представляет собой средство для профилактики или лечения рака.

В другом аспекте в данном описании предложен способ активации STING у млекопитающего, который включает в себя введение млекопитающему эффективного количества соединения формулы (X) или его соли.

В другом аспекте в данном описании предложен способ профилактики или лечения рака у млекопитающего, который включает в себя введение млекопитающему эффективного количества соединения формулы (X) или его соли.

В другом аспекте в данном описании предложено соединение формулы (X) или его соль для применения в профилактике или лечении рака.

В другом аспекте в данном описании предложено применение соединения формулы (X) или его соли для производства агента для профилактики или лечения рака.

#### Краткое описание графических материалов

Фиг. 1 представляет собой линейный график, иллюстрирующий высвобождение полезной нагрузки 1 из ADC1;

фиг. 2 - линейный график, иллюстрирующий высвобождение полезной нагрузки 1 из ADC2;

фиг. 3 - линейный график, иллюстрирующий высвобождение полезной нагрузки 2 из ADC3;

фиг. 4 - гистограмму, иллюстрирующую, что клетки HEK293, которые экспрессируют мишени поверхностного рецептора для ADC1, демонстрируют ожидаемое увеличение маркера фосфо-IRF3 (pIRF3) пути STING при обработке ADC1;

фиг. 5 - гистограмму, иллюстрирующую, что клетки HEK293, которые экспрессируют мишени поверхностного рецептора для ADC2, демонстрируют ожидаемое увеличение маркера фосфо-IRF3 (pIRF3) пути STING при обработке ADC2;

фиг. 6 - гистограмму, иллюстрирующую, что клетки HEK293, которые экспрессируют мишени поверхностного рецептора для ADC3, демонстрируют ожидаемое увеличение маркера фосфо-IRF3 (pIRF3) пути STING при обработке ADC3;

фиг. 7 - гистограмму, иллюстрирующую вестерн-блоттинг активации нижестоящего сигнального пути (TBK1 и IRF3) для соединения примера 14;

фиг. 8 - линейный график, иллюстрирующий противоопухолевую активность соединения из примера 3а на модели карциномы толстой кишки СТ-26 сингенных мышей;

фиг. 9 - линейный график, иллюстрирующий противоопухолевую активность соединения из примера 14 на модели карциномы толстой кишки СТ-26 сингенных мышей;

фиг. 10 - линейный график, иллюстрирующий противоопухолевую активность соединения из примера 3а на модели карциномы толстой кишки В16F10 сингенных мышей;

фиг. 11 - линейный график, иллюстрирующий противоопухолевую активность соединения из примера 14 на модели карциномы толстой кишки В16F10 сингенных мышей.

#### Подробное описание сущности изобретения

Данное описание подробно поясняется ниже.

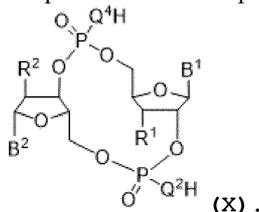
Определение каждого заместителя, используемого в данном описании, подробно описано ниже.

Если не указано иное, каждый заместитель имеет следующее определение.

В данном описании примеры "атома галогена" включают фтор, хлор, бром и йод.

В данном описании примеры "C<sub>1-6</sub>алкильной группы" включают метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, изопентил, неопентил, 1-этилпропил, гексил, изогексил, 1,1-диметилбутил, 2,2-диметилбутил, 3,3-диметилбутил и 2-этилбутил.

Соединение или его фармацевтически приемлемая соль формулы (X)



Вариант реализации изобретения 1. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где R<sup>1</sup> представляет собой гидроксигруппу.

Вариант реализации изобретения 2. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, где R<sup>1</sup> представляет собой атом фтора.

Вариант реализации изобретения 3. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1, 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где R<sup>2</sup> представляет собой гидроксильную группу.

Вариант реализации изобретения 4. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1,

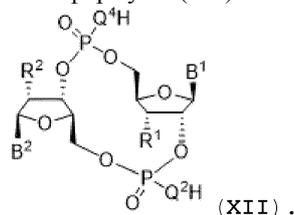
2 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^2$  представляет собой атом фтора.

Вариант реализации изобретения 5. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $Q^4$  представляет собой атом серы.

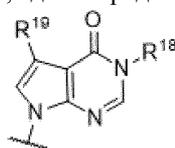
Вариант реализации изобретения 6. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-5 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $Q^2$  представляет собой атом кислорода.

Вариант реализации изобретения 7. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-5 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $Q^2$  представляет собой атом серы.

Вариант реализации изобретения 8. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-7 или его фармацевтически приемлемая соль формулы (XII)



Вариант реализации изобретения 9. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-8 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $B^1$  представляет собой

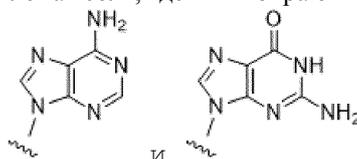


Вариант реализации изобретения 10. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^{19}$  представляет собой атом фтора.

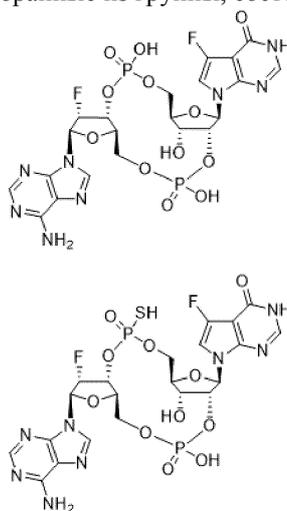
Вариант реализации изобретения 11. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-10 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^{18}$  представляет собой водород.

Вариант реализации изобретения 12. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-10 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^{18}$  представляет собой метил.

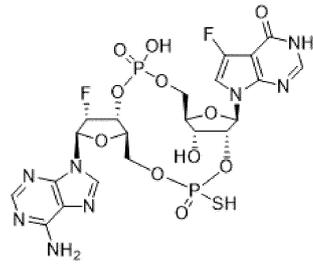
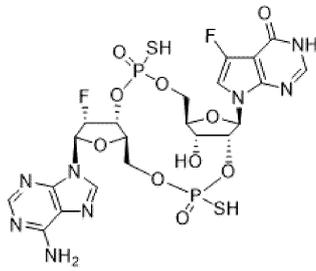
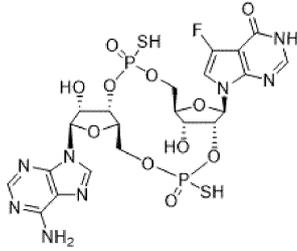
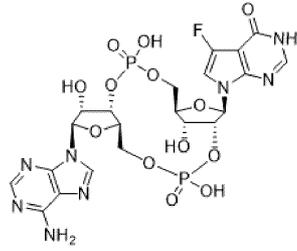
Вариант реализации изобретения 13. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-12 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $B^2$  выбирают из группы, состоящей из

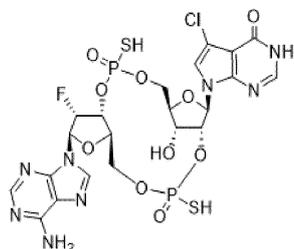
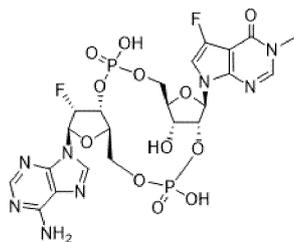
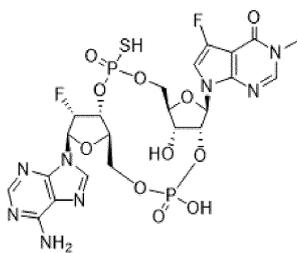
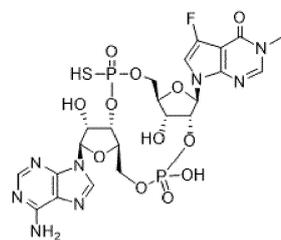
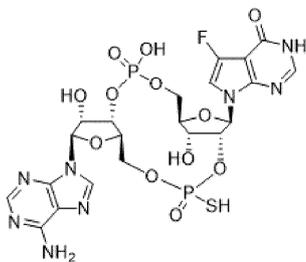
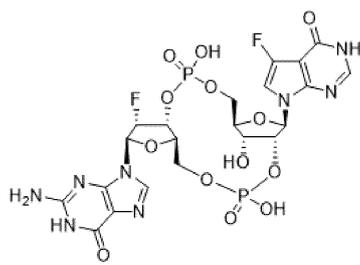


Вариант реализации изобретения 14. Соединение по варианту реализации изобретения 1 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранные из группы, состоящей из



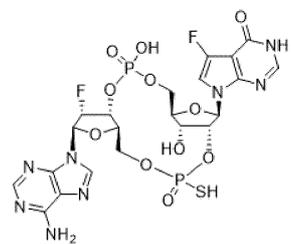
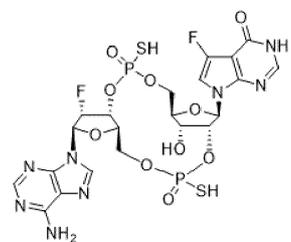
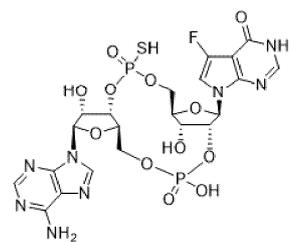
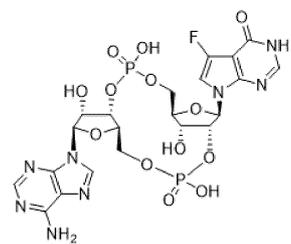
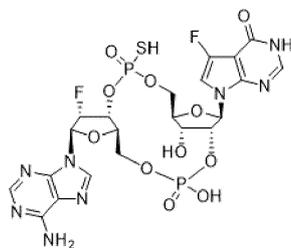
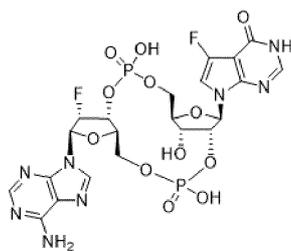
038805

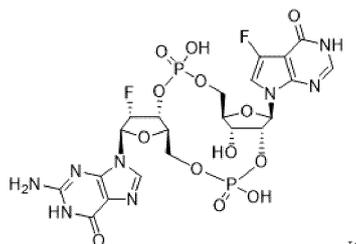




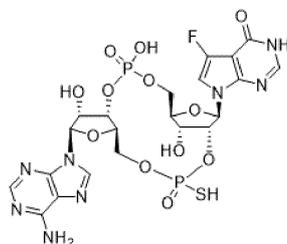
Вариант реализации изобретения 28. Соединение по варианту реализации изобретения 27 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранные из группы, состоящей из

038805

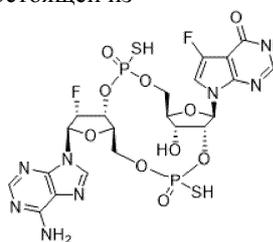
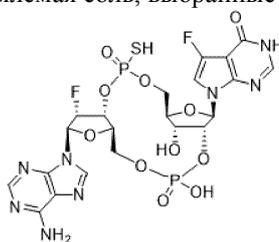




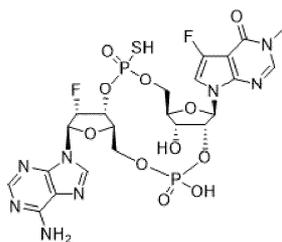
и



Вариант реализации изобретения 29. Соединение по варианту реализации изобретения 27 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранные из группы, состоящей из



и



Вариант реализации изобретения 30. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-29, отличающееся тем, что фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль триэтиламина или натриевую соль, например дитретиламиную соль или динатриевую соль.

Вариант реализации изобретения 31. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-30 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Вариант реализации изобретения 32. Способ лечения пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения по любому из вариантов реализации изобретения 1-30 или его фармацевтически приемлемой соли, отличающийся тем, что пациент имеет рак.

Вариант реализации изобретения 33. Способ по варианту реализации изобретения 32, отличающийся тем, что рак представляет собой любой один или более видов рака из табл. 7.

Вариант реализации изобретения 34. Способ по варианту реализации изобретения 32, отличающийся тем, что рак выбирают из группы, состоящей из солидной опухоли и лимфомы.

Вариант реализации изобретения 35. Способ по любому из вариантов реализации изобретения 32-34, дополнительно включающий введение терапевтически эффективного количества второго терапевтического агента, пригодного для лечения рака.

Вариант реализации изобретения 36. Фармацевтическая композиция по вариантам реализации изобретения 31 для применения в лечении рака.

Вариант реализации изобретения 37. Фармацевтическая композиция по варианту реализации изобретения 36, отличающаяся тем, что рак представляет собой любой один или более видов рака из табл. 7.

Вариант реализации изобретения 38. Фармацевтическая композиция по варианту реализации изобретения 37, отличающаяся тем, что рак выбирают из группы, состоящей из солидной опухоли и лимфомы.

Вариант реализации изобретения 39. Соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-30 или его фармацевтически приемлемая соль для применения в лечении рака.

Вариант реализации изобретения 40. Соединение по варианту реализации изобретения 39, отличающийся тем, что

чающееся тем, что рак представляет собой любой один или более видов рака из табл. 7.

Вариант реализации изобретения 41. Соединение по варианту реализации изобретения 40, отличающееся тем, что рак выбирают из группы, состоящей из солидной опухоли и лимфомы.

Вариант реализации изобретения 42. Применение соединения по любому из вариантов реализации изобретения 1-30 или его фармацевтически приемлемой соли для производства лекарственного средства для лечения рака.

Вариант реализации изобретения 43. Применение по варианту реализации изобретения 42, отличающийся тем, что рак представляет собой любой один или более видов рака из табл. 7.

Вариант реализации изобретения 44. Применение по варианту реализации изобретения 43, отличающийся тем, что рак выбирают из группы, состоящей из солидной опухоли и лимфомы.

Вариант реализации изобретения 45. Набор, дополнительно содержащий соединение по любому из вариантов реализации изобретения 1-30 или фармацевтически приемлемую соль и инструкции по введению соединения или его фармацевтически приемлемой соли пациенту больному раком.

Вариант реализации изобретения 46. Набор по варианту реализации изобретения 45, отличающийся тем, что рак представляет собой любой один или более видов рака из табл. 7.

Вариант реализации изобретения 47. Набор по варианту реализации изобретения 46, отличающийся тем, что рак выбирают из группы, состоящей из солидной опухоли и лимфомы.

Вариант реализации изобретения 48. Набор по любому из вариантов реализации изобретения 45-47, дополнительно содержащий один или более дополнительных терапевтических агентов.

Поскольку соединение (X) или его пролекарство (в данном описании иногда совместно обозначаемое как "соединение по данному изобретению") обладает агонистической активностью в отношении к STING, оно может быть пригодным в качестве агента для профилактики или лечения рака, ингибитора роста рака или ингибитора метастазирования рака.

Поскольку соединение по данному изобретению проявляет агонистическую активность по отношению к STING и превосходит его с точки зрения экспрессии эффективности, фармакокинетики (например, абсорбции, распределения, метаболизма, выделения), растворимости (например, растворимости в воде), взаимодействия с другими лекарственными средствами (например, ингибирующее действие при метаболизировании лекарственного средства), безопасности (например, острая токсичность, хроническая токсичность, генетическая токсичность, репродуктивная токсичность, кардиотоксичность, канцерогенность, центральная токсичность) и стабильности (например, химическая стабильность, стабильность к ферменту), оно может быть пригодным в качестве лекарственного средства.

Следовательно, соединение по данному изобретению может применяться для повышения активности STING у млекопитающего (например, мыши, крысы, хомяка, кролика, кошки, собаки, коровы, овцы, обезьяны, человека).

Соединение по данному изобретению может применяться в качестве лекарственного средства, такого как средство для профилактики или лечения заболеваний, на которые, возможно, влияет STING (в данном описании иногда сокращается как "заболевания, связанные с STING"), например, рак [например, разные виды рака толстой и прямой кишки (например, рак толстой и прямой кишки, рак прямой кишки, рак ануса, семейный рак толстой и прямой кишки, наследственный неполипозный рак толстой и прямой кишки, гастроинтестинальная стромальная опухоль), рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, злокачественная мезотелиома), мезотелиома, рак поджелудочной железы (например, протоковая карцинома поджелудочной железы, эндокринная опухоль поджелудочной железы), рак глотки, рак гортани, рак пищевода, рак желудка (например, папиллярная аденокарцинома, муцинозная аденокарцинома, железисто-плоскоклеточный рак), рак двенадцатиперстной кишки, рак тонкой кишки, рак молочной железы (например, инвазивная протоковая карцинома, неинвазивная протоковая карцинома, воспалительный рак молочной железы), рак яичников (например, рак эпителия яичников, опухоль внегонадных зародышевых клеток, опухоль яичниковых зародышевых клеток, опухоль яичника с низким злокачественным потенциалом), опухоль яичка, рак предстательной железы (например, гормонозависимый рак предстательной железы, негормонозависимый рак предстательной железы, кастрационно-резистентный рак предстательной железы), рак печени (например, гепатоцеллюлярный рак, первичный рак печени, рак внепеченочных желчных протоков), рак щитовидной железы (например, медуллярная карцинома щитовидной железы), рак почки (например, почечно-клеточный рак (например, светлоклеточный почечно-клеточный рак), переходно-клеточный рак почечной лоханки и мочеточника), рак матки (например, рак шейки матки, рак тела матки, саркома матки), гестационная хориокарцинома, опухоли головного мозга (например, медуллобластома, глиома, опухоли шишковидной железы, пилоцитарная астроцитиома, диффузная астроцитиома, анапластическая астроцитиома, аденома гипофиза), ретинобластома, рак кожи (например, базалиома, злокачественная меланома), саркомы (например, рабдомиосаркома, лейомиосаркома, саркома мягких тканей, саркома веретенообразных клеток), злокачественная опухоль кости, рак мочевого пузыря, рак крови (например, множественная миелома, лейкоз (например, острый миелогенный лейкоз), злокачественная лимфома, болезнь Ходжкина, хроническая миелопролиферативная болезнь), первичный рак неизвестного происхождения], ингибитор роста рака, ингибитор метастазирования рака, стимулятор апоптоза, средство для лечения предраковых поражений (например, миелодис-

пластические синдромы) и т.п.

В другом варианте реализации изобретения рак выбирают из любого одного или более видов рака из табл. 7.

Таблица 7

рак надпочечника	лимфоэпителиома
аденокарцинома	лимфома
акустическая шваннома	острый лимфобластный лейкоз
акральная лентигинозная меланома	острая миелоидная лейкемия
акроспирома	хронический лимфолейкоз
острый эозинофильный лейкоз	рак печени
острый эритроидный лейкоз	мелкоклеточный рак легкого
острый лимфобластный лейкоз	немелкоклеточный рак легкого
острый мегакариобластный лейкоз	MALT-лимфома
острый моноцитарный лейкоз	злокачественная фиброзная гистиоцитома
острый промиелоцитарный лейкоз	злокачественная опухоль оболочек периферических нервов
аденокарцинома	злокачественная тритон-опухоль
аденокистозная карцинома	лимфома из клеток мантийной зоны
аденома	В-клеточная лимфома маргинальной зоны
аденоматоидная одонтогенная опухоль	базофильный лейкоз
железисто-плоскоклеточный рак	медиастинальная эмбрионально-клеточная опухоль
неоплазма жировой клетчатки	медуллярный рак молочной железы,
адренкортикальная карцинома	медуллярный рак щитовидной железы
Тклеточный лейкоз/лимфома взрослого	медуллобластома
агрессивный НК-клеточный лейкоз	Меланома,
связанная со СПИДом лимфома	Менингиома,
альвеолярная рабдомиосаркома	рак из клеток Меркеля
альвеолярная саркома мягких тканей	мезотелиома
амелобластная фиброма	метастатическая уротелиальная карцинома
анапластическая крупноклеточная лимфома	мюллеровская смешанная опухоль
анапластический рак щитовидной	опухоль слизистой

железы	
ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома,	множественная миелома
ангиомиолипома	новообразование мышечной ткани
ангиосаркома	грибовидный микоз
астроцитомы	миксоидная липосаркома
атипичная тератоидно-рабдоидная опухоль	миксома
В-клеточный хронический лимфолейкоз	миксосаркома
В-клеточный пролимфоцитарный лейкоз	носоглоточная карцинома
В-клеточная лимфома	невринома
базальноклеточная карцинома	нейробластома
рак желчных протоков	нейрофиброма
рак мочевого пузыря	неврома
бластома	узелковая меланома
рак кости	глазной рак
опухоль Бреннера	олигоастроцитомы
опухоль Брауна	олигодендроглиома
лимфома Беркитта	бронхиогенная аденома
рак молочной железы	менингиома оболочки зрительного нерва
рак мозга	опухоль зрительного нерва
карцинома	рак ротовой полости
карцинома in situ	остеосаркома
карциносаркома	рак яичников
опухоль хряща	опухоль Панкоста
цементомы	папиллярный рак щитовидной железы
миелоидная опухоль	параганглиома
хондрома	пинеобластома
хордома	пинеоцитомы
хориокарцинома	питуицитомы

папиллома хориоидного сплетения	аденома гипофиза
светлоклеточная саркома почки	опухоль гипофиза
краниофарингеома	плазмоцитомы
кожная Т-клеточная лимфома	полиэмбриома
рак шейки матки	предшественник Т-лимфобластной лимфомы
рак толстой и прямой кишок	первичная лимфома центральной нервной системы
Дегоса синдром	первичная выпотная лимфома
десмопластическая мелкокруглоклеточная опухоль .	первичный перитонеальный рак
диффузная В-крупноклеточная лимфома	рак предстательной железы
дизэмбриопластическая нейроэпителиальная опухоль	рак поджелудочной железы
дистерминома	фарингеальный рак
эмбриональный рак	псевдомиксома брюшины
новообразования эндокринных желез	почечно-клеточная карцинома
опухоль эндодермального синуса	почечно-медуллярная карцинома
Т-клеточная лимфома, связанная с энтеропатией	ретинобластома
рак пищевода	рабдомиома
включенный плод	рабдомиосаркома
фиброма	трансформация Рихтера
фибросаркома	рак прямой кишки
фолликулярная лимфома	саркома
фолликулярный рак щитовидной железы	Шванноматоз
Ганглионеврома	семинома
рак желудочно-кишечного тракта	опухоль из клеток Сертоли
эмбрионально-клеточная опухоль	опухоль зародышевого шнура – гонадная опухоль
хориокарцинома матки	перстневидно-клеточный рак

гигантоклеточная фибробластома	рак кожи
гигантоклеточная опухоль кости	мелко-круглоклеточные синие опухоли
глиальная опухоль	мелкоклеточная карцинома
мультиформная глиобластома	саркома мягких тканей
глиома	соматостатинома
глиоматоз головного мозга	рак трубочистов
глиоканома	опухоль спинного мозга
дисгерминома	лимфома маргинальной зоны селезенки
фолликулома	сквамозная карцинома
гинандробластома	синовиальная саркома
карцинома желчного пузыря	заболевание Сезари
рак желудочно-кишечного тракта	рак тонкой кишки
волосатоклеточный лейкоз	плоскоклеточный рак
гемангиобластома	рак желудка
рак головы и шеи	T-клеточная лимфома
гемангиоперицитомы	рак яичек
гематологическая злокачественность	текома
гепатобластома	рак щитовидной железы
T-клеточная лимфома печени и селезенки	переходно-клеточный рак
лимфома Ходжкина	рак горла
неходжкинская лимфома	рак мочевого протока
инвазивный дольковый рак	рак мочеполовой системы
рак кишечника	уротелиальная карцинома
рак почки	увеальная меланома
рак гортани	рак матки
злокачественное лентиго	веррукозная карцинома
смертельная срединная карцинома	глиома зрительного пути
лейкоз	рак вульвы
опухоль из клеток Лейдига	рак влагалища
липосаркома	макроглобулинемия Вальденстрема
рак легкого	бронхиогенная лимфома
лимфангиома	опухоль Вильмса
лимфангиосаркома	

В другом варианте реализации изобретения рак представляет собой солидную опухоль или лимфому.

В частности, соединение по данному изобретению может применяться в качестве лекарственного средства для лечения рака толстой и прямой кишок, рака молочной железы, рака кожи, злокачественной лимфомы или рака легкого.

Соединение по данному изобретению могут вводить млекопитающему (предпочтительно людям) перорально или парентерально как оно есть или в смеси с фармакологически приемлемым носителем в качестве лекарственного средства.

Лекарственное средство, содержащее соединение по данному изобретению (в дальнейшем иногда его сокращают как "лекарственное средство по данному изобретению"), подробно поясняется ниже. Примеры лекарственной формы лекарственного средства по данному изобретению включают пероральные препараты, такие как таблетка (например, таблетка с сахарным покрытием, таблетка с пленочным

покрытием, подъязычная таблетка, защечная, распадающаяся во рту таблетка), пилюля, гранула, порошок, капсула (например, мягкая капсула, микрокапсула), сироп, эмульсия, суспензия, пленки (например, перорально распадающиеся пленки, пленка, связывающаяся со слизистой оболочкой полости рта) и т.п. Кроме того, примеры лекарственной формы лекарственного средства по данному изобретению включают препараты для парентерального введения, такие как инъекция, капельная инфузия, препарат трансдермального абсорбционного типа (например, препарат трансдермального абсорбционного типа для ионтофореза), суппозиторий, мазь, назальный препарат, легочный препарат, глазные капли и т.п.

Кроме того, лекарственное средство по данному изобретению может представлять собой препарат с контролируемым высвобождением, такой как препарат с немедленным высвобождением, препарат с замедленным высвобождением (например, микрокапсула с замедленным высвобождением) и т.п.

В качестве лекарственной формы лекарственного средства по данному изобретению также можно применять препарат наночастиц и препарат с использованием мембраны, полученной из бактерий.

Лекарственное средство по данному изобретению может быть приготовлено в соответствии со способом, известным *per se* (например, способом, описанным в Японской фармакопее и т.д.), обычно используемым в области приготовления. Кроме того, лекарственное средство по данному изобретению может содержать подходящее количество добавки, такой как эксципиент, связующее вещество, разрыхлитель, смазывающее вещество, подсластитель, поверхностно-активное вещество, суспендирующий агент, эмульгатор, краситель, консервант, ароматизатор, корректирующее вещество, стабилизатор, загуститель и т.п., обычно используемые в области приготовления при необходимости. Примеры фармакологически приемлемого носителя включают данные добавки.

Например, таблетка может быть приготовлена с использованием эксципиента, связующего вещества, разрыхлителя, смазывающего вещества и т.п., а таблетка или гранула может быть приготовлена с использованием эксципиента, связующего вещества и разрыхлителя. Порошок или капсула может быть приготовлена с использованием эксципиента и т.п., сироп может быть приготовлен с использованием подсластителя и т.п., а эмульсия или суспензия может быть приготовлена с использованием суспендирующего агента, поверхностно-активного вещества, эмульгатора и т.п.

Примеры эксципиента включают лактозу, сахарозу, глюкозу, крахмал, сахарозу, кристаллическую целлюлозу, порошкообразный корень солодки, маннит, гидрокарбонат натрия, фосфат кальция и сульфат кальция.

Примеры связующего содержат от 5 до 10 мас.% жидкой пасты из крахмала, от 10 до 20 мас.% раствора гуммиарабика или раствора желатина, от 1 до 5 мас.% раствора трагаканта, раствора карбоксиметилцеллюлозы, раствора альгината натрия и глицерина.

Примеры разрыхлителя включают крахмал и карбонат кальция.

Примеры смазывающего вещества включают стеарат магния, стеариновую кислоту, стеарат кальция и очищенный тальк.

Примеры подсластителя включают глюкозу, фруктозу, инвертный сахар, сорбит, ксилит, глицерин и простой сироп.

Примеры поверхностно-активного вещества включают лаурилсульфат натрия, полисорбат 80, сложный эфир сорбитана и моножирной кислоты и стеарат полиоксила 40.

Примеры суспендирующего агента включают гуммиарабик, альгинат натрия, карбоксиметилцеллюлозу натрия, метилцеллюлозу и бентонит.

Примеры эмульгатора включают гуммиарабик, трагакант, желатин и полисорбат 80.

Например, когда лекарственное средство по данному изобретению представляет собой таблетку, например, эксципиент (например, лактозу, сахарозу, крахмал), разрыхлитель (например, крахмал, карбонат кальция), связующее вещество (например, крахмал, гуммиарабик, карбоксиметилцеллюлозу, поливинилпирролидон, гидроксипропилцеллюлозу) или смазывающее вещество (например, тальк, стеарат магния, полиэтиленгликоль 6000) добавляют к соединению по данному изобретению, и смесь подвергают формованию прессованием в соответствии со способом, известным *per se*, и затем, при необходимости, на формованный продукт наносят покрытие в соответствии со способом, известным с целью маскировки вкуса, энтеросолюбильности или долговечности, с получением таблетки.

В качестве покрывающего агента для нанесения покрытия можно использовать, например, гидроксипропилметилцеллюлозу, этилцеллюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, полиоксиэтиленгликоль, твин 80, плуроник F68, ацетатфталат целлюлозы, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, ацетатсукцинат гидроксиметилцеллюлозы, Eudragit (сополимер метакриловой кислоты и акриловой кислоты, производство Rohm, Германия) и пигмент (например, красный оксид железа, диоксид титана).

Примеры инъекций включают внутривенную инъекцию, а также подкожную инъекцию, внутрикожную инъекцию, внутримышечную инъекцию, внутрибрюшинную инъекцию, капельную инъекцию и т.п.

Такие инъекции получают в соответствии со способом, известным *per se*, или путем растворения, суспендирования или эмульгирования соединения по данному изобретению в стерилизованной водной или масляной жидкости. Примеры водной жидкости включают физиологический раствор, изотонические

растворы, содержащие глюкозу или другие вспомогательные лекарственные средства (например, D-сорбит, D-маннит, хлорид натрия) и т.п. Водная жидкость может содержать подходящий солюбилизирующий агент, такой как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 80, HCO-50) и т.п. Примеры масляной жидкости включают кунжутное масло, соевое масло и т.п.

Масляная жидкость может содержать солюбилизирующий агент. Примеры солюбилизирующего агента включают бензилбензоат, бензиловый спирт и т.п. Кроме того, инъекция может быть смешана с буфером (например, фосфатный буфер, натрийацетатный буфер), успокаивающим агентом (например, хлорид бензалкония, гидрохлорид прокаина), стабилизатором (например, человеческий сывороточный альбумин, полиэтиленгликоль), консервантом (например, бензиловый спирт, фенол) и т.п. Полученная инъекция может быть, как правило, заполнена в ампулу.

Хотя содержание соединения по данному изобретению в лекарственном средстве по данному изобретению варьируется в зависимости от формы фармацевтического препарата, оно обычно составляет от около 0,01 до около 100 мас.%, предпочтительно от около 2 до около 85 мас.%, более предпочтительно от около 5 до около 70 мас.% по отношению ко всему препарату.

Хотя содержание добавки в лекарственном средстве по данному изобретению варьируется в зависимости от формы фармацевтического препарата, обычно оно составляет от около 1 до около 99,9 мас.%, предпочтительно от около 10 до около 90 мас.% по отношению ко всему препарату.

Соединение по данному изобретению является стабильным и малотоксичным, и его можно безопасно использовать. Хотя суточная доза соединения по данному изобретению варьируется в зависимости от состояния и массы тела пациентов, вида соединения, пути введения и т.п., в случае, например, перорального введения пациентам для лечения рака дневная доза для взрослого (масса тела около 60 кг) составляет от около 1 до около 1000 мг, предпочтительно от около 3 до около 300 мг, более предпочтительно от около 10 до около 200 мг соединения по данному изобретению, которое может быть введено однократно или по 2 или 3 порции в день.

Когда соединение по данному изобретению вводят парентерально, его обычно вводят в форме жидкости (например, инъекция). Хотя доза соединения по данному изобретению варьируется в зависимости от субъекта введения, органа-мишени, симптома, способа введения и т.п., она составляет, например, от около 0,01 до около 100 мг, предпочтительно от около 0,01 до около 50 мг, более предпочтительно от около 0,01 до около 20 мг по отношению к 1 кг массы тела, которую вводят путем внутривенной инъекции.

Соединение по данному изобретению может использоваться одновременно с другими лекарственными средствами.

Конкретно, соединение по данному изобретению может использоваться вместе с лекарственными средствами, такими как гормональные терапевтические агенты, химиотерапевтические агенты, иммуно-терапевтические агенты, медикаменты, ингибирующие действие факторов роста клеток или рецепторов факторов роста клеток и т.п.

Далее лекарственные средства, которые можно использовать в комбинации с соединением по данному изобретению, сокращенно обозначают как сопутствующие лекарственные средства.

Примеры "гормональных терапевтических агентов" включают фосфестрол, диэтилстилбестрол, хлортрианизен, медроксипрогестерон ацетат, мегестрол ацетат, хормадинон ацетат, ципротерон ацетат, даназол, аллилэстренол, гестринон, мепартрицин, ралоксифен, ормелоксифен, левормелоксифен, антиэстрогены (например, тамоксифен цитрат, торемифен цитрат), препараты в виде пилюль, мепитиостан, тетролактон, амиглютетимид, агонисты LH-RH (например, гозерелин ацетат, бусерелин, лейпрорелин, лейпрорелин ацетат), дролоксифен, эпитиостанол, этинилэстрадиол сульфат, ингибиторы ароматазы (например, гидрохлорид фадозола, анастрозол, ретрозол, экземестан, ворозол, форместан), антиандрогены (например, флутамид, бикартамид, нилутамид, энзалутамид), ингибиторы 5 $\alpha$ -редуктазы (например, финастерид, эпристерид, дутастерид), препараты гормонов коры надпочечников (например, дексаметазон, преднизолон, бетаметазон, триамцинолон), ингибиторы синтеза андрогена (например, абиратерон), ретиноид и препараты, которые замедляют метаболизм ретиноидов (например, лиарозол), гормон щитовидной железы и их препараты DDS (система доставки лекарств).

Примеры "химиотерапевтических агентов" включают алкилирующие агенты, антиметаболиты, противораковые антибиотики и противораковые агенты растительного происхождения.

Примеры "алкилирующих агентов" включают азотистый иприт, азотистый иприт-N-оксид гидрохлорид, хлорамбутил, циклофосфамид, ифосфамид, тиотепа, карбоквон, импросульфат тозилат, бусульфат, гидрохлорид нимустина, митобронитол, мелфалан, дакарбазин, ранимустин, натрия эстрамустин фосфат, триэтиленмеламин, кармустин, ломустин, стрептозоцин, пипоброман, этоглоцид, карбоплатин, цисплатин, мибоплатин, недаплатин, оксалиплатин, альтретамин, амбамустин, гидрохлорид дибросидия, фотемустин, преднимустин, пумитэпа, рибомустин, темозоломид, треосульфат, трофосфамид, зиностаин стимуламер, адозелезин, цистемустин, бизелезин и их препараты DDS.

Примеры "антиметаболитов" включают меркаптопурин, 6-меркаптопурин рибозид, тиоинозин, метотрексат, пеметрексед, эноцитабин, цитарабин, цитарабин оксфосфат, анцитабин гидрохлорид, лекарст-

венные средства 5-FU (например, фторурацил, тегафур, UFT, доксифлуридин, кармофур, галоцитабин, эмитефур, капецитабин), аминоптерин, нельзарабин, лейковорин-кальций, таблоид, бутоцин, фолинат кальция, левофолинат кальция, кладрибин, эмитефур, флударабин, гемцитабин, гидроксикарбамид, пентостатин, пиритрексим, идоксуридин, митогуазон, тиазорфин, амбамустин, бендамустин и их препараты DDS.

Примеры "противоопухолевых антибиотиков" включают актиномицин-D, актиномицин-C, митомицин-C, хромомицин-A3, блеомицин гидрохлорид, блеомицин сульфат, пепломицин сульфат, даунорубицин гидрохлорид, доксорубицин гидрохлорид, акларубицина гидрохлорид, пирарубицин гидрохлорид, эпирубицин гидрохлорид, неокарзиностатин, митрамицин, саркомицин, карцинофилин, митотан, зорубицин гидрохлорид, митоксантрон гидрохлорид, идарубицин гидрохлорид и их препараты DDS (например, включающую доксорубицин липосому ПЭГ).

Примеры "противоопухолевых агентов растительного происхождения" включают этопозид, этопозид фосфат, винбластин сульфат, винкристин сульфат, виндезин сульфат, тенипозид, паклитаксел, доцетаксел, кабазитаксел, винорелбин и их препараты DDS.

Примеры "иммунотерапевтических агентов (BRM)" включают в себя пицибанил, крестин, сизофиран, лентинан, убенимекс, интерфероны, интерлейкины, макрофагальный колониестимулирующий фактор, гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, эритропоэтин, лимфотоксин, вакцину БЦЖ, *Corynebacterium parvum*, левамизол, полисахарид К, прокодазол, антитела анти-CTLA4 (например, ипилимумаб, тремелиумаб), антитела анти-PD-1 (например, ниволумаб, пембролизумаб) и антитело анти-PD-L1.

Примеры "факторов роста клеток" в "лекарственных средствах, ингибирующих действие факторов роста клеток или рецепторов факторов роста клеток", включают любые вещества, способствующие пролиферации клеток, которые обычно представляют собой пептиды, имеющие молекулярные массы не более 20000, которые способны проявлять свою активность при низких концентрациях путем связывания с рецептором, в том числе (1) EGF (эпидермальный фактор роста) или вещества, обладающие, по существу, той же активностью, что и EGF [например, TGF $\alpha$ ], (2) инсулин или вещества, обладающие, по существу, той же активностью, что и инсулин [например, инсулин, IGF (инсулиноподобный фактор роста)-1, IGF-2], (3) FGF (фактор роста фибробластов) или вещества, обладающие, по существу, той же активностью, что и FGF [например, кислый FGF, основной FGF, KGF (фактор роста кератиноцитов), FGF-10], и (4) другие факторы роста клеток (например, CSF (колониестимулирующий фактор), EPO (эритропоэтин), IL-2 (интерлейкин-2), NGF (фактор роста нервов), PDGF (тромбоцитарный фактор роста), TGF $\beta$  (трансформирующий фактор роста  $\beta$ ), HGF (фактор роста гепатоцитов), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), херегулин, ангиопоэтин].

Примеры "рецепторов фактора роста клеток" включают любые рецепторы, способные связываться с вышеупомянутыми факторами роста клеток, включая рецептор EGF, рецептор херегулина (например, HER3), рецептор инсулина, рецептор IGF-1, рецептор IGF-2, рецептор FGF-1 или рецептор FGF-2, рецептор VEGF, рецептор ангиопоэтина (например, Tie2), рецептор PDGF и т.п.

Примеры "лекарств, ингибирующих действие факторов роста клеток или рецепторов факторов роста клеток" включают ингибитор EGF, TGF $\alpha$  ингибитор, ингибитор херегулина, ингибитор инсулина, ингибитор IGF, ингибитор FGF, ингибитор KGF, ингибитор CSF, ингибитор EPO, ингибитор IL-2, ингибитор NGF, ингибитор PDGF, TGF $\beta$  ингибитор, ингибитор HGF, ингибитор VEGF, ингибитор ангиопоэтина, ингибитор рецептора EGF, ингибитор HER2, ингибитор HER4, рецептора инсулина, ингибитор рецептора IGF-1, ингибитор рецептора IGF-2, ингибитор рецептора-1 FGF, ингибитор рецептора-2 FGF, ингибитор рецептора-3 FGF, ингибитор рецептора-4 FGF, ингибитор рецептора VEGF, ингибитор Tie-2, ингибитор рецептора PDGF, ингибитор Abl, ингибитор Raf, ингибитор FLT3, ингибитор c-Kit, ингибитор Src, ингибитор PKC, ингибитор Smo, ингибитор ALK, ингибитор ROR1, ингибитор Trk, ингибитор Ret, ингибитор mTOR, ингибитор Auroga, ингибитор PLK, ингибитор MEK (MEK1/2), ингибитор MET, ингибитор CDK, ингибитор Akt, ингибитор ERK, ингибитор PI3K и т.п.

Более конкретно, антитело анти-VEGF (например, бевацизумаб, рамуцизумаб), антитело анти-HER2 (например, трастузумаб, пертузумаб), антитело анти-EGFR (например, цетуксимаб, панитумумаб, матузумаб, нимотузумаб), антитело анти-HGF, иматиниб, эрлотиниб, гефитиниб, сорафениб, сунитиниб, дасатиниб, лапатиниб, ваталаниб, ибрутиниб, босутиниб, кабозантиниб, кризотиниб, алектиниб, висмодегид, акситиниб, мотесаниб, нилотиниб, 6-[4-(4-этилпиперазин-1-илметил)фенил]-N-[1(R)-фенилэтил]-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-амин (AEE-788), вандетаниб, темсиролимус, эверолимус, энзастаурин, тозасертиб, 2-[N-[3-[4-[5-[N-(3-фторфенил)карбамоилметил]-1H-пирозол-3-иламино]хиназолин-7-илокси]пропил]-N-этиламино]этил фосфат (AZD-1152), 4-[9-хлор-7-(2,6-дифторфенил)-5H-пиримидо[5,4-d][2]бензазепин-2-иламино]бензойная кислота, натриевая соль N-[2-метокси-5-(E)-2-(2,4,6-триметоксифенил)винилсульфонилметил]фенил]глицина (ON-1910Na), воласертиб, селуметиниб, траметиниб, N-[2(R),3-дигидроксипропокси]-3,4-дифтор-2-(2-фтор-4-иодфениламино)бензамид (PD-0325901), босутиниб, регорафениб, афатиниб, идеделалисид, Ceritinib, дабрафениб и т.п.

В дополнение к вышеупомянутым препаратам L-аспарагиназа, L-аргиназа, аргининдеиминаза,

ацеглатон, прокарбазин гидрохлорид, комплексная соль протопорфирин-кобальт, гематопорфирин ртути-натрий, ингибиторы топоизомеразы I (например, иринотекан, топотекан, индотекан, индимитекан), ингибиторы топоизомеразы II (например, собузоксан), индукторы дифференцировки (например, ретиноид, витамин D), другие ингибиторы ангиогенеза (например, хумагиллин, экстракт акулы), COX-2 ингибитор),  $\alpha$ -блокаторы (например, тамсулозин гидрохлорид), бисфосфонные кислоты (например, памидронат, золедронат), талидомид, леналидомид, помалидомид, азацитидин, децитабин, ингибиторы протеасомы (например, бортезомиб, карфилзомиб, иксазомиб), ингибиторы NEDD8 (например, певонедистат), ингибиторы UAE, ингибиторы PARP (например, олапариб, нирапариб, велипариб), противоопухолевые антитела, такие как анти-CD20-антитела (например, ритуксимаб, обинутузумаб), анти-CCR4-антитела (например, могамулизумаб) и т.п., конъюгаты антитело-лекарственное средство (например, трастузумаб эмтанзин, брентуксимаб ведотин) и т.п. также могут быть использованы в качестве сопутствующего лекарственного средства.

Объединяя соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство, может быть достигнут улучшенный эффект, такой как (1) доза может быть уменьшена по сравнению с однократным введением соединения по данному изобретению или сопутствующего лекарственного средства, (2) лекарственное средство, которое должно быть объединено с соединением по данному изобретению, может быть выбрано в соответствии с состоянием пациентов (легкий случай, тяжелый случай и т.п.), (3) период лечения может быть установлен дольше, (4) длительное лечение, эффект может быть запланирован, (5) синергетический эффект может быть достигнут при комбинированном использовании соединения по данному изобретению и сопутствующего препарата.

В данном описании соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство, используемое в комбинации, называют "комбинированным агентом по данному изобретению".

Для применения комбинированного агента по данному изобретению время введения соединения по данному изобретению и сопутствующего лекарственного средства не ограничено, и соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство могут быть введены субъекту введения одновременно или могут быть введены в разное время. При введении во временном интервале интервал различается в зависимости от эффективного компонента, который следует вводить, лекарственной формы и способа введения, и, например, когда сопутствующее лекарственное средство вводят первым, соединение по данному изобретению может быть введено в пределах временного диапазона, от 1 мин до 3 дней, предпочтительно от 10 мин до 1 дня, более предпочтительно от 15 мин до 1 ч после приема сопутствующего препарата. Когда соединение по данному изобретению вводят первым, сопутствующее лекарственное средство вводят в интервале времени от 1 мин до 1 дня, предпочтительно от 10 мин до 6 ч, более предпочтительно от 15 мин до 1 ч после введения соединения по данному изобретению. Дозировка сопутствующего лекарственного средства может быть определена в соответствии с клинически установленной дозой и может быть соответствующим образом выбрана в зависимости от субъекта введения, пути введения, заболевания, комбинации и т.п.

Примеры способа введения для комбинированного применения соединения по данному изобретению и сопутствующего лекарственного средства включают следующие способы.

(1) Соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство одновременно получают для получения одного препарата, который затем вводят.

(2) Соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство получают отдельно, чтобы получить два вида препаратов, которые вводят одновременно одним и тем же путем введения.

(3) Соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство получают отдельно, чтобы получить два вида препаратов, которые вводят в разное время одним и тем же путем введения.

(4) Соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство получают отдельно, чтобы получить два вида препаратов, которые вводят одновременно разными путями введения.

(5) Соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство получают отдельно для получения двух видов препаратов, которые вводят разными путями введения в разное время (например, соединение по данному изобретению и сопутствующее лекарственное средство вводят в этом порядке или в обратном порядке).

Доза сопутствующего лекарственного средства может быть надлежащим образом определена в соответствии с его клинической дозой, и соотношение соединения по данному изобретению и сопутствующего лекарственного средства может быть надлежащим образом определено в зависимости от субъекта введения, пути введения, целевого заболевания, симптома, комбинации и т.п. Например, когда субъектом введения является человек, сопутствующее лекарственное средство применяют в количестве от 0,01 до 100 мас.д. относительно 1 мас.д. соединения по данному изобретению.

Кроме того, соединение по данному изобретению или комбинированный агент по данному изобретению можно использовать одновременно с немедикаментозной терапией. Чтобы быть точным, соединение по данному изобретению или комбинированный агент по данному изобретению можно комбинировать с немедикаментозной терапией, такой как (1) хирургическое вмешательство, (2) гипертоническая

химиотерапия с использованием ангиотензина II и т.д., (3) генная терапия, (4) термотерапия, (5) криотерапия, (6) лазерное прижигание и (7) лучевая терапия.

Например, с применением соединения по данному изобретению или комбинированного агента по данному изобретению до или после вышеупомянутой операции и т.п. или до или после комбинированного лечения двух или трех его видов, наблюдаются такие эффекты, как предотвращение появления резистентности, продление безрецидивной выживаемости, подавление метастазирования или рецидива рака, продление жизни и т.п.

Кроме того, можно сочетать лечение с соединением по данному изобретению или с комбинированным агентом по данному изобретению с поддерживающей терапией [(i) введением антибиотика (например,  $\beta$ -лактаминового типа, такого как панспорин и т.п., макролидного типа, такого как кларитромицин и т.п.) для осложнений при различных инфекционных заболеваниях, (ii) введением высококалорийного переливания, препарата кислоты или общего витаминного препарата для улучшения недостаточности питания, (iii) введением морфина для уменьшения боли, (iv) введением фармацевтического средства для ослабления побочных эффектов, таких как тошнота, рвота, анорексия, диарея, лейкопения, тромбоцитопения, снижение концентрации гемоглобина, выпадение волос, гепатопатия, ренопатия, ДВС-синдром, лихорадка и т.п., (v) введением фармацевтического средства для подавления множественной лекарственной устойчивости рака и т.п.].

#### Примеры

Данное описание поясняется подробно со ссылкой на следующие примеры, экспериментальные примеры и примеры препаратов, которые не должны рассматриваться как ограничивающие, и описание может быть изменено в рамках объема данного описания.

В следующих примерах "комнатная температура" обычно означает от около 10 до около 35°C. Соотношения, указанные для смешанных растворителей, представляют собой объемные соотношения, если не указано иное. % означает мас.%, если не указано иное.

В колоночной хроматографии на силикагеле "Diol" означает использование силикагеля, связанного с 3-(2,3-дигидроксипропокси)пропилсиланом. В колоночной хроматографии на силикагеле и ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография) "C18" означает использование октадецилсвязанного силикагеля.

Соотношения элюирующих растворителей представляют собой объемные соотношения, если не указано иное.

Измерение методом ЖХ/МС проводили в следующих условиях [колонок: L-колонок 2 ODS, 3,0 мм I.D.  $\times$  50 мм, подвижная фаза: ацетонитрил/5 мМ буферный раствор ацетата аммония = 900/100].

В примерах используются следующие условные сокращения:

т.пл. - точка плавления,

МС - масс-спектр,

$[M+H]^+$ ,  $[M-H]^-$  - пик молекулярного иона,

M - молярная концентрация,

N - нормальный,

$CDCl_3$  - дейтерированный хлороформ,

$DMCO-d_6$  - дейтерированный диметилсульфоксид,

$D_2O$  - дейтерированная вода,

$^1H$  ЯМР - протонный ядерный магнитный резонанс,

$^{31}P$  ЯМР - фосфорный ядерный магнитный резонанс,

ЖХ/МС - жидкостная хроматография-масс-спектрометрия,

ИЭР - ионизация электроспреем,

APCI - химическая ионизация при атмосферном давлении,

ТГФ - тетрагидрофуран,

ДМФА - N,N-диметилформамид,

DXM - дихлорметан.

$^1H$  ЯМР и  $^{31}P$  ЯМР измеряли методом ЯМР с Фурье-преобразованием. Для анализа использовались ACD/SpecManager (торговое наименование) и т.п. Пики с очень подвижными протонами, такими как гидроксигруппа, аминогруппа и т.п., не описаны.

МС измеряли методом ЖХ/МС. В качестве метода ионизации использовался метод ИЭР или метод APCI. Данные указывают на фактическое измеренное значение (найдено). Обычно наблюдается пик молекулярного иона. В случае соединения, имеющего трет-бутоксикарбонильную группу, пик после удаления трет-бутоксикарбонильной группы или трет-бутильной группы может наблюдаться как фрагментарный ион. В случае соединения, имеющего гидроксигруппу, пик после удаления  $H_2O$  может наблюдаться в виде фрагментарного иона. В случае соли обычно наблюдается пик молекулярного иона или пик фрагментарного иона свободной формы.

Пример 1. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуор[3,2-I][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксида-



при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавили водой и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (1,1 г). МС: [МН] 700,2.

С) 7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3-О-(трет-бутил(диметил)силил)-2-О-((2-цианоэтокси)(диизопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3-О-(трет-бутил(диметил)силил)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (5,43 г) трижды подвергли азеотропной сушке с безводным толуолом и растворили в безводном ДМФА (15 мл). К раствору прибавили 3-((бис(диизопропиламино)фосфино)окси)пропаннитрил (3,19 мл), 1Н-тетразол (0,542 г) и 1-метил-1Н-имидазол (0,306 мл), перемешивали смесь в течение ночи в атмосфере аргона при комнатной температуре, вылили в насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом.

Органический слой последовательно промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (DIOL, этилацетат/гексан). Полученный сырой продукт снова очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан, содержащий 0,5% триэтиламина) с получением указанного в заголовке соединения (4,22 г) в виде смеси двух диастереомеров. МС: [М-Н] 901,2.

Д) (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтокси)фосфорил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

N-Бензоил-2'-дезоксид-2'-фтор-3'-О-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)аденозин (1,2 г) и 7-(5-О-([бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)]-3-О-([трет-бутил(диметил)силил)]-2-О-((2-цианоэтокси)(диизопропиламино)фосфино))-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (3,4 г) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и прибавили к нему безводный ацетонитрил (15 мл) и безводный ТГФ (5 мл). К смеси прибавили смесь 5-(этилсульфанил)-2Н-тетразола (1,07 г) (который подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом) и безводного ацетонитрила (10 мл) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при 55°C в течение 2 ч. К нему прибавили 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (1,12 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 20 мин. К реакционной смеси прибавили смесь тиосульфата натрия (5920 мг) и воды (3 мл), смесь концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили 80% уксусной кислоты (30 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 20 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (1,1 г). МС: [М+Н]<sup>+</sup> 952,2.

Е) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид.

(2R,3R,4R,5R)-5-(6-Бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтокси)фосфорил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (350 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином и прибавили к нему безводный пиридин (15 мл). К смеси прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид (238 мг) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавили к ней воду (232 мкл) и йод (121 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 20 мин. К реакционной смеси прибавили смесь пентагидрата тиосульфата натрия (91 мг) и воды (1 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 5 мин. Прибавили к ней толуол и концентрировали смесь при пониженном давлении. К остатку прибавили безводный ацетонитрил (15 мл) и 2-метилпропан-2-амин (5,26 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2 ч, концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (332 мг). МС: [М+Н]<sup>+</sup> 897,1.

Ф) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-16-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-15-фтор-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

К N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамиду (332 мг) прибавили 40% этанольный раствор метиламина (7,6 мл) и перемешивали смесь в

атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч, концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат), и полученный остаток очищали с помощью ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 мМ водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (106,4 мг). МС:  $[M+H]^+$  793,1.

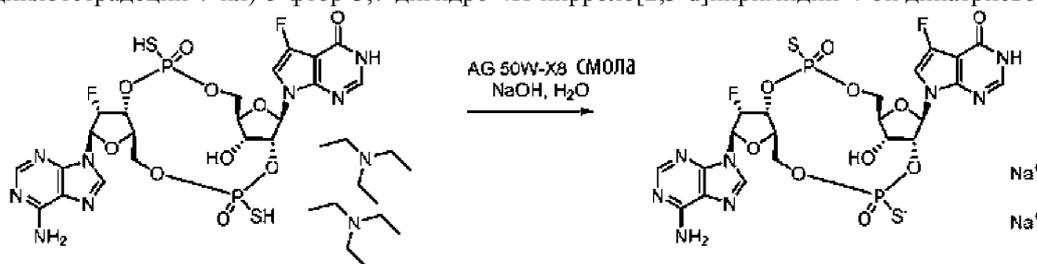
G) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфацикло-тетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль.

К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-16-((трет-бутил(диметил)сил)окси)-15-фтор-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфацикло-тетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (106,4 мг) прибавили тригидрофторид триэтиламина (1094 мкл). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 1 ч и охладили до комнатной температуры, прибавили к ней этокси(триметил)силан (6266 мкл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и к остатку прибавили этокси(триметил)силан (6266 мкл) и метанол (1 мл), перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на колонке C18 (ацетонитрил/10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония) с получением указанного в заголовке соединения (82 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,18 (18H, т,  $J=7,3$  Гц), 3,11 (12H, к,  $J=7,4$  Гц), 4,01-4,14 (2H, м), 4,17-4,26 (1H, м), 4,34 (2H, д,  $J=3,4$  Гц), 4,42-4,50 (1H, м), 4,54 (1H, д,  $J=4,2$  Гц), 4,86-4,99 (2H, м), 5,38-5,60 (1H, м), 6,30-6,45 (2H, м), 7,24 (1H, д,  $J=2,0$  Гц), 7,91 (1H, с), 8,05 (1H, с), 8,17 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (162 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -2,16, -1,66.

Пример 1а. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфацикло-тетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он динатриевой соли

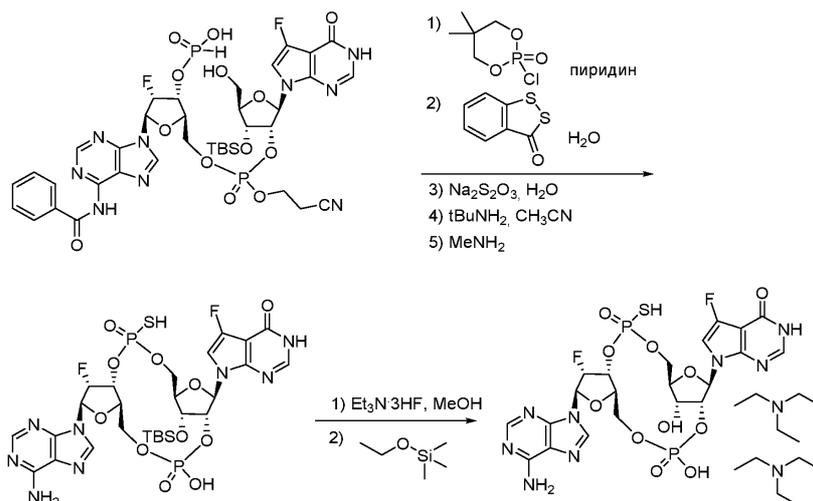


Деионизированную воду (480 мл) пропускали через колонку, приготовленную путем загрузки катионообменной смолы 50W-X8 AG (торговое наименование) (100-200 меш, 30 г) в пустую колонку. Затем через смолу пропустили 1М водный раствор гидроксида натрия (288 мл) и деионизированную воду (540 мл). Деионизированную воду (54 мл), содержащую 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфацикло-тетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она дитриэтиламинную соль (1,53 г) после вышеупомянутой предварительной обработки пропускали через смолу, и через смолу пропускали деионизированную воду (72 мл), полученный водный раствор подвергли лиофильной сушилке с получением указанного в заголовке соединения (1,28 г).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4,05-4,17 (2H, м), 4,20-4,28 (1H, м), 4,33-4,40 (2H, м), 4,44-4,51 (1H, м), 4,55 (1H, д,  $J=4,2$  Гц), 4,84-5,01 (2H, м), 5,39-5,61 (1H, м), 6,31-6,40 (2H, м), 7,25 (1H, д,  $J=2,0$  Гц), 7,91 (1H, с), 8,07 (1H, с), 8,18 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (121 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -2,2, -1,6.

Пример 2. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфацикло-тетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



А) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-16-((трет-бутил(диметил)сил)локси)-15-фтор-10-гидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (оптический изомер) (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(5-фтор-4-оксо-3H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4H)-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтокси)фосфорил)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (700 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином и прибавили к нему безводный пиридин (50 мл). К смеси при комнатной температуре прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (475 мг) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч. К ней прибавили воду (464 мкл) и 3H-бензо[с][1,2]дитиол-3-он (186 мг), перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. К реакционной смеси прибавили смесь тиосульфата натрия (913 мг) и воды (3 мл) и концентрировали смесь при пониженном давлении. К остатку прибавили безводный ацетонитрил (30 мл) и 2-метилпропан-2-амин (10 мл), перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) и к полученному остатку прибавили 40% этанольный раствор метиламина (7,3 мл). Смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 30 мин и концентрировали реакционную смесь при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). Полученный остаток разделили на два диастереомера (tR1 и tR2, время удерживания которых из ЖХ/МС от короткого до более длинного в указанном порядке) ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 мМ водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (70 мг, tR1) и указанного в заголовке соединения (150 мг, tR2). МС (tR1):  $[M+H]^+$  809,1. МС (tR2):  $[M+H]^+$  809,1.

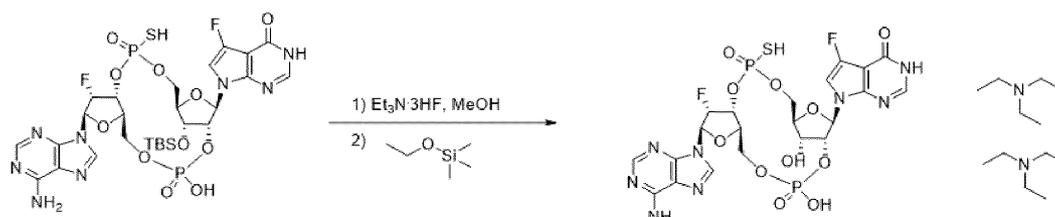
В) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-16-((трет-бутил(диметил)сил)локси)-15-фтор-10-гидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (оптический изомер) (70 мг, полученный из tR1) прибавили метанол (3,0 мл) и тригидротриэтиламина (1,41 мл). Реакционную смесь концентрировали для удаления метанола и перемешивали остаток при 55°C в течение 1 ч. Остаток охладили до комнатной температуры, прибавили к нему этокси(триметил)силан (7,8 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на колонке C18 (ацетонитрил/10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония) с получением указанного в заголовке соединения (56 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,23 (18H, т,  $J=7,3$  Гц), 3,15 (12H, к,  $J=7,3$  Гц), 4,15-4,23 (3H, м), 4,37-4,50 (2H, м), 4,54 (1H, д,  $J=10,3$  Гц), 4,61 (1H, д,  $J=3,9$  Гц), 4,96 (2H, дт,  $J=7,9, 3,9$  Гц), 5,77-5,95 (1H, м), 6,36 (1H, д,  $J=8,1$  Гц), 6,40 (1H, д,  $J=15,4$  Гц), 7,51 (1H, д,  $J=1,7$  Гц), 7,99 (2H, д,  $J=13,7$  Гц), 8,23 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (162 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -2,43, 54,03.

Пример 3. Синтез 7-((2R,5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он-1,7 триэтиламинной соли

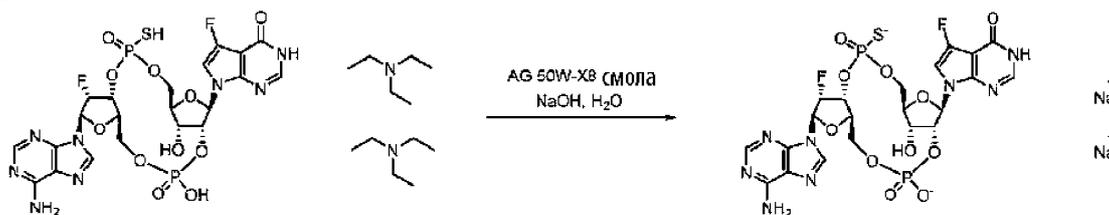


К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-16-((трет-бутил(диметил)сил)оксид)-15-фтор-10-гидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (оптический изомер) (150 мг, полученный из tR2) прибавили метанол (3,0 мл) и тригидрофторид триэтиламина (3,02 мл). Реакционную смесь концентрировали для удаления метанола и перемешивали остаток при 55°C в течение 1 ч. Остаток охладили до комнатной температуры, прибавили к нему этокси(триметил)силан (16,4 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и очищали остаток с помощью колоночной хроматографии на колонке C18 (ацетонитрил/10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония) с получением указанного в заголовке соединения (155 мг).

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,23 (15H, т, J=7,3 Гц), 3,15 (10H, к, J=7,3 Гц), 4,06 (1H, дд, J=11,7, 4,9 Гц), 4,18 (1H, дд, J=11,6, 2,8 Гц), 4,29-4,47 (3H, м), 4,51 (1H, д, J=8,8 Гц), 4,58 (1H, д, J=3,9 Гц), 4,93-5,14 (2H, м), 5,44-5,64 (1H, м), 6,33-6,45 (2H, м), 7,32 (1H, д, J=1,5 Гц), 7,95 (1H, с), 8,06 (1H, с), 8,24 (1H, с).

<sup>31</sup>P ЯМР (162 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -2,41, 55,33.

Пример 3а. Синтез 7-((2R,5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он динатриевой соли



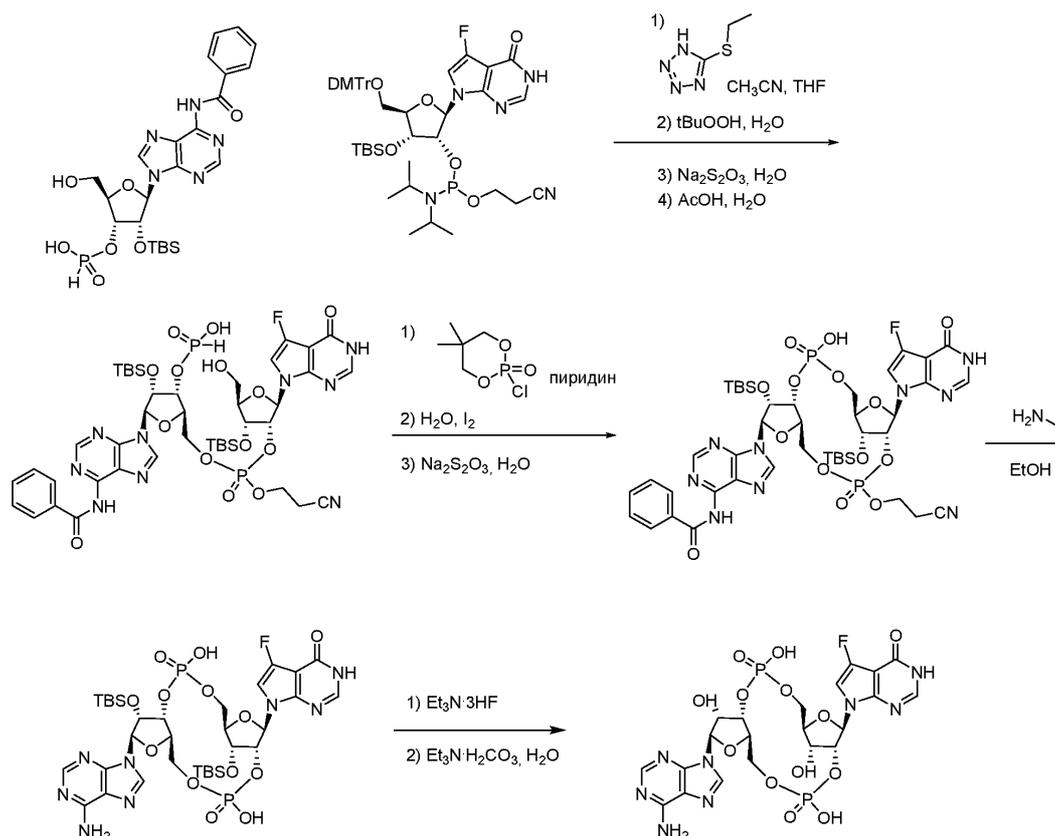
Деионизированную воду (400 мл) пропускали через колонку, приготовленную путем загрузки катионообменной смолы 50W-X8 AG (торговое наименование) (100-200 меш, 25,3 г) в пустую колонку. Затем через смолу пропустили 1M водный раствор гидроксида натрия (240 мл) и деионизированную воду (450 мл). Деионизированную воду (45 мл), содержащую 7-((2R,5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламиную соль (1,30 г) после вышеупомянутой предварительной обработки пропускали через смолу и через смолу пропускали деионизированную воду (60 мл) с получением водного раствора, содержащего указанное в заголовке соединение.

Деионизированную воду (400 мл) пропускали через колонку, приготовленную путем загрузки катионообменной смолы 50W-X8 AG (торговое наименование) (100-200 меш, 26,3 г) в пустую колонку. Затем через смолу пропустили 1M водный раствор гидроксида натрия (270 мл) и деионизированную воду (540 мл). Деионизированную воду (54 мл), содержащую 7-((2R,5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламиную соль (1,18 г) после вышеупомянутой предварительной обработки пропускали через смолу и через смолу пропускали деионизированную воду (63 мл) с получением водного раствора, содержащего указанное в заголовке соединение. Два водных раствора, содержащих указанное в заголовке соединение, объединяли и подвергали лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (2,0 г).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 3,97-4,07 (1H, м), 4,11-4,20 (1H, м), 4,27-4,42 (3H, м), 4,43-4,51 (1H, м), 4,55 (1H, д, J=3,8 Гц), 4,88-5,12 (2H, м), 5,34-5,59 (1H, м), 6,30-6,40 (2H, м), 7,28 (1H, д, J=1,9 Гц), 7,91 (1H, с), 8,01 (1H, с), 8,18 (1H, с).

<sup>31</sup>P ЯМР (121 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -2,38, 55,3.

Пример 4. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламиную соли



A) (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(5-фтор-4-оксо-3H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4H)-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианозтоксифосфорил)окси)метил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

N-Бензоил-2'-O-(трет-бутил(диметил)силил)-3'-O-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)аденозин (369 мг) и 7-(5-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3-O-(трет-бутил(диметил)силил)-2-O-((2-цианозтоксиди)зопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (817 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом (трижды) и суспендировали в безводном ацетонитриле (3,6 мл) и безводном ТГФ (1,2 мл). К суспензии прибавили смесь 5-(этилсульфанил)-2H-тетразола (262 мг) (который подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом) и безводного ацетонитрила (2,4 мл) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1,5 ч. К реакционному раствору прибавили 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (0,276 мл), и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 40 мин. Реакционную смесь погасили тиосульфатом натрия (636 мг) и водой (2 мл) и выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток растворили в 80% уксусной кислоте (5 мл) и перемешивали раствор при комнатной температуре в течение 2,5 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и толуолом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (538 мг). МС:  $[M+H]^+$  1064,3.

В) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианозтоксиди)-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2-гидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофура[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамид.

(2R,3R,4R,5R)-5-(6-Бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(5-фтор-4-оксо-3H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4H)-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианозтоксифосфорил)окси)метил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (538 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином и суспендировали в безводном пиридине (12 мл). Прибавили к нему 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид (327 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавили к нему воду (0,319 мл) и йод (167 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. Реакционную смесь погасили тиосульфатом натрия (208 мг) и водой (2 мл) и выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (509 мг). МС:  $[M+H]^+$  1062,3.

С) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтокси)-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2-гидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (509 мг) растворили в 33% этанольном растворе метиламина (10 мл), раствор перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). Полученный остаток очищали с помощью ВЭЖХ (L-колонок 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 мМ водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (227 мг). МС:  $[M+H]^+$  905,2.

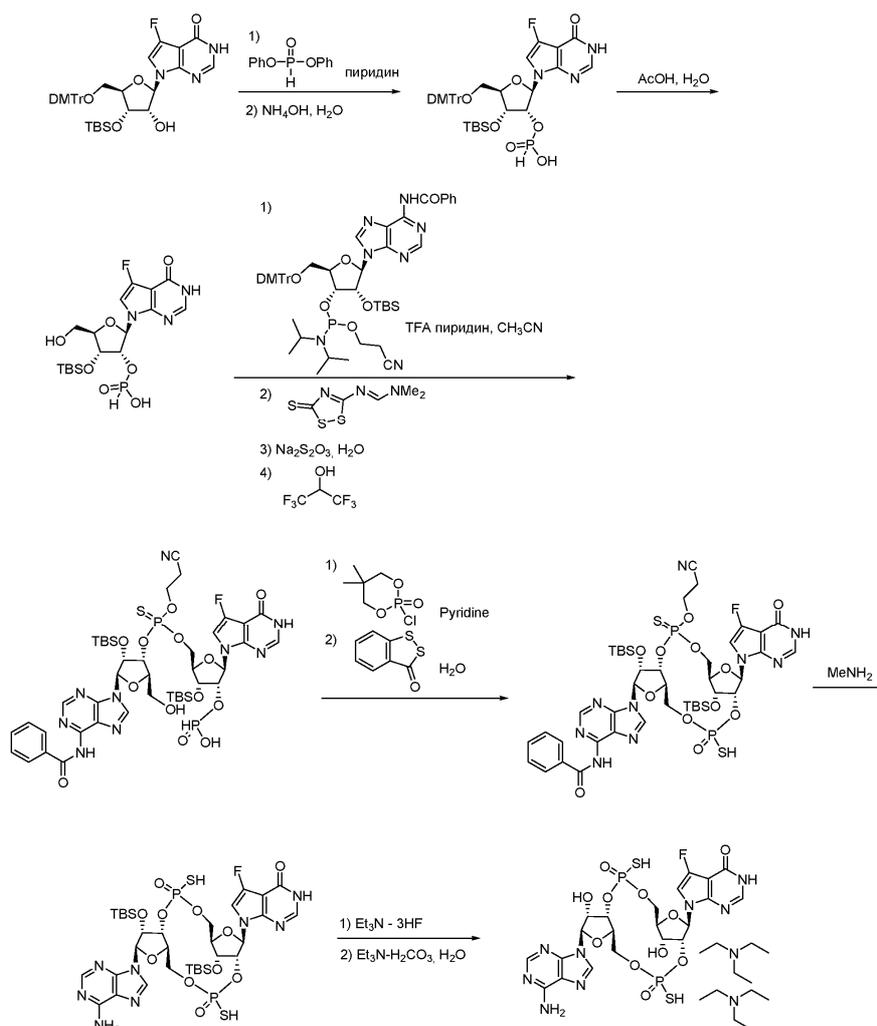
Д) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль.

К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (227 мг) прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,818 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 5 ч. Растворитель выпарили при пониженном давлении, остаток нейтрализовали 1М водным раствором гидрокарбоната триэтиламония и снова выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле С18 (10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил), полученное твердое вещество сушили лиофильной сушкой с получением указанного в заголовке соединения (103 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,26 (18H, т, J=7,4 Гц), 3,18 (12H, к, J=7,4 Гц), 4,06-4,29 (3H, м), 4,34-4,52 (3H, м), 4,62 (1H, д, J=3,8 Гц), 4,69-4,83 (1H, м), 4,84-4,95 (1H, м), 4,98-5,09 (1H, м), 6,14 (1H, д, J=1,5 Гц), 6,41 (1H, дд, J=8,3, 1,5 Гц), 7,33 (1H, д, J=1,9 Гц), 7,99 (1H, с), 8,16 (1H, с), 8,25 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (121 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -1,96, -1,21.

Пример 5. 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он ди-триэтиламинная соль (оптический изомер)



А) 7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3-О-(трет-бутил(диметил)силил)-2-О-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3-О-(трет-бутил(диметил)силил)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (835 мг) растворили в пиридине (4 мл) и к нему прибавили дифенилфосфит (0,456 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. К нему прибавили воду (1 мл) и гидроксид аммония (2 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и разбавили реакционную смесь водой, экстрагировали этилацетатом. Экстракт сушили над безводным сульфатом магния и выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (611 мг). МС: [M-H]<sup>-</sup> 764,1.

В) 7-(3-О-(трет-бутил(диметил)силил)-2-О-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

Смесь 7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3-О-(трет-бутил(диметил)силил)-2-О-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она (611 мг) и 80% уксусной кислоты (4 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавили метанолом и выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (358 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 464,1.

С) (2R,3R,4R,5R)-5-((((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси(2-цианоэтоксифосфоротиоил)окси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)гидрофосфонат.

Смесь 7-(3-О-(трет-бутил(диметил)силил)-2-О-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она (358 мг) и N-бензоил-5'-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2'-О-(трет-бутил(диметил)силил)-3'-О-((2-цианоэтоксифосфоротиоил)диизопропиламино)фосфиноаденозина (1,02 г) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и суспендировали в безводном ацетонитриле (10 мл). Прибавили к ней пиридин 2,2,2-трифторацетат (386 мг) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавили к ней

((диметиламинометилен)амино)-3Н-1,2,4-дигидро-3-тион (199 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. Реакционную смесь погасили водным раствором (2,5 мл) тиосульфата натрия (250 мг) и выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток растворили в 1,1,1,3,3,3-гексафторпропан-2-оле (10 мл), раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (328 мг). МС:  $[M+H]^+$  1080,3.

Д) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2-(2-цианоэтоксид)-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10-оксидо-10-сульфанил-2-сульфидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (оптический изомер).

К смеси (2R,3R,4R,5R)-5-((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-4-(трет-бутил(диметил)силил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтоксид)фосфоротиоил)оксид)метил)-4-(трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфоната (328 мг) и безводного пиридина (10 мл) прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (196 мг). Смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 30 мин, к нему прибавили воду (0,5 мл) и 3Н-бензо[с][1,2] дитиол-3-он (61 мг), перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавили насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом. Экстракт сушили над безводным сульфатом натрия, и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) и затем очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле C18 (10 mM буферный раствор ацетата триэтиламмония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (оптический изомер) (92 мг, tR4). МС:  $[M+H]^+$  1094,3.

Е) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (оптический изомер).

N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2-(2-цианоэтоксид)-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10-оксидо-10-сульфанил-2-сульфидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (оптический изомер) (90 мг) растворили в 40% растворе метиламин-метанол (3,0 мл), раствор перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (32 мг). МС:  $[M+H]^+$  937,1.

Ф) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

Смесь 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она (оптический изомер) (32 мг) и тригидрофторида триэтиламина (0,12 мл) перемешивали при 50°C в течение 3 ч. Смесь охладили до комнатной температуры и нейтрализовали 1М водным раствором гидрокарбоната триэтиламмония, а растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле C18 (10 mM буферный раствор ацетата триэтиламмония/ацетонитрил).

Полученное твердое вещество подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (21 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,23 (18H, т, J=7,3 Гц), 3,15 (12H, к, J=7,4 Гц), 3,99-4,09 (1H, м), 4,23-4,30 (2H, м), 4,30-4,41 (2H, м), 4,41-4,45 (1H, м), 4,47-4,54 (1H, м), 4,83-4,88 (2H, м), 4,96-5,13 (3H, м), 6,11 (1H, д, J=1,1 Гц), 6,36 (1H, д, J=7,4 Гц), 7,31 (1H, д, J=1,9 Гц), 7,95 (1H, с), 8,11 (1H, с), 8,22 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (121 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  52,25, 54,88.

Пример 6. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-О-(трет-бутил(диметил)силил)-3-О-((2-цианоэтоксиди)изопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (1,54 г) растворили в ацетонитриле (15 мл), прибавили к нему при комнатной температуре пиридин-2,2,2-трифторацетат (0,396 г) и воду (0,062 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 50 мин. К реакционному раствору при комнатной температуре прибавили 2-метилпропан-2-амин (8,07 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, к остатку прибавили 80% уксусную кислоту (8,54 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч.

Аналогично, 7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-О-(трет-бутил(диметил)силил)-3-О-((2-цианоэтоксиди)изопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (1,13 г) растворили в ацетонитриле (10 мл) и прибавили к нему при комнатной температуре пиридин-2,2,2-трифторацетат (0,290 г) и воду (0,045 мл), перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 50 мин. К реакционному раствору прибавили 2-метилпропан-2-амин (5,92 мл) при комнатной температуре и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, к остатку прибавили 80% уксусную кислоту (6,27 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч.

Реакционные смеси объединяли и концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (961 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 464,0.

D) (2R,3R,4R,5R)-2-((((2R,3R,4R,5R)-2-(6-бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтоксиди)фосфоротиоил)окси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

7-(2-О-(трет-бутил(диметил)силил)-3-О-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (400 мг) и N-бензоил-5'-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3'-О-(трет-бутил(диметил)силил)-2'-О-((2-цианоэтоксиди)изопропиламино)фосфино)аденозин (1,02 г) (трижды) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и суспендировали в безводном ацетонитриле (6 мл). Прибавили к ним пиридин-2,2,2-трифторацетат (333 мг) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавили к ним (диметиламино)метилден)амино)-3Н-1,2,4-дигидро-3-тион (195 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. Реакционную смесь погасили тиосульфатом натрия (316 мг) и водой (0,5 мл) и выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток растворили в 1,1,1,3,3,3-гексафторпропан-2-оле (5 мл) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и толуолом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (556 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 1080,3.

E) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксиди)-14-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2-гидрокси-2,10-дисульфидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (оптический изомер).

((2R,3R,4R,5R)-2-((((2R,3R,4R,5R)-2-(6-бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтоксиди)фосфоротиоил)окси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (556 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином, растворили в безводном пиридине (15 мл). К раствору при комнатной температуре прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (332 мг) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 30 мин. Прибавили к нему воду (1 мл) и 3Н-1,2-бензодитиол-3-он (108 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительного 1 ч. К реакционной смеси прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/метанол). Полученный остаток разделили на четыре диастереомера (tR1, tR2, tR3 и tR4, время удерживания которых из ЖХ/МС от короткого до более длинного в указанном порядке) ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 mM водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (120 мг, tR2) и указанного в заголовке соединения (183 мг, tR4). tR2 МС: [M+H]<sup>+</sup> 1094,3. tR4 МС: [M+H]<sup>+</sup> 1094,3.

F) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (оп-

тический изомер).

N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксиди)-14-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2-оксидо-2-сульфанил-10-сульфидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (оптический изомер, полученный из tR2) (120 мг) растворили в 33% этанольном растворе метиламина (5,0 мл), раствор перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1,5 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (84,4 мг). МС:  $[M+H]^+$  937,2.

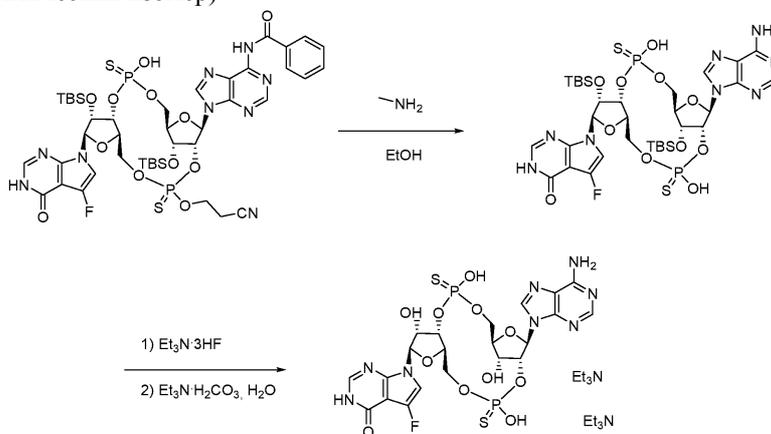
G) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (оптический изомер, полученный из tR2) (84,4 мг) прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,294 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 2 ч. Реакционный раствор охладили до комнатной температуры и нейтрализовали 1М водным раствором гидрокарбоната триэтиламония, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле С18 (10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил) и полученное твердое вещество сушили лиофильной сушкой с получением указанного в заголовке соединения (58,4 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,26 (18H, т,  $J=7,4$  Гц), 3,18 (12H, к,  $J=7,3$  Гц), 3,94-4,05 (1H, м), 4,10-4,20 (1H, м), 4,28-4,45 (2H, м), 4,50 (2H, уш.с), 4,59 (1H, д,  $J=4,2$  Гц), 4,71-4,81 (1H, м), 5,32 (2H, д,  $J=10,6$  Гц), 6,23-6,32 (2H, м), 7,17 (1H, д,  $J=2,3$  Гц), 8,05 (1H, с), 8,20 (1H, с), 8,66 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (121 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  55,8, 59,2.

Пример 7. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



A) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (оптический изомер).

N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксиди)-14-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2-оксидо-2-сульфанил-10-сульфидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (оптический изомер, полученный из tR4) (183 мг) растворили в 33% этанольном растворе метиламина (5,0 мл), раствор перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (107 мг). МС:  $[M+H]^+$  937,1.

B) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

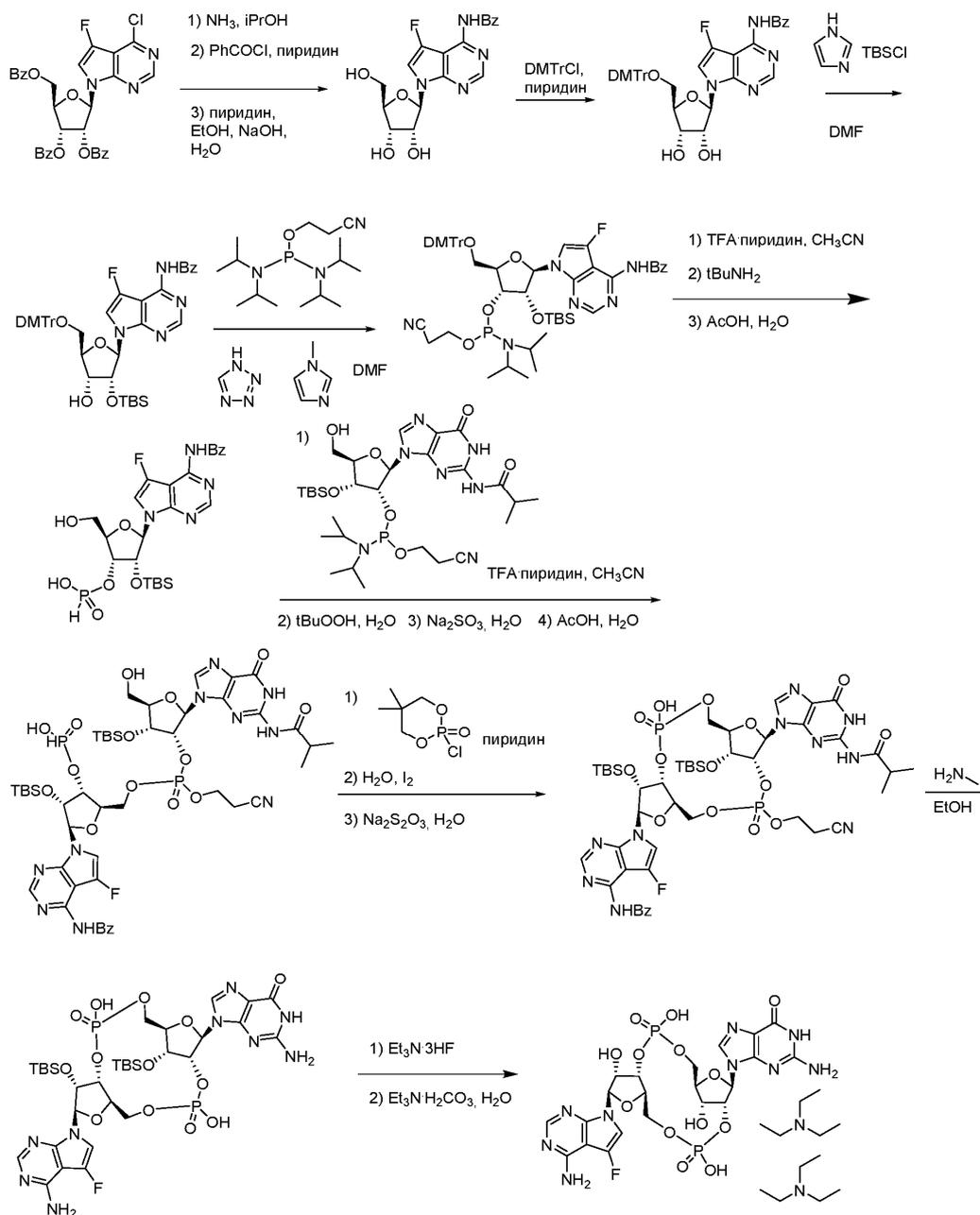
К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(димер-

тил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуру[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (оптический изомер, полученный из tR4) (107 мг) прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,372 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 2,5 ч. Реакционный раствор охладили до комнатной температуры и нейтрализовали 1М водным раствором гидрокарбоната триэтиламония, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле С18 (10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил) и полученное твердое вещество сушили лиофильной сушкой с получением указанного в заголовке соединения (78 мг).

<sup>1</sup>Н ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,26 (18H, т, J=7,4 Гц), 3,18 (12H, к, J=7,2 Гц), 4,09-4,18 (1H, м), 4,21-4,29 (2H, м), 4,33-4,43 (1H, м), 4,51 (2H, уш.с), 4,65-4,71 (1H, м), 4,89 (1H, д, J=4,2 Гц), 4,99-5,11 (1H, м), 5,29-5,42 (1H, м), 6,23-6,31 (2H, м), 7,00 (1H, д, J=1,9 Гц), 8,03 (1H, с), 8,17 (1H, с), 8,56 (1H, с).

<sup>31</sup>Р ЯМР (121 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 52,8, 55,1.

Пример 8. Синтез 2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-амино-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуру[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-он дитриэтиламинной соли



А) N-(7-((2R,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрохитетрагидрофуран-2-ил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)бензамид.  
(2R,3R,4R,5R)-2-((Бензоилокси)метил)-5-(4-хлор-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-

ил)тетрагидрофуран-3,4-диилдibenзоат (14,09 г) загрузили в 17 герметично закрывающихся контейнеров в 17 частях, прибавили к нему 2М раствор аммиака в изопропанол (20 мл), соответственно. Каждую смесь перемешивали при облучении микроволновым излучением при 130°C в течение 5 ч. Полученные смеси объединяли и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток дважды подвергали азеотропной перегонке с толуолом для удаления растворителя, к нему прибавили пиридин (100 мл) и смесь охладил до 0°C. Бензоилхлорид (26,6 мл) к нему прибавили при 0°C и перемешивали смесь в течение ночи при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавили воду и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан). К полученному соединению прибавили пиридин (350 мл) и этанол (100 мл), смесь охладил до 0°C. К нему прибавили 1М водный раствор гидроксида натрия (103 мл) и перемешивали смесь при 0°C в течение 1 ч. К нему снова прибавили 1М водный раствор гидроксида натрия (45,7 мл) и перемешивали смесь при 0°C в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили сильную кислотную катионообменную смолу DOWEX™ 50Wx4 100-200 (95 г) при комнатной температуре, твердое вещество удалили фильтрованием и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). К полученному продукту (5,71 г) прибавили пиридин (60 мл) и 4,4'-диметокситрилитхлорид (5,98 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 4 ч. К нему снова прибавили 4,4'-диметокситрилитхлорид (5,98 г), и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, к нему прибавили воду и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (8,50 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 691,2.

В) N-(7-((2R,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)бензамид.

К смеси N-(7-((2R,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)бензамида (7,51 г) и ДМФА (30 мл) прибавили имидазол (1,924 г) и трет-бутилдиметилхлорсилан (2,13 г), перемешивали смесь в течение ночи при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавили воду и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (2,94 г). МС, найдено: 501,2.

С) N-бензоил-7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-О-(трет-бутил(диметил)силил)-3-О-((2-цианоэтокси)(диизопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-амин.

N-(7-((2R,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)бензамид (1,03 г) подвергли азеотропной сушке с безводным толуолом и в атмосфере аргона прибавили к нему безводный ДМФА (5 мл). К нему прибавили 3-((бис(диизопропиламино)фосфино)окси)пропаннитрил (0,771 г), 1Н-тетразол (0,090 г) и 1-метил-1Н-имидазол (0,051 мл), перемешивали смесь в течение 6 ч. К реакционной смеси прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат, содержащий 0,5% триэтиламин/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (1,12 г).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ -0,17 (3H, д, J=2,6 Гц), -0,04-0,00 (3H, м), 0,78 (9H, с), 1,04 (3H, д, J=6,8 Гц), 1,13-1,23 (9H, м), 2,32 (1H, т, J=6,6 Гц), 2,68 (1H, тд, J=6,4, 1,9 Гц), 3,21-3,36 (1H, м), 3,42-3,71 (4H, м), 3,79 (6H, д, J=1,1 Гц), 3,85-4,05 (1H, м), 4,25-4,45 (2H, м), 4,64-4,82 (1H, м), 6,39 (1H, дд, J=14,2, 5,9 Гц), 6,74-6,89 (4H, м), 7,19-7,41 (8H, м), 7,43-7,67 (5H, м), 7,98 (2H, д, J=7,6 Гц), 8,50 (1H, с), 8,64 (1H, д, J=5,3 Гц).

Д) (2R,3R,4R,5R)-5-(4-бензамидо-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

К N-бензоил-7-(5-О-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-О-(трет-бутил(диметил)силил)-3-О-((2-цианоэтокси)(диизопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-амину (1,12 г) прибавили ацетонитрил (5 мл), воду (40 мкл) и пиридин-2,2,2-трифторацетат (258 мг). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, прибавили трет-бутиламин (5,43 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, к ней прибавили 80% уксусную кислоту (5,5 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительного 1 ч. Растворитель выпарили при пониженном давлении и очищали остаток с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с

получением указанного в заголовке соединения (527 мг). МС:  $[M+H]^+$  567,2.

Е) (2R,3R,4R,5R)-5-(4-бензамидо-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)-2-(2-изобутиламидо-6-оксо-1Н-пурин-9(6Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтоксифосфорил)окси)метил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

(2R,3R,4R,5R)-5-(4-Бензамидо-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (527 мг) и 3'-О-(трет-бутил(диметил)силил)-2'-О-((2-цианоэтоксиди)изопропиламино)фосфино)-N-изобутирилгуанозин (1,083 г) трижды подвергали азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и к нему прибавили безводный ацетонитрил (10 мл). Прибавили к нему пиридин-2,2,2-трифторацетат (359 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Прибавили к нему 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (382 мкл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 20 мин. К реакционной смеси прибавили тиосульфат натрия (693 мг) и воду (1 мл) и концентрировали смесь при пониженном давлении. К остатку прибавили 80% уксусной кислоты (5 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток трижды подвергли азеотропной сушке с толуолом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (175 мг). МС:  $[M+H]^+$  1149,4.

Ф) N-(7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксиди)-2-гидрокси-7-(2-((2-метилпропаноил)амино)-6-оксо-1,6-дигидро-9Н-пурин-9-ил)-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)бензамид.

(2R,3R,4R,5R)-5-(4-Бензамидо-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)-2-(2-изобутиламидо-6-оксо-1Н-пурин-9(6Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтоксифосфорил)окси)метил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (175 мг) трижды подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и прибавили к нему безводный пиридин (3 мл) и 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (98 мг). Смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 10 мин, прибавили к нему воду (96 мкл) и йод (50 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 20 мин. Реакционную смесь прибавили к смеси тиосульфата натрия (98 мг) и воды (0,4 мл) и перемешивали смесь в течение 5 мин, концентрировали при пониженном давлении. Остаток дважды очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (48 мг). МС:  $[M+H]^+$  1147,6.

Г) 2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(4-амино-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-он.

N-(7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксиди)-2-гидрокси-7-(2-((2-метилпропаноил)амино)-6-оксо-1,6-дигидро-9Н-пурин-9-ил)-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)бензамид (48 мг) дважды подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом, к нему прибавили 33% этанольный раствор метиламина (2 мл) и перемешивали смесь в течение ночи в атмосфере аргона при комнатной температуре. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). Полученный остаток очищали с помощью ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 мМ водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил), полученную фракцию концентрировали при пониженном давлении и полученный продукт подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (5 мг). МС:  $[M+H]^+$  920,3.

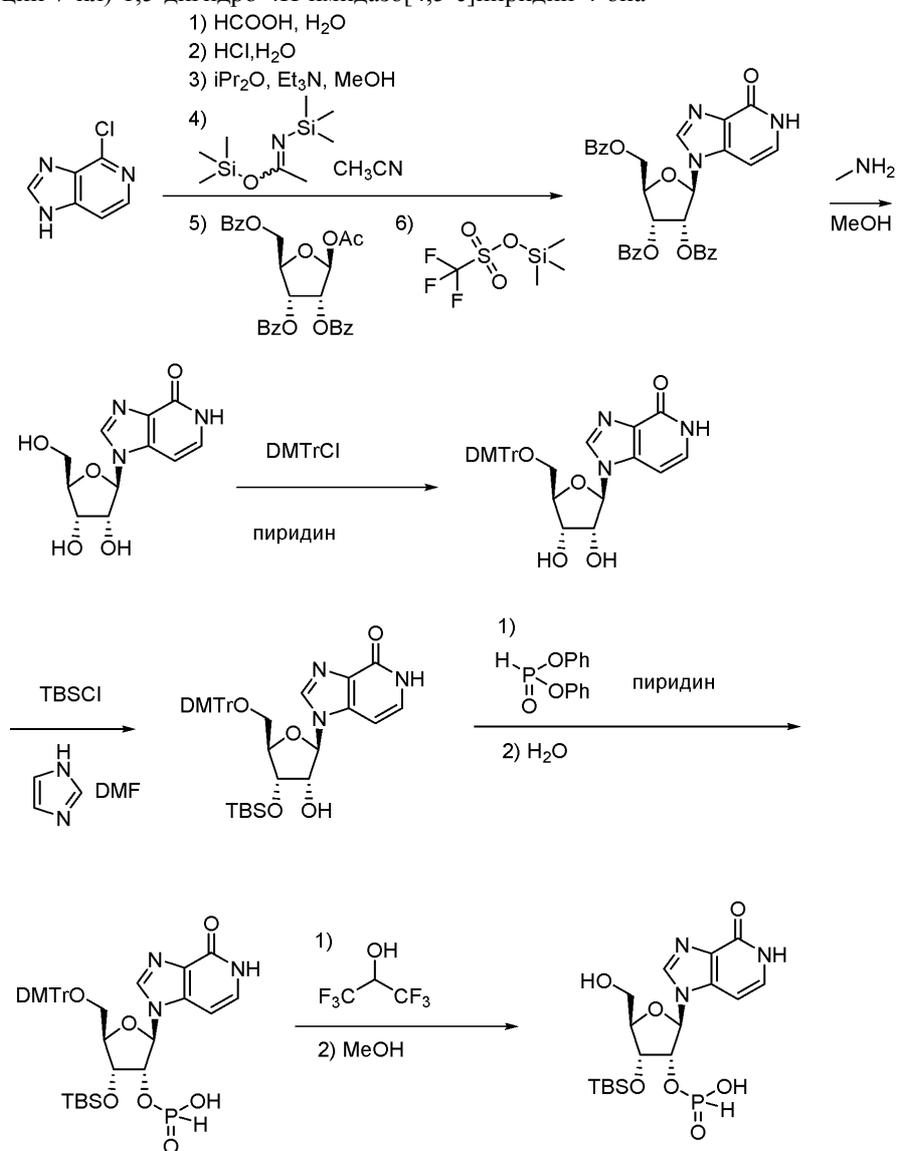
Н) 2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(4-амино-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-он дитриэтиламинная соль.

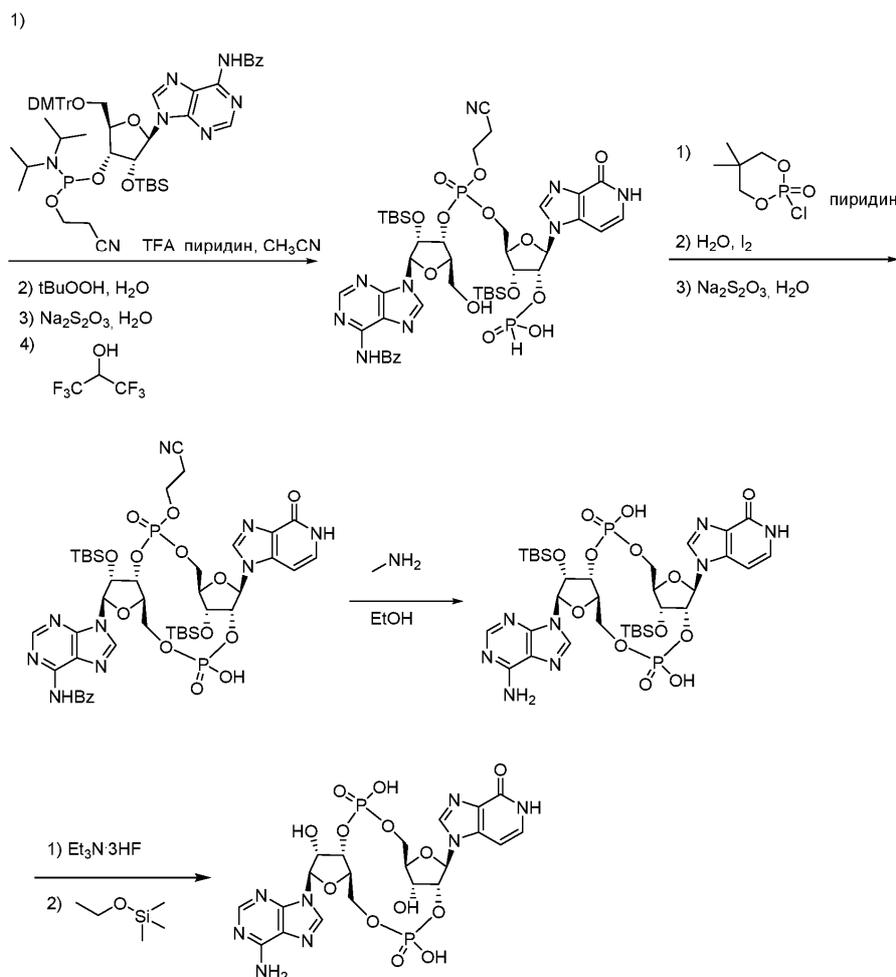
Смесь 2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(4-амино-5-фтор-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-она (5 мг) и тригидрофторид триэтиламина (200 мкл) перемешивали при 50°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охладили до комнатной температуры и нейтрализовали 1М водным раствором гидрокарбоната триэтиламина. Реакционную смесь очищали с помощью колоночной хроматографии на колонке С18 (ацетонитрил/10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламина), целевую фракцию концентрировали при пониженном давлении и полученный продукт подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (3,2 мг).

<sup>1</sup>Н ЯМР (600 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,23 (18H, т, J=7,3 Гц), 3,15 (12H, к, J=7,3 Гц), 4,06-4,11 (1H, м), 4,14-4,19

(1H, м), 4,21-4,26 (1H, м), 4,31-4,37 (2H, м), 4,40 (1H, д, J=1,5 Гц), 4,56 (1H, дд, J=15,2, 4,3 Гц), 4,61-4,68 (1H, м), 5,00 (1H, ддд, J=8,5, 6,6, 4,5 Гц), 5,60 (1H, тд, J=7,9, 4,1 Гц), 5,93 (1H, д, J=8,5 Гц), 6,26 (1H, с), 7,14 (1H, д, J=1,6 Гц), 7,87 (1H, с), 8,10 (1H, с).

Пример 10. Синтез 1-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,5-дигидро-4H-имидазо[4,5-с]пиридин-4-она





А) (2R,3R,4R,5R)-2-((бензоилокси)метил)-5-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3,4-диилдобензоат.

К 4-хлор-1H-имидазо[4,5-с]пиридины (20 г) при комнатной температуре прибавили муравьиную кислоту (123 мл) и воду (30 мл) и перемешивали смесь при 100°C в течение 2 ч. Смесь охладили до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили конц. соляную кислоту (100 мл) и перемешивали смесь при 100°C в течение 1 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток суспендировали в MeOH (100 мл) и диизопропиловом эфире (100 мл) и прибавили к ней триэтиламин (50 мл). Полученное твердое вещество собирали фильтрованием и растворяли в ацетонитриле (600 мл). К нему при комнатной температуре прибавили триметилсилил-N-(триметилсилил)ацетимидат (38,2 мл) и смесь перемешивали в течение 10 мин. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили (2S,3R,4R,5R)-2-ацетокси-5-((бензоилокси)метил)тетрагидрофуран-3,4-диилдобензоат (79,0 г) и смесь нагревали до 80°C. К реакционному раствору прибавили триметилсилилтрифторметансульфонат (28,2 мл) и перемешивали смесь в атмосфере аргона в течение ночи при 80°C. Смесь охладили до комнатной температуры, прибавили к ней воду (500 мл), полученное твердое вещество собирали фильтрованием. Твердое вещество очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (25,9 г).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4,65–4,96 (3H, м), 5,91 (2H, уш. с.), 6,23–6,42 (1H, м), 6,64 (1H, уш. с.), 7,15 (1H, уш. с.), 7,32–7,56 (9H, м), 7,92–8,15 (7H, м), 12,11–12,50 (1H, м). МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  580,1.

В) 1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4(5H)-он.

К (2R,3R,4R,5R)-2-((бензоилокси)метил)-5-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3,4-диилдобензоату (30,0 г) прибавили 40% метанольный раствор метиламина (200 мл) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч, концентрировали при пониженном давлении. Остаток перекристаллизовали из гексана-этилацетата с получением указанного в заголовке соединения (11,2 г). МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  268, 1.

С) 1-((2R,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрокси-тетрагидрофуран-2-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4(5H)-он.

К раствору 1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4(5H)-она (18,0 г) в пиридине (140 мл) при комнатной температуре прибавили

4,4'-диметокситритилхлорид (18,46 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, к остатку прибавили воду и экстрагировали смесь этилацетатом. Полученный экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (18,2 г). МС:  $[M+H]^+$  570,2.

D) 1-((2R,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4(5H)-он.

К раствору 1-((2R,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4(5H)-она (18,02 г) в ДМФА (158 мл) прибавили имидазол (4,30 г) и трет-бутилдиметилхлорсилан (5,72 г), перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 3 ч. трет-Бутилдиметилхлорсилан (2,38 г) снова прибавили к нему и перемешивали смесь в течение 3 ч. Реакционную смесь разбавили водой и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан). Выделенный региоизомер указанного в заголовке соединения растворили в MeOH и триэтилаmine и раствор перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционный раствор концентрировали и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (11,5 г). МС:  $[M+H]^+$  684,2.

E) (2R,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

К смеси 1-((2R,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4(5H)-она (8,0 г) и пиридина (117 мл) прибавили дифенилфосфит (4,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили воду (20 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и разбавили реакционную смесь водой, экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом магния, выпарили растворитель при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (8,5 г). МС:  $[M+H]^+$  748,3.

F) (2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)-2-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

Смесь (2R,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (8,2 г) и 1,1,1,3,3,3-гексафторпропан-2-ол (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. К ней прибавили метанол (10 мл), смесь перемешивали при 60°C в течение 1 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток перекристаллизовали из этилацетата и диизопропилового эфира с получением указанного в заголовке соединения (4,3 г). МС:  $[M+H]^+$  446,1.

G) (2R,3R,4R,5R)-5-((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пуридин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианозтокси)фосфорил)окси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат

(2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)-2-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (250 мг) и N-бензоил-5'-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2'-O-(трет-бутил(диметил)силил)-3'-O-(2-цианозтокси)(диизопропиламино)фосфино)аденозин (776 мг) подвергали азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом, прибавили к ним безводный ацетонитрил (5,61 мл). К смеси прибавили пиридин-2,2,2-трифторацетат (271 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 40 мин. К нему прибавили 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (231 мкл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. К реакционной смеси прибавили смесь тиосульфата натрия (1,3 г) и воды (3 мл), смесь концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили 1,1,1,3,3,3-гексафторпропан-2-ол (15 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан и метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (170 мг). МС:  $[M+H]^+$  1046,3.

H) N-(9-(((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2-(2-цианозтокси)-10-гидрокси-2,10-диоксидо-7-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)октагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пуридин-6-ил)бензамид.

(2R,3R,4R,5R)-5-((((2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пуридин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианозтокси)фосфорил)окси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (160 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным пиридином и прибавили к нему без-

водный пиридин (3,0 мл). К смеси при комнатной температуре прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид (99 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. К нему прибавили воду (96 мкл) и йод (50,5 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 20 мин. К реакционной смеси прибавили смесь тиосульфата натрия (190 мг) и воду (0,4 мл), смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (10,6 мг). МС:  $[M+H]^+$  1044,3.

И) 1-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,5-дигидро-4H-имидазо[4,5-с]пиридин-4-он.

К N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2-(2-цианоэтокси)-10-гидрокси-2,10-диоксидо-7-(4-оксо-4,5-дигидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)октагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамиду (10,6 мг) прибавили 40% этанольный раствор метиламина (5,0 мл) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч, концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (9,0 мг). МС:  $[M+H]^+$  887,2.

Ж) 1-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,5-дигидро-4H-имидазо[4,5-с]пиридин-4-он.

К 1-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,5-дигидро-4H-имидазо[4,5-с]пиридин-4-ону (9,0 мг) прибавили метанол (1,0 мл) и тригидрофторид триэтиламина (165 мкл). Реакционную смесь концентрировали для удаления метанола и перемешивали остаток при 55°C в течение 1 ч. Смесь охладили до комнатной температуры, прибавили к ней этокси(триметил)силан (0,90 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на колонке C18 (ацетонитрил/10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламмония) с получением указанного в заголовке соединения (0,3 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4,15 (2H, д,  $J=11,5$  Гц), 4,46 (4H, уш.с), 4,56-4,62 (1H, м), 4,98-4,99 (2H, м), 6,05-6,20 (2H, м), 6,79-6,87 (1H, м), 7,06-7,12 (1H, м), 8,00 (1H, с), 7,96-8,10 (1H, м), 8,23 (2H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (162 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -2,36, -1,94.

Пример 11. Синтез 2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(4-амино-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он дитриэтиламинной соли



Поли(гидрофторид) пиридиния (1,86 мл) растворили в пиридине (10 мл) при 0°C, раствор прибавили к раствору N-бензоил-1-(2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-3,5-O-(ди-трет-бутилсилилен)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амина (1,64 г) в ТГФ (13 мл) при 0°C и перемешивали смесь при 0°C в течение 8 мин.

Эту реакцию повторили дважды. Реакционные растворы смешали, разбавили водой и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан и метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (2,24 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 485,1.

С) N-бензоил-1-(5-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амин.

N-Бензоил-1-(2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амин (2,24 г) растворили в пиридине (25 мл), к нему при комнатной температуре прибавили 4,4'-диметокситритилхлорид (2,04 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 4,5 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, к остатку прибавили воду и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (3,29 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 787,3.

D) N-бензоил-1-(5-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-3-O-((2-цианоэтокси)(диизопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амин.

N-Бензоил-1-(5-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амин (3,29 г) растворили в безводном ДМФА (9,5 мл) и к раствору прибавили 3-((бис(диизопропиламино)фосфино)окси)пропаннитрил (2,98 мл), 1H-тетразол (0,328 г) и 1-метил-1H-имидазол (0,185 мл), перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 2,5 ч. К реакционному раствору прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом натрия, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан, содержащий 0,5% триэтиламина) с получением указанного в заголовке соединения (3,85 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 987,4.

E) N-бензоил-1-(2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-3-O-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амин.

N-Бензоил-1-(5-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-3-O-((2-цианоэтокси)(диизопропиламино)фосфино)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амин (3,85 г) растворили в ацетонитриле (30 мл), прибавили при комнатной температуре к нему пиридин 2,2,2-трифторацетат (0,904 г) и воду (0,141 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционному раствору при комнатной температуре прибавили 2-метилпропан-2-амин (9 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 40 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и к остатку прибавили 1,1,1,3,3,3-гексафторпропан-2-ол (25 мл), перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 3,5 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, прибавили к ней уксусную кислоту (20 мл) и воду (5 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (1,85 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 549,1.

F) (2R,3R,4R,5R)-5-(4-бензамидо-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-1-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)-2-(2-изобутиламидо-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтокси)фосфорил)оксиметил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

N-Бензоил-1-(2-O-(трет-бутил(диметил)силил)-3-O-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-β-D-рибофуранозил)-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-4-амин (300 мг) и 5'-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3'-O-(трет-бутил(диметил)силил)-2'-O-((2-цианоэтокси)(диизопропиламино)фосфино)-N-изобутирилгуанозин (637 мг) подвергали азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом (трижды) и суспендировали в безводном ацетонитриле (6 мл). Прибавили к нему пиридин 2,2,2-трифторацетат (264 мг) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавили к нему 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (0,225 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительного 1 ч. Реакционную смесь погасили тиосульфатом натрия (400 мг) и водой (1,5 мл) и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток растворили в 80% уксусной кислоте (5 мл), раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 45 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и толуолом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с по-

лучением указанного в заголовке соединения (469 мг). МС:  $[M+H]^+$  1131,4.

Г) N-(1-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксид)-2-гидрокси-7-(2-(изобутириламино)-6-оксо-1,6-дигидро-9H-пурин-9-ил)-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4-ил)бензамид.

(2R,3R,4R,5R)-5-(4-Бензамидо-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)-2-(2-изобутиламино)-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтоксид)фосфорил)оксид)метил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (469 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином и суспендировали в безводном пиридине (10 мл). Прибавили к нему 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид (268 мг) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 15 мин. Прибавили к нему воду (1 мл) и йод (158 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 13 мин. Реакционную смесь погасили тиосульфатом натрия (170 мг) и водой (0,5 мл), растворитель выпарили при пониженном давлении и остаток подвергли азеотропной сушке с толуолом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (419 мг). МС:  $[M+H]^+$  1129,3.

Н) 2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(4-амино-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он.

N-(1-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксид)-2-гидрокси-7-(2-(изобутириламино)-6-оксо-1,6-дигидро-9H-пурин-9-ил)-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-4-ил)бензамид (419 мг) растворили в 33% этанольном растворе метиламина (10,0 мл), и перемешивали раствор в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 18,5 ч. Прибавили к нему 33% этанольный раствор метиламина (5 мл), перемешивали смесь в течение дополнительных 3 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток растворили в 33% этанольном растворе метиламина (10,0 мл), раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (173 мг). МС:  $[M+H]^+$  902,3.

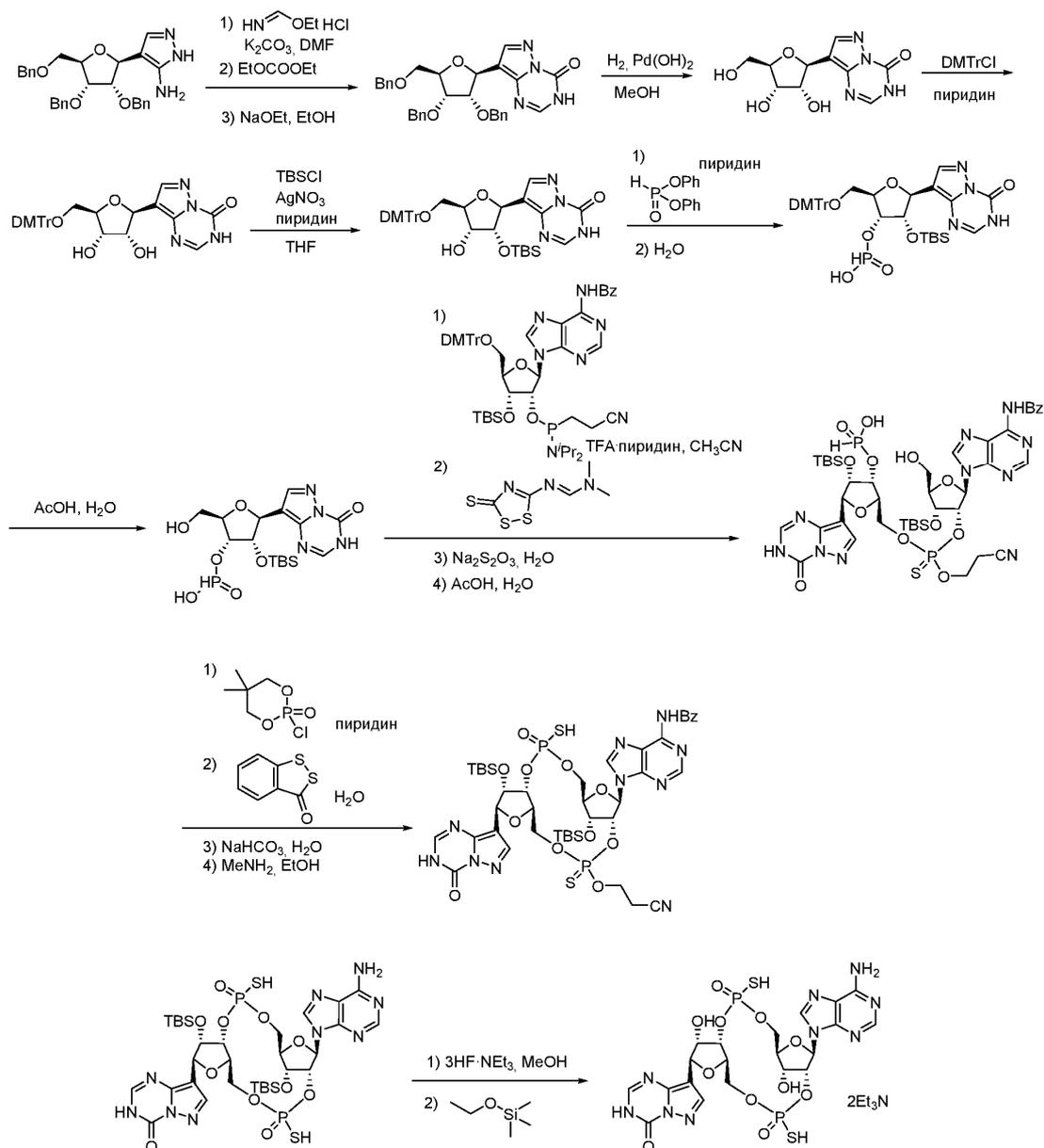
И) 2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(4-амино-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он дитриэтиламинная соль.

К) 2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(4-амино-1H-имидазо[4,5-с]пиридин-1-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-ону (173 мг) прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,625 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 3 ч. Смесь охладил до комнатной температуры и нейтрализовали 1M водным раствором гидрокарбоната триэтиламония, а растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле C18 (10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил) и полученное твердое вещество сушили лиофильной сушкой с получением указанного в заголовке соединения (123 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,25 (18H, т,  $J=7,4$  Гц), 3,17 (12H, к,  $J=7,2$  Гц), 3,87-4,10 (1H, м), 4,11-4,30 (3H, м), 4,32-4,45 (2H, м), 4,52 (1H, д,  $J=3,8$  Гц), 4,65 (1H, д,  $J=4,2$  Гц), 4,97-5,10 (1H, м), 5,79 (1H, уш.с), 5,94 (2H, д,  $J=8,3$  Гц), 7,10 (1H, д,  $J=6,8$  Гц), 7,68-7,78 (1H, м), 7,83 (1H, с), 7,94-8,26 (1H, м).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (121 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -1,36.

Пример 12. Синтез 8-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-7-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)пирозоло[1,5-а][1,3,5]триазин-4(3H)-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



А) 8-((2S,3S,4R,5R)-3,4-бис(бензилокси)-5-((бензилокси)метил)тетрагидрофуран-2-ил)пирозоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-он.

К раствору 4-((2S,3S,4R,5R)-3,4-бис(бензилокси)-5-((бензилокси)метил)тетрагидрофуран-2-ил)-1H-пирозол-5-амина (17,3 г) и карбоната калия (24,6 г) в ДМФА (200 мл) при комнатной температуре прибавили этилформимидат гидрохлорид (19,5 г). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили диэтилкарбонат (126 г) и реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили 20% этанольный раствор этоксида натрия (60,6 г) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 30 мин. Реакционную смесь нейтрализовали уксусной кислотой при комнатной температуре и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (5,79 г). МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  539,1.

В) 8-((2S,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)пирозоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-он.

Раствор 8-((2S,3S,4R,5R)-3,4-бис(бензилокси)-5-((бензилокси)метил)тетрагидрофуран-2-ил)пирозоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-она (3,49 г) и гидроксида палладия (1,37 г, 10% Pd) в метаноле (30 мл) перемешивали в атмосфере водорода в течение ночи при комнатной температуре. Катализатор удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (1,72 г). МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  269,0.

С) 8-((2S,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрокси-тетрагидрофуран-2-ил)пирозоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-он.

К раствору 8-((2S,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-она (1,72 г) в безводном пиридине (30 мл) прибавили 4,4'-диметокситригилхлорид (2,39 г) при охлаждении на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 2 ч. К реакционной смеси прибавили 4,4'-диметокситригилхлорид (0,217 г) при охлаждении на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 3 ч. К реакционной смеси прибавили 4,4'-диметокситригилхлорид (0,217 г) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 30 мин. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (1,62 г). МС: [M-H]<sup>-</sup> 569,1.

D) 8-((2S,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-он.

трет-Бутилдиметилхлорсилан (536 мг) и нитрат серебра(I) (604 мг) при комнатной температуре в атмосфере аргона прибавили к раствору 8-((2S,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрокси-тетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-она (1,69 г) и безводного пиридина (1,20 мл) в безводном ТГФ (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 8 ч и к реакционной смеси при комнатной температуре прибавили трет-бутилдиметилхлорсилан (89 мг) и нитрат серебра(I) (101 мг). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Нерастворимое вещество удаляли фильтрованием и промывали этилацетатом. К фильтрату прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (740 мг). МС: [M-H]<sup>-</sup> 683,1.

E) (2R,3R,4S,5S)-2-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(4-оксо-3,4-дигидропиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

При комнатной температуре дифенилфосфит (0,41 мл) прибавили к раствору 8-((2S,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-она (740 мг) в пиридине (10 мл). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили воду (20 мл) и перемешивали смесь в течение 1 ч. Реакционную смесь вылили вводу при комнатной температуре и экстрагировали этилацетатом. Экстракт промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (300 мг). МС: [M-H]<sup>-</sup> 747,1.

F) (2R,3R,4S,5S)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)-5-(4-оксо-3,4-дигидропиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

К (2R,3R,4S,5S)-2-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(4-оксо-3,4-дигидропиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонату (300 мг) прибавили 80% водный раствор уксусной кислоты (10 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (170 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 447,0.

G) (2R,3R,4S,5S)-2-((((2R,3R,4R,5R)-2-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтокси)фосфоротиоил)окси)метил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(4-оксо-3,4-дигидропиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

(2R,3R,4S,5S)-4-((трет-Бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)-5-(4-оксо-3,4-дигидропиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (190 мг) и N-бензоил-5'-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3'-O-(трет-бутил(диметил)силил)-2'-O-((2-цианоэтил)(диизопропиламино)фосфино)аденозин (505 мг) трижды подвергли процессу азеотропной перегонки с безводным ацетонитрилом. К остатку прибавили безводный ацетонитрил (5 мл) и пиридин-2,2,2-трифторацетат (164 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 10 мин, к реакционной смеси прибавили ((диметиламино)метилден)амино)-3H-1,2,4-дифтазолин-3-тион (96 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. К реакционной смеси прибавили водный раствор (0,2 мл) тиосульфата натрия (0,2 г) и смесь концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили 80% водный раствор уксусной кислоты (5 мл), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и реакционную смесь дважды подвергли процессу азеотропной перегонки с ацетонитрилом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (мета-

нол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (260 мг). МС:  $[M+H]^+$  1063,2.

Н) 8-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-7-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-он (оптический изомер).

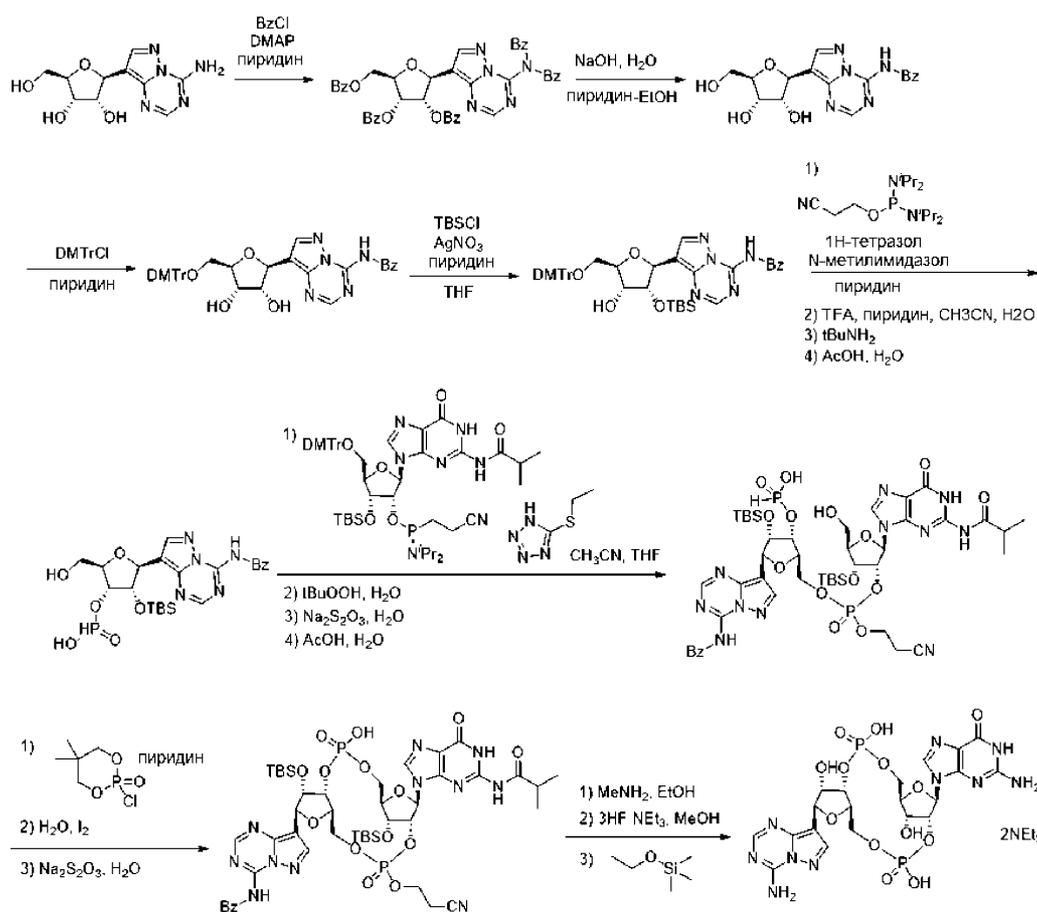
(2R,3R,4S,5S)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-2-(6-Бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианозтокси)фосфоротиоил)оксиметил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(4-оксо-3,4-дигидропиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (260 мг) дважды подвергли процессу азеотропной перегонки с безводным ацетонитрилом. Остаток один раз подвергли процессу азеотропной перегонки с безводным пиридином. К раствору остатка в безводном пиридине (5 мл) прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (158 мг) и смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 20 мин. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили воду (0,15 мл) и 3H-бензо[с][1,2]дитиол-3-он (49,4 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия при комнатной температуре и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором тиосульфата натрия и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат), затем очищали с помощью ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 мМ водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил) с получением фракций, фракцию с наибольшим временем удерживания концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили 33% этанольный раствор метиламина (5 мл), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (25 мг). МС:  $[M+H]^+$  920,2.

l) 8-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-7-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-она дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

К раствору 8-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-7-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-14-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-он (оптический изомер) (25 мг) в метаноле (2 мл) при комнатной температуре прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,177 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 2 ч. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили этокситриметилсилан (5 мл) и перемешивали смесь в течение 10 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле С18 (10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил) и полученный продукт подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (13 мг).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 4,02-4,19 (3H, м), 4,32-4,42 (2H, м), 4,44-4,49 (1H, м), 4,59-4,64 (1H, м), 4,76-4,80 (1H, м), 4,95-5,04 (1H, м), 5,16 (1H, д, J=4,9 Гц), 5,31 (1H, дд, J=9,8, 8,7, 4,2 Гц), 6,22 (1H, д, J=8,3 Гц), 7,99 (1H, с), 8,00 (1H, с), 8,14 (1H, с), 8,49 (1H, с).

Пример 13. Синтез 2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-14-(4-аминопиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он дитриэтиламинной соли



А) (2S,3S,4R,5R)-2-(4-(N-бензоилбензамидо)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-5-((бензоилокси)метил)тетрагидрофуран-3,4-диилдибензоат.

К раствору (2S,3R,4S,5R)-2-(4-аминопиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3,4-диола (2,98 г) и N,N-диметил-4-аминопиридина (1,36 г) в безводном пиридине (50 мл) прибавили бензоилхлорид (12,5 г) при охлаждении на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили бензоилхлорид (3,13 г) при охлаждении на ледяной бане. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 2 ч. К реакционной смеси прибавили воду и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении.

Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (6,51 г). МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  788,2.

В) N-(8-((2S,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4-ил)бензамид.

К раствору (2S,3S,4R,5R)-2-(4-(N-бензоилбензамидо)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-5-((бензоилокси)метил)тетрагидрофуран-3,4-диилдибензоата (6,51 г) в растворителе из смешанных пиридина (50 мл) и этанола (25 мл) прибавили 1M водный раствор гидроксида натрия (49,6 мл) при охлаждении на ледяной бане и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили сильную кислотную катионообменную смолу DOWEX TM 50Wx4 100-200 (40 г) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Твердое вещество удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили метанол и полученное твердое вещество собирали фильтрованием с получением указанного в заголовке соединения (1,82 г). МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  372,1.

С) N-(8-((2S,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрокси-тетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4-ил)бензамид.

К раствору N-(8-((2S,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4-ил)бензамида (1,89 г) в безводном пиридине (30 мл) при охлаждении на ледяной бане прибавили 4,4'-диметокситритилхлорид (517 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 3 ч. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили 4,4'-диметокситритилхлорид (517 мг) и перемешивали смесь в течение ночи в атмосфере аргона при комнатной температуре. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили 4,4'-диметокситритилхлорид (1035 мг) и смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температу-

ре в течение 1 ч. К реакционной смеси прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия при комнатной температуре и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (2160 мг). МС:  $[M-H]^-$  672,1.

D) N-(8-((2S,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4-ил)бензамид.

К раствору N-(8-((2S,3R,4S,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4-ил)бензамида (2,16 г) в безводном ТГФ (30 мл) прибавили нитрат серебра(I) (708 мг) и безводный пиридин (1,22 г). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона в течение 15 мин и прибавили к нему трет-бутилдиметилхлорсилан (628 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 2 ч. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили нитрат серебра(I) (163 мг), трет-бутилдиметилхлорсилан (145 мг) и безводный пиридин (507 мг). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи в атмосфере аргона при комнатной температуре. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили нитрат серебра(I) (436 мг), трет-бутилдиметилхлорсилан (387 мг) и безводный пиридин (761 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 2 ч. К реакционной смеси прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия при комнатной температуре, и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат/гексан) с получением указанного в заголовке соединения (980 мг). МС:  $[M-H]^-$  786,2.

E) (2R,3R,4S,5S)-5-(4-бензамидопиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

N-(8-((2S,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4-ил)бензамид (980 мг) дважды подвергли процессу азеотропной перегонки с безводным толуолом и растворили в безводном ДМФА (10 мл). К реакционной смеси прибавили 3-((бис(диизопропиламино)фосфино)окси)пропаннитрил (487 мг), 1H-тетразол (87 мг) и 1-метил-1H-имидазол (51 мг). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 5 ч. К реакционной смеси прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия при комнатной температуре и экстрагировали смесь этилацетатом. Экстракт промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат, содержащий 0,5% триэтиламин/гексан). К раствору полученной смеси при комнатной температуре в ацетонитриле (10 мл) прибавили воду (0,04 мл) и пиридин-2,2,2-трифторацетат (256 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, к нему прибавили трет-бутиламин (5,38 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 45 мин. Растворитель выпарили при пониженном давлении. К остатку прибавили 80% водный раствор уксусной кислоты (5,4 мл), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (530 мг). МС:  $[M+H]^+$  550,2.

F) (2R,3R,4S,5S)-5-(4-бензамидопиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидроксиметил)-2-(2-изобутиламида-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтокси)фосфорил)окси)метил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

Смесь (2R,3R,4S,5S)-5-(4-бензамидопиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (240 мг) и 5'-O-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метил)-3'-O-(трет-бутил(диметил)силил)-2'-O-((2-цианоэтил)(диизопропиламино)фосфино)-N-изобутирилгуанозин (635 мг) трижды подвергли процессу азеотропной перегонки с безводным ацетонитрилом. К остатку прибавили раствор безводный ацетонитрил (5 мл), безводный ТГФ (2,5 мл) и 5-(этилтио)-2H-тетразол (171 мг) (который был заранее подвергнут процессу азеотропной перегонки с безводным ацетонитрилом) в безводном ацетонитриле (2,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 2 ч. К ней прибавили 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (0,179 мл), и при комнатной температуре в течение 20 мин смесь перемешивали. К реакционной смеси прибавили водный раствор (0,12 мл) пентагидрата тиосульфата натрия (0,12 г) и реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили 80% водный раствор уксусной кислоты (3 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Остаток дважды подвергли процессу азеотропной перегонки с ацетонитрилом. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением сырого продукта (420 мг), содержащего указанное в заголовке соединения. МС:  $[M+H]^+$  1132,3.

G) N-(8-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-

цианоэтоксид-2-гидрокси-7-(2-((2-метилпропаноил)амино)-6-оксо-1,6-дигидро-9Н-пурин-9-ил)-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14-ил)пиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-4-ил)бензамид.

Сырой продукт (430 мг), содержащий (2R,3R,4S,5S)-5-(4-бензамидопиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-8-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-((((((2R,3R,4R,5R)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидрокси)метил)-2-(2-изобутиламино)-6-оксо-1Н-пурин-9(6Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(2-цианоэтоксид)фосфорил)оксид)метил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат дважды подвергли процессу азеотропной перегонки с безводным ацетонитрилом. Полученный остаток один раз подвергли процессу азеотропной перегонки с безводным пиридином. К раствору полученного остатка в безводном пиридине (3 мл) прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид (245 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере аргона в течение 10 мин. К реакционной смеси прибавили воду (0,239 мл) и иод (125 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. К реакционной смеси прибавили водный раствор (0,4 мл) пентагидрата тиосульфата натрия (245 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин. К ней прибавили толуол и смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением сырого продукта (553 мг), содержащего указанное в заголовке соединение. МС:  $[M+H]^+$  1130,4.

Н) 2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-14-(4-аминопиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-8-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-он дитриэтиламинная соль.

Смесь N-(8-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aR,16R)-15,16-бис((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтоксид)-2-гидрокси-7-(2-((2-метилпропаноил)амино)-6-оксо-1,6-дигидро-9Н-пурин-9-ил)-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14-ил)пиразоло[1,5-а][1,3,5]триазин-4-ил)бензамида (553 мг) и 33% этанольного раствора метиламина (20 мл) перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) и затем очищали с помощью ВЭЖХ (ODS, подвижная фаза: вода/ацетонитрил (содержащая 5 мМ ацетат аммония)) с получением фракции, полученную фракцию концентрировали при пониженном давлении. К раствору полученный остаток в метаноле (3 мл) при комнатной температуре прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,072 мл) и смесь перемешивали при 50°C в течение 4 ч. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,181 мл) и перемешивали смесь в течение ночи при 50°C. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,181 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 5 ч. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили этокситриметилсилан (1,034 мл) и смесь перемешивали в течение 5 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле C18 (10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламмония/ацетонитрил) и полученный продукт подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (10 мг).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 3,99-4,08 (1H, м), 4,11-4,31 (4H, м), 4,34-4,42 (1H, м), 4,52-4,60 (2H, м), 4,94-5,05 (1H, м), 5,27-5,35 (1H, м), 5,51-5,62 (1H, м), 5,94 (1H, д, J=8,3 Гц), 7,89 (1H, с), 8,07 (1H, с), 8,08 (1H, с).

Пример 14. 7-((2R,5R,7R,8R,10R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она динатриевая соль



мидин-4-он (оптический изомер).

40% Метанольный раствор метиламина (10 мл) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-16-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2-(2-цианоэтоксид)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10-оксидо-10-сульфанил-2-сульфидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (оптический изомер) (379 мг) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч в атмосфере аргона. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (319 мг). МС:  $[M+H]^+$  825,1.

Д) 7-((2R,5R,7R,8R,10R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль.

К раствору 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-16-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-15-фтор-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она (оптический изомер) (319 мг) в метаноле (1 мл) при комнатной температуре прибавили тригидрофторид триэтиламина (2,52 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 3 ч, разбавили метанолом (10 мл). К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили этокситриметилсилан (12 мл) и перемешивали смесь в течение 10 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, остаток разбавили метанолом и смесь концентрировали снова при пониженном давлении. К остатку прибавили буферный раствор ацетата триэтиламония и твердое вещество собирали фильтрованием и промывали ацетонитрилом, получая белое твердое вещество. Полученное белое твердое вещество очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (ODS, 10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил). С другой стороны, фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) и колоночной хроматографии на силикагеле (ODS, 10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил). Фракцию, содержащую указанное в заголовке соединение, полученную с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (ODS, 10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил) концентрировали при пониженном давлении и остаток подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (195 мг). МС:  $[M+H]^+$  711,0.

Е) 7-((2R,5R,7R,8R,10R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она динатриевая соль.

Деионизированную воду (60 мл) пропускали через колонку, приготовленную путем загрузки катионообменной смолы 50W-X8 AG (торговое наименование) (100-200 меш, 3,9 г) в пустую колонку. Затем через смолу пропустили 1M водный раствор гидроксида натрия (36 мл) и деионизированную воду (68 мл). Деионизированную воду (15 мл), содержащую 7-((2R,5R,7R,8R,10R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она дитриэтиламинная соль (195 мг) после вышеупомянутой предварительной обработки пропускали через смолу и через смолу пропускали деионизированную воду (19 мл), полученный водный раствор подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (165 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  4,00-4,08 (1H, м), 4,22-4,45 (4H, м), 4,50-4,57 (1H, м), 4,81-4,84 (1H, м), 4,98-5,14 (2H, м), 5,40-5,61 (1H, м), 6,33-6,43 (2H, м), 7,28 (1H, д,  $J=1,9$  Гц), 7,94 (1H, с), 8,05 (1H, с), 8,21 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (121 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  52,1, 55,3.

Пример 15. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-10-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 0,91-1,19 (40H, м), 2,69-2,82 (2H, м), 3,46-3,73 (2H, м), 3,78-4,12 (5H, м), 4,47-4,61 (2H, м), 6,02-6,12 (1H, м), 7,14-7,23 (1H, м), 7,84-7,91 (1H, м), 12,00-12,40 (1H, уш.).

С) (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-(((2-цианоэтоксидициклопентил)фосфоротиоил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

Смесь (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфоната (3,48 г) и 2-цианоэтил-(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-4-оксо-3H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4H)-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил диизопропилфосфорамидита (7,82 г) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и суспендировали в безводном ацетонитриле (25 мл) и безводном ТГФ (15 мл). 5-(Этилсульфанил)-2H-тетразол (3,11 г), который был предварительно подвергнут азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом, растворили в безводном ацетонитриле (6 мл), раствор прибавили к вышеупомянутой суспензии и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере аргона. Прибавили к нему ((диметиламинометил иден)амино)-3H-1,2,4-дитиазолин-3-тион (3,27 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. Растворитель выпарили при пониженном давлении, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (6,73 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 1096,2.

Д) (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-(((2-цианоэтоксидициклопентил)фосфоротиоил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

(2R,3R,4R,5R)-5-(6-Бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-(((2-цианоэтоксидициклопентил)фосфоротиоил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (6,73 г) растворили в смеси растворителей ТГФ (74,8 мл) и воды (16,6 мл), раствор охладили на ледяной бане. Прибавили к нему трифторуксусную кислоту (16,6 мл) и перемешивали смесь 0°C в течение 2 ч. Реакционную смесь погасили водным раствором гидрокарбоната натрия (25,8 г) и экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом магния, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (6,43 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 1114,2.

Е) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидициклопентил)фосфоротиоил)окси)-2-гидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетра(пропан-2-ил)дисилоксанил)окси)-2-оксидо-10-сульфидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамид.

(2R,3R,4R,5R)-5-(6-Бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-(((2-цианоэтоксидициклопентил)фосфоротиоил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат (6,43 г) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином, суспендировали в безводном пиридине (130 мл). Прибавили к нему 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (3,73 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере аргона. Прибавили к нему воду (5,17 мл) и иод (1,90 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительного 1 ч. Реакционную смесь погасили тиосульфатом натрия (7,16 г) и воды (3,6 мл) и экстрагировали этилацетатом. Органический слой промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом магния, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (4,60 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 1112,2.

Ф) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2-гидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-10-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (оптический изомер).

К N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидициклопентил)фосфоротиоил)окси)-2-гидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетра(пропан-2-ил)дисилоксанил)окси)-2-оксидо-10-сульфидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамиду (6,42 г) прибавили 40% метанольный раствор метиламина (30 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере аргона. Полученную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). Полученный остаток очищали с помощью ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 мМ водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил), полученную фракцию концентрировали при пониженном давлении и остаток подверг-

ли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (420 мг). МС:  $[M+H]^+$  955,2.

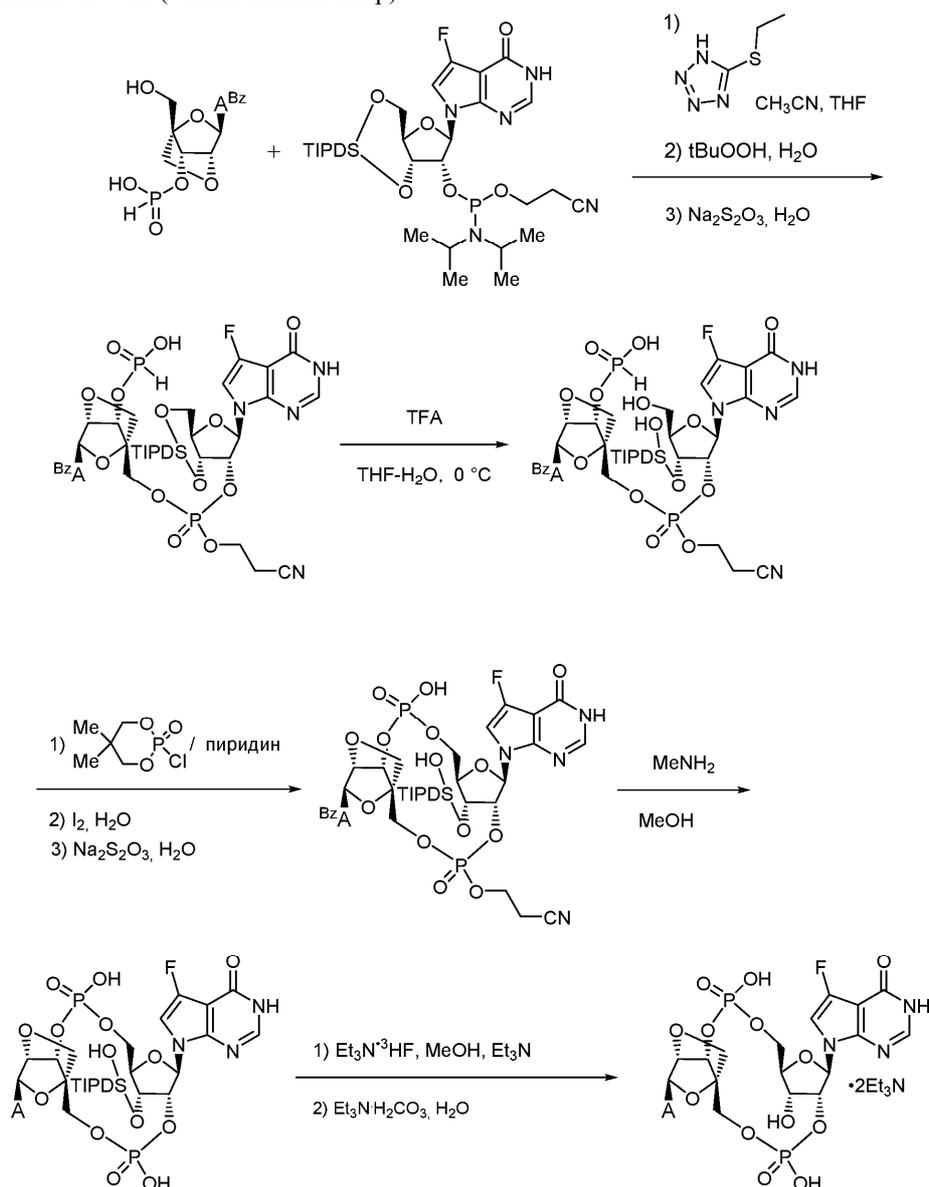
Г) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-10-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2-гидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-10-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (оптический изомер, полученный из tR2) (420 мг) прибавили тригидрофторид триэтиламина (9,68 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 7,5 ч. К реакционной смеси прибавили этокситриметилсилан (36,3 мл) при комнатной температуре и перемешивали смесь в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле С18 (10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил), и подвергали лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (298 мг).

$^1H$  ЯМР (300 МГц,  $D_2O$ )  $\delta$  1,13-1,29 (16H, м), 3,12 (1H, к,  $J=7,2$  Гц), 3,99-4,29 (4H, м), 4,31-4,43 (2H, м), 4,50 (1H, д,  $J=9,1$  Гц), 4,81-5,08 (3H, м), 5,39-5,61 (1H, м), 6,30-6,42 (2H, м), 7,24 (1H, д,  $J=1,9$  Гц), 7,92 (1H, с), 8,09 (1H, с), 8,19 (1H, с).

$^{31}P$  ЯМР (121 МГц,  $D_2O$ )  $\delta$  52,2, 1,63.

Пример 16. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-2,10,18-тригидрокси-2,10-диоксидогексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7(12H)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



А) (1R,3R,4R,7S)-3-(6-бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-1-(((2-цианоэтоксидиэтил)амина)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат (2,00 г) и 2-цианоэтил-((2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-7(4Н)-ил)-4-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)фосфорил)окси)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат.

(1S,3R,4R,7S)-3-(6-Бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-1-(гидроксиметил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат (2,00 г) и 2-цианоэтил-((2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-7(4Н)-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-ф][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-диизопропилфосфорамидит (4,23 г) подвергали азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом (около 50 мл, трижды) и суспендировали в безводном ТГФ (16 мл). 5-(Этилсульфанил)-2Н-тетразол (1,75 г), который был предварительно подвергнут азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом (около 30 мл, трижды), растворили в безводном ацетонитриле (16 мл), раствор прибавили к вышеупомянутой суспензии и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч в потоке аргона. Прибавили к ней 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (1,86 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. Реакционную смесь погасили 10% водным раствором тиосульфата натрия (13 мл) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток последовательно подвергли азеотропной сушке ацетонитрилом (около 80 мл) и толуолом (около 80 мл), остаток подвергли очистке с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат), целевую фракцию концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (5,36 г) в виде белого аморфного твердого вещества (смесь двух диастереомеров). МС:  $[M+H]^+$  1090,2.

В) (1R,3R,4R,7S)-3-(6-бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-1-(((2-цианоэтоксидиэтил)амина)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат (2,00 г) и 2-цианоэтил-((2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-7(4Н)-ил)-4-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)фосфорил)окси)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат.

(1R,3R,4R,7S)-3-(6-Бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-1-(((2-цианоэтоксидиэтил)амина)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат (5,36 г) растворили в смеси растворителей ТГФ (60 мл) и воды (13 мл), раствор охладил на ледяной бане. К нему прибавили трифторуксусную кислоту (13,18 мл) и перемешивали смесь при 0°C в течение 4 ч. Реакционную смесь осторожно погасили раствором гидрокарбоната натрия (20,65 г) в воде (250 мл), насыщенным NaCl и экстрагировали этилацетатом-ТГФ (3:1). Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом магния, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток подвергли колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат), целевую фракцию концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (3,06 г) в виде белого аморфного твердого вещества (смесь двух диастереомеров). МС:  $[M+H]^+$  1108,3.

С) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-10-(2-цианоэтоксидиэтил)амина)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-пирроло[2,3-д]пиримидин-7(4Н)-ил)-2-гидрокси-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетра(пропан-2-ил)дисилоксанил)окси)-2,10-диоксидогексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-л][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14(12Н)-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид.

(1R,3R,4R,7S)-3-(6-Бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-1-(((2-цианоэтоксидиэтил)амина)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат (3,06 г) последовательно подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом (около 100 мл) и безводным пиридином (около 100 мл) и растворили в безводном пиридине (75 мл). Прибавили к нему 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (1,78 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере потока аргона. Прибавили к нему воду (1,74 мл) и йод (911 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 15 мин. Реакционную смесь погасили 10% водным раствором тиосульфата натрия (7,5 мл) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавили водой (100 мл) и экстрагировали смесь этилацетатом-ТГФ (3:1). Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над безводным сульфатом магния, растворитель выпарили при пониженном давлении. Прибавили к нему толуол (около 100 мл) и смесь концентрировали снова при пониженном давлении. Остаток подвергли колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат), и целевую фракцию концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (2,38 г) в виде белого аморфного твердого вещества (смесь двух диастереомеров). МС:  $[M+H]^+$  1106,3.

Д) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-2,10-дигидрокси-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетра(пропан-2-ил)дисилоксанил)окси)-2,10-диоксидогексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-л][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-он.

N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-10-(2-цианоэтоксидиэтил)амина)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-пирроло[2,3-д]пиримидин-7(4Н)-ил)-2-гидрокси-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетра(пропан-2-ил)дисилоксанил)окси)-2,10-диоксидогексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-л][1,3,6,9,11,2,10]пента-

оксидифосфациклотетрадецин-14(12Н)-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (2,38 г) растворили в 40% метанольном растворе метиламина (40 мл), раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и концентрировали реакционную смесь при пониженном давлении. Прибавили к нему толуол (около 80 мл) и смесь концентрировали снова при пониженном давлении. Остаток подвергали колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) и целевую фракцию концентрировали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (756 мг) в виде белого твердого вещества. МС:  $[M+H]^+$  949,2.

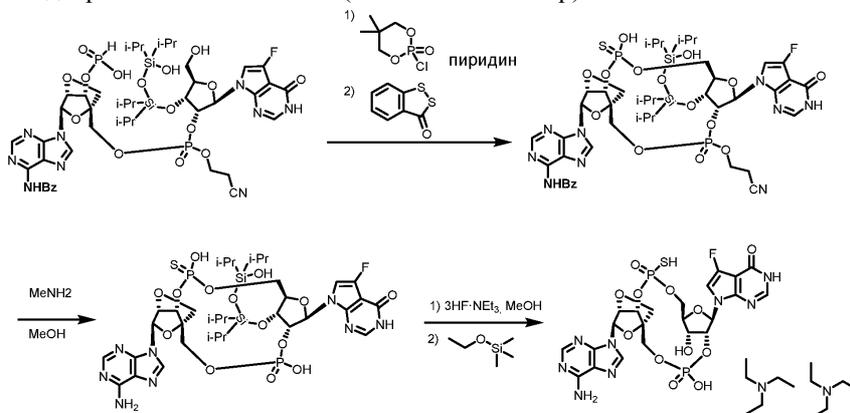
Е) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-2,10,18-тригидрокси-2,10-диоксидогексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-Амино-9Н-пурин-9-ил)-2,10-дигидрокси-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетра(пропан-2-ил)дисилоксанил)окси)-2,10-диоксидогексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (756 мг) растворили в метаноле (2 мл) и триэтиламин (0,8 мл), прибавили к нему тригидрофторид триэтиламина (3,90 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 2 ч. Реакционную смесь оставили охлаждаться до комнатной температуры, нейтрализовали 1М водным раствором гидрокарбоната триэтиламония (110 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток подвергли очистке с помощью ODS колоночной хроматографии (ацетонитрил/10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония). Целевую фракцию концентрировали при пониженном давлении и остаток подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (504 мг) в виде белого твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,20 (18H, т, J=7,4 Гц), 3,12 (12H, к, J=7,2 Гц), 4,02-4,16 (4H, м), 4,23-4,37 (3H, м), 4,55 (1H, д, J=4,5 Гц), 4,82-4,93 (3H, м), 6,12 (1H, с), 6,39 (1H, дд, J=8,3, 1,5 Гц), 7,19 (1H, д, J=1,9 Гц), 7,96 (1H, с), 8,11 (1H, с), 8,17 (1H, с).

<sup>31</sup>P ЯМР (121 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -1,91, -1,80.

Пример 17. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-10,18-дигидрокси-2,10-диокси-2-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



А) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-10-(2-цианоэтоксид)-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диокси-2-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14(12Н)-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид.

(1R,3R,4R,7S)-3-(6-Бензамидо-9Н-пурин-9-ил)-1-(((2-цианоэтоксид)(((2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)-4-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)фосфорил)оксиметил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил гидрофосфонат (3,71 г) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином, суспендировали в безводном пиридине (70 мл). К нему прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид (2,15 г) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере аргона. К нему прибавили 3Н-бензо[с][1,2]дитиол-3-он (674 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительного 1 ч. К реакционной смеси прибавили насыщенный водный раствор гидрокарбоната натрия и экстрагировали смесь этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над сульфатом натрия, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (2,78 г). МС:  $[M+H]^+$  1122,2.

В) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-10-гидрокси-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-2-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуру[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-он (оптический изомер).

N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-10-(2-Цианоэтокси)-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-7-ил)-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-2-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуру[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14(12Н)-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (2,78 г) растворили в 40% метанольном растворе метиламина (50 мл), раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч в атмосфере аргона и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). Полученный остаток очищали с помощью ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 мМ водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (30 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 965,3.

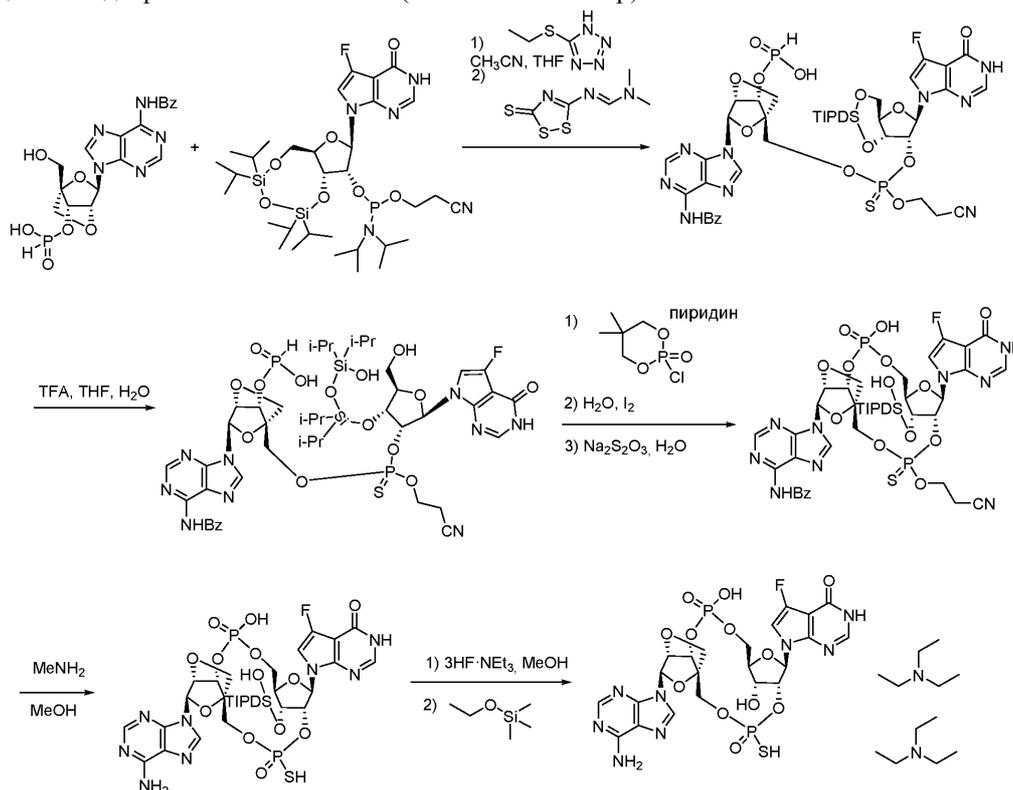
С) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-10,18-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуру[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-10-гидрокси-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-2-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуру[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-ону (оптический изомер) (30 мг) прибавили тригидрофторид триэтиламина (0,70 мл) и метанол (1 мл), перемешивали смесь при 50°C в течение 3 ч. К реакционному раствору прибавили этокси(триметил)силан (2,5 мл), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле С18 (10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил), и полученное твердое вещество подвергли лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (25 мг).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,19 (18H, т, J=7,4 Гц), 3,11 (12H, к, J=7,2 Гц), 3,99-4,09 (3H, м), 4,09-4,17 (2H, м), 4,22-4,29 (1H, м), 4,34-4,38 (1H, м), 4,50-4,54 (2H, м), 4,90-4,96 (1H, м), 5,06 (1H, с), 6,11 (1H, с), 6,35 (1H, дд, J=8,3, 1,1 Гц), 7,19 (1H, д, J=2,3 Гц), 7,94 (1H, с), 8,08 (1H, с), 8,16 (1H, с).

<sup>31</sup>P ЯМР (121 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 55,76, -1,56.

Пример 18. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-2,18-дигидрокси-2,10-диоксидо-10-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуру[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)





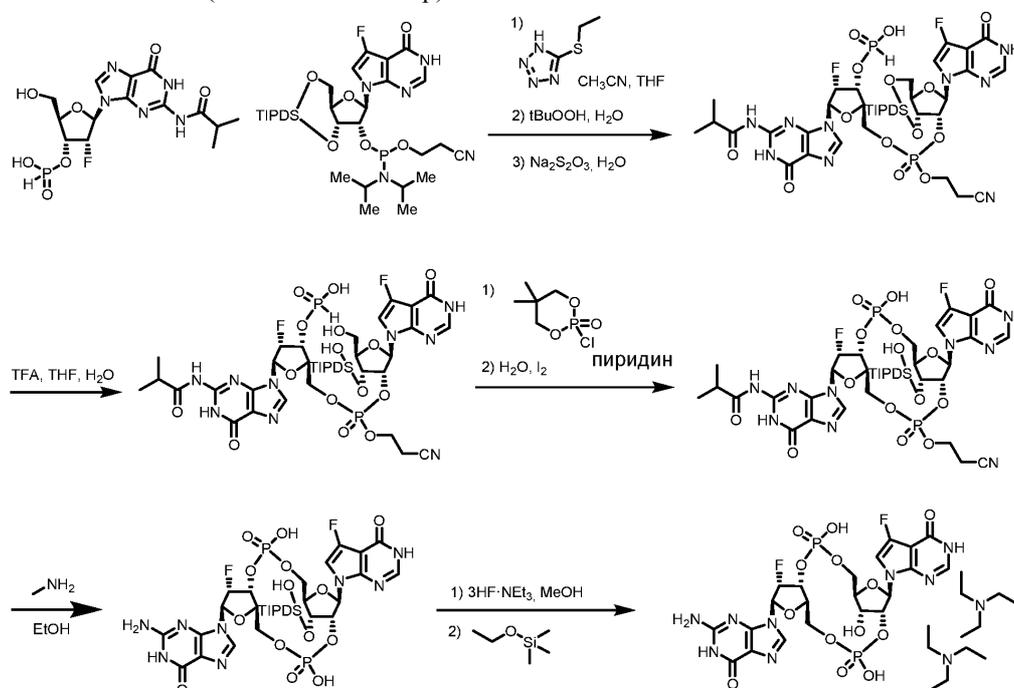
пентаоксидифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

К раствору 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-2-гидрокси-18-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетра(пропан-2-ил)дисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-10-сульфанилгексагидро-14Н-15,12а-(эпоксиметано)-5,8-метанофуро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7(12Н)-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-она (оптический изомер, полученный из tR2) (710 мг) в метаноле (20 мл) прибавили тригидрофторид триэтиламина (4,80 мл) и перемешивали смесь при 50°C в течение 3 ч. К реакционной смеси при комнатной температуре прибавили этокситриметилсилан (2,29 мл) и перемешивали смесь в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле С18 (10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил), подвергали лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (530 мг).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,22 (18Н, т, J=7,2 Гц), 3,14 (12Н, к, J=7,6 Гц), 4,03-4,19 (4Н, м), 4,25-4,41 (3Н, м), 4,65 (1Н, д, J=4,5 Гц), 4,84 (1Н, д, J=4,5 Гц), 4,91 (1Н, с), 4,99 (1Н, дд, J=10,1, 8,2, 4,3 Гц), 6,14 (1Н, с), 6,39 (1Н, д, J=7,9 Гц), 7,17 (1Н, д, J=2,3 Гц), 7,97 (1Н, с), 8,11 (1Н, с), 8,19 (1Н, с).

<sup>31</sup>P ЯМР (121 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 52,5, 1,74.

Пример 19. Синтез 2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14-ил)-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер)



A) (2R,3R,4R,5R)-2-(((2-цианоэтокс)(((6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил)окси)фосфорил)окси)метил)-4-фтор-5-(2-изобутиламино-6-оксо-1Н-пурин-9(6Н)-ил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

2'-Дезокси-2'-фтор-3'-О-(гидрокси(оксидо)фосфоранил)-N-изобутирилгуанозин (680 мг) и 2-цианоэтил-(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-диизопропилфосфорамидит (1535 мг) подвергали азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом (трижды) и суспендировали в безводном ТГФ (10,00 мл). К суспензии прибавили смесь 5-(этилсульфанил)-2Н-тетразола (633 мг) (который подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом) и безводного ацетонитрила (10 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 7 ч в атмосфере аргона. К смеси прибавили смесь 2-цианоэтил-(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-4-оксо-3Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4Н)-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-диизопропилфосфорамидита (1181 мг, 1,62 ммоль) (который подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом) и безводного ацетонитрила (3 мл), смесь 5-(этилсульфанил)-2Н-тетразола (633 мг) (который подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом) и безводного ацетонитрила (3 мл), смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре в атмосфере аргона. К реакционной смеси прибавили 70% водный раствор трет-бутилгидропероксида (0,674 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. К реакционной смеси прибавили смесь пентагидрата тиосульфата натрия (2817

мг) и воды (4 мл), растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (1260 мг). МС:  $[M+H]^+$  1062,3.

В) (2R,3R,4R,5R)-2-(((2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)-4-фтор-5-(2-изобутиламино)-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

К смеси (2R,3R,4R,5R)-2-(((2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)-4-фтор-5-(2-изобутиламино)-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфоната (1,26 г), ТГФ (16 мл) и воды (4 мл) прибавили трифторуксусную кислоту (3,18 мл) при 0°C и перемешивали смесь в течение 4 ч. К смеси прибавили водный раствор гидрокарбоната натрия (4,98 г) и смесь насытили хлоридом натрия. Смесь экстрагировали этилацетатом/ТГФ и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (1000 мг). МС:  $[M+H]^+$  1080,3.

С) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-6-оксо-6,9-дигидро-1H-пурин-2-ил)-2-метилпропанамид (2R,3R,4R,5R)-2-(((2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)метил)-4-фтор-5-(2-изобутиламино)-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (1 г) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином и суспендировали в безводном пиридине (24 мл). Прибавили к нему 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (598 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 15 мин в атмосфере аргона. Прибавили к нему воду (0,584 мл) и иод (305 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 25 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (800 мг). МС:  $[M+H]^+$  1078,2.

Д) 2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он (оптический изомер).

К N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-6-оксо-6,9-дигидро-1H-пурин-2-ил)-2-метилпропанамиду (800 мг, 0,74 ммоль) прибавили 33% этанольный раствор метиламина (30 мл), смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре в атмосфере аргона, растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). Полученный остаток очищали с помощью ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 mM водный раствор ацетат аммония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (163,4 мг). МС:  $[M+H]^+$  955,3.

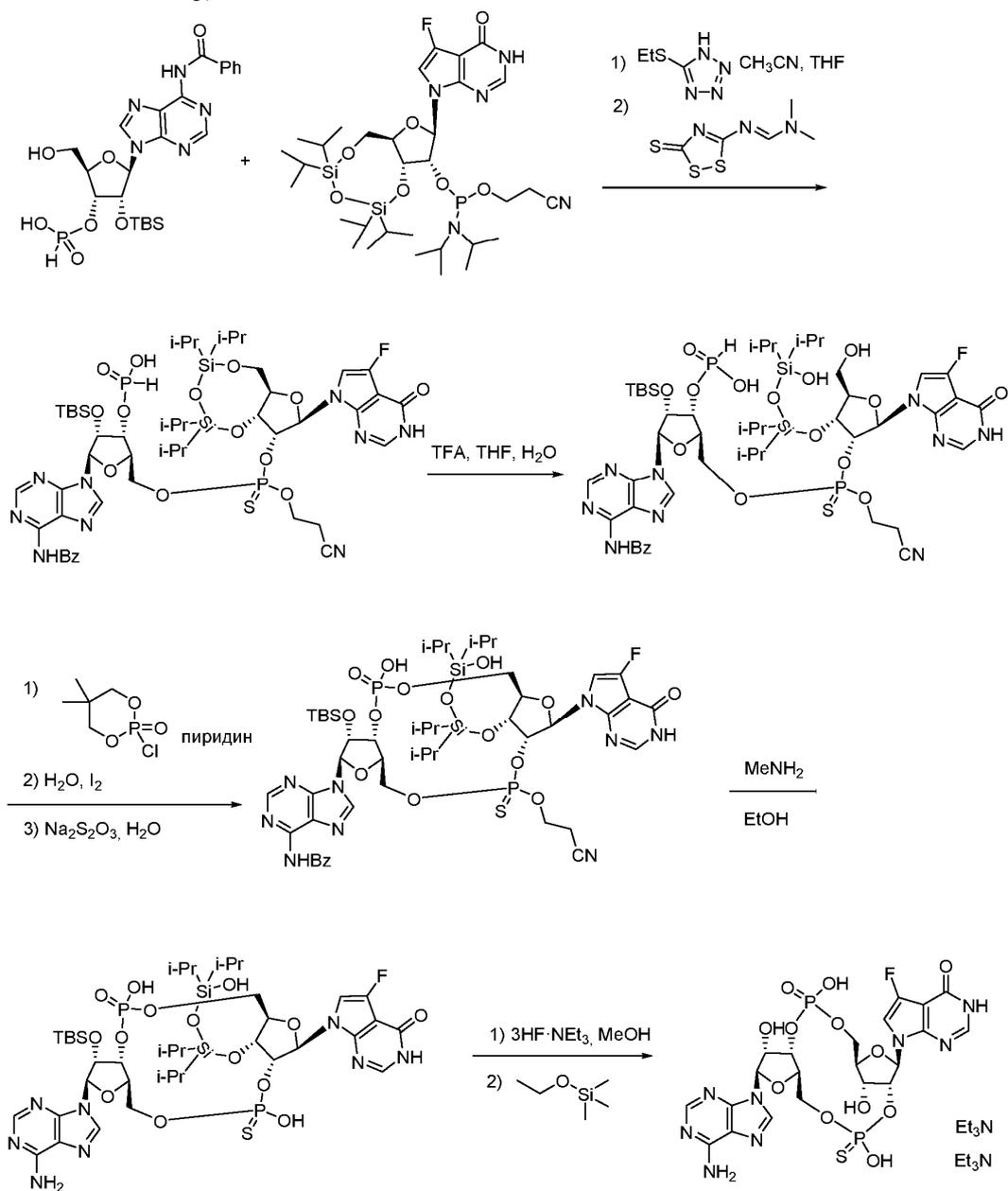
Е) 2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер).

Смесь 2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидициклопропил)дифосфорил)окси)-2,10-дигидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдифосфорил)окси)-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-она (оптический изомер) (21,4 мг), тригидрофторид триэтиламина (0,183 мл) и метанола (0,07 мл) перемешивали при 50°C в течение 1 ч в атмосфере аргона. К реакционной смеси прибавили этокси(триметил)силан (1,046 мл), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительных 1 ч и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле C18 (10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония/ацетонитрил) и подвергали лиофильной сушке с получением указанного в заголовке соединения (4,6 мг).

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,20 (18H, т, J=7,3 Гц), 3,13 (12H, к, J=7,3 Гц), 4,07 (2H, д, J=11,1 Гц), 4,25 (2H, д, J=7,6 Гц), 4,33-4,99 (4H, м), 5,04-5,25 (1H, м), 5,41-5,70 (1H, м), 6,17 (1H, д, J=19,0 Гц), 6,38 (1H, д, J=9,2 Гц), 7,32 (1H, с), 7,79 (1H, уш.с), 7,95 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (121 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -1,61, -1,52.

Пример 20. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2-оксидо-10-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаокси-дифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламиновой соли (оптический изомер)



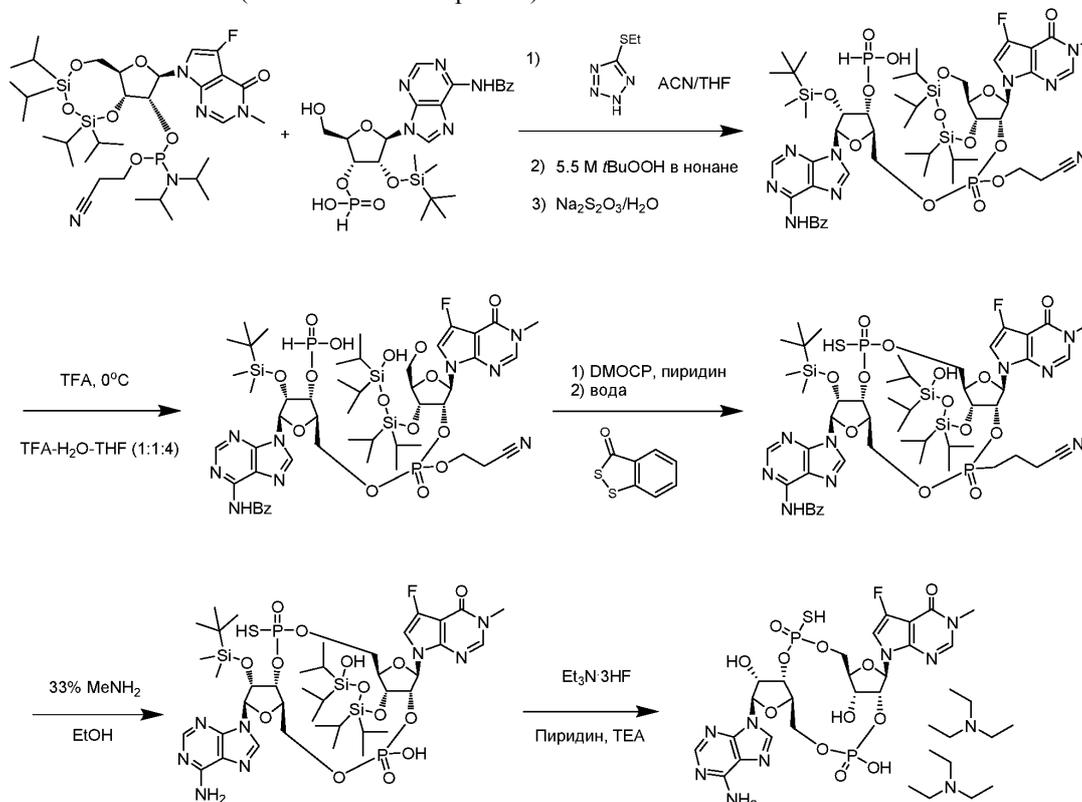
А) (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(((2-цианоэтокси) (((6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-4-оксо-3H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4H)-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил)окси)фосфотиоил)окси)метил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

Смесь (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил гидрофосфоната (3,0 г) и 2-цианоэтил-(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-4-оксо-3H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7(4H)-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-диизопропилфосфорамидита (5,36 г) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и суспендировали в безводном ацетонитриле (25 мл) и безводном ТГФ (15 мл). 5-(Этилсульфанил)-2H-тетразол (2,13 г), который был предварительно подвергнут азеотропной перегонке с безводным ацетонитрилом, растворили в безводном ацетонитриле (15 мл), раствор прибавили к вышеупомянутой суспензии и перемешивали смесь в течение ночи при комнатной температуре в атмосфере аргона. К нему прибавили ((диметиламинометилен)амино)-3H-1,2,4-дитазолин-3-тион (2,24 г), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительного 1 ч. Растворитель выпарили при пониженном давлении, остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (мета-



м), 4,27-4,40 (2H, м), 4,46 (1H, д, J=6,4 Гц), 4,73-4,79 (2H, м), 4,80-4,91 (1H, м), 5,02 (1H, тд, J=8,8, 4,2 Гц), 6,08 (1H, д, J=1,7 Гц), 6,35 (1H, д, J=8,1 Гц), 7,27 (1H, д, J=1,7 Гц), 7,93 (1H, с), 8,14 (1H, с), 8,18 (1H, с).  
<sup>31</sup>P ЯМР (121 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 52,4, 1,21.

Пример 23. Синтез 7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-10,15,16-тригидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пента-оксидифосфациклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинового соли (оптический изомер 1 и 2)



А) (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-4-{[трет-бутил(диметил)силил]окси}-2-({[(2-цианоэтоксидо)({(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил)окси} фосфорил]окси} метил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

(2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-4-{[трет-бутил(диметил)силил]окси}-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (250 мг) и 2-цианоэтил-(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-диизопропилфосфорамидит (359 мг) (стадия С, пример 24) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и к ним прибавили безводный ацетонитрил (1,1 мл) и безводный тетрагидрофуран (0,7 мл). К смеси прибавили раствор 5-(этилсульфанил)-2H-тетразола (175 мг) (который подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом) в безводном ацетонитриле (0,75 мл), и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 2 ч. К ней прибавили трет-бутилгидропероксид (5,5 моль/л) в нонане (0,25 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 40 мин. Реакционную смесь охладили на ледяной бане и прибавили раствор тиосульфата натрия (345 мг) в воде (0,275 мл). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение 15 мин и концентрировали при пониженном давлении. Сырой продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/дихлорметан) с получением указанного в заголовке соединения (318 мг) в виде смеси диастереомеров. МС: [M+H]<sup>+</sup> 1206,3.

В) (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-4-{[трет-бутил(диметил)силил]окси}-2-({[(2-цианоэтоксидо)({(2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-5-(гидроксиметил)-4-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропидисилоксанил)окси]тетрагидрофуран-3-ил)окси} фосфорил]окси} метил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

(2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-4-{[трет-бутил(диметил)силил]окси}-2-({[(2-цианоэтоксидо)({(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил)окси} фосфорил]окси} метил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (315 мг) растворили в смеси тетрагидрофурана (2,8 мл) и воды (0,71 мл) и раствор оставили перемешиваться, охладжали на ледяной бане. По каплям прибавили трифторуксусную кислоту (0,71 мл) и смесь оставили перемешиваться при 0-5°C в течение 2 ч 15

мин. К реакционной смеси постепенно прибавили гидрокарбонат натрия (1,14 г) при поддержании хорошего перемешивания с последующим добавлением воды (3 мл) и этилацетата (10 мл). Отделенный водный слой экстрагировали этилацетатом (10 мл). Объединенные органические фазы промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (3 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и растворитель выпарили при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/метилхлорид) с получением указанного в заголовке соединения (145 мг). МС:  $[M+H]^+$  1224,3.

С) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтокси)-7-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9Н-пурин-9-ил]-4-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-2-((2-цианоэтокси)((2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-5-(гидроксиметил))-4-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)тетрагидрофуран-3-ил)окси) фосфорил)окси)метил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (143 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и прибавили к нему безводный пиридин (2,3 мл). К смеси прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид (75 мг), и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 45 мин. К нему прибавили воду (75 мкл) и 3Н-1,2-бензодитиол-3-он-1,1-диоксид (29 мг) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение дополнительных 40 мин. К реакционной смеси прибавили раствор пентагидрата тиосульфата натрия (150 мг) в воде (0,35 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 5 мин. Смесь концентрировали, к ней прибавили толуол и смесь концентрировали при пониженном давлении (повторили 4X). Сырой продукт очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/дихлорметан) с получением указанного в заголовке соединения (84 мг) в виде смеси диастереомеров. МС:  $[M+H]^+$  1238,3.

Д) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-гидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

К N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-15-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-(2-цианоэтокси)-7-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамиду (83 мг) прибавили 33% этанольный раствор метиламина (2,0 мл) и перемешивали смесь в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч, концентрировали при пониженном давлении. Сырой продукт очищали с помощью обращенно-фазной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf Gold HP C18 15,5 г), элюируя от 0 до 70% ACN в 10 mM водн.  $NH_4OAc$  с получением двух изолированных индивидуальных изомеров, указанных в заголовке соединениях: пик 1 (ранняя фракция, 11 мг) и пик 2 (поздняя фракция, 44,5 мг). МС:  $[M+H]^+$  1081,3.

Е) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-10,15,16-тригидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер 1).

К 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-((трет-бутил(диметил)силил)окси)-10-гидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси)-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ону (324 мг, пик 2/последняя фракция со стадии Д) прибавили пиридин (6,0 мл) и тригидрофторид триэтиламина (0,303 мл). Реакционную смесь перемешивали при 55°C в течение 16 ч. Анализ ЖХ-МС показал наличие некоторых из монозащищенных промежуточных соединений. Прибавили метанол (2,0 мл) и перемешивали реакционную смесь при 55°C в течение 3 ч. Затем ЖХ-МС показал завершение реакции. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и прибавили воду (6,7 мл) и хлорид кальция (700 мг). Полученную суспензию перемешивали в течение 1 ч и фильтровали через слой Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью обращенно-фазной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf Gold HP C18Aq), элюируя от 0 до 15% ACN в 10 mM водн. ацетате триэтиламиния, с получением указанного в заголовке соединения (195 мг). МС:  $[M+H]^+$  707,1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 1,27 (18H, т, J=7,3 Гц), 3,19 (12H, к, J=7,3 Гц), 3,35 (3H, с), 4,06-4,10 (1H, м), 4,18-4,26 (1H, м), 4,32-4,37 (1H, м), 4,39-4,54 (3H, м), 4,63 (1H, д, J=4,0 Гц), 4,80-4,82 (1H, м), 5,03-5,12 (2H, м), 6,15-6,17 (1H, м), 6,35-6,39 (1H, м), 7,33-7,37 (1H, м), 8,13 (1H, с), 8,15 (1H, с), 8,27 (1H, с).

<sup>31</sup>P ЯМР (162 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -2,22, 54,80.

<sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -164,6.

Ф) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-10,15,16-тригидрокси-2,10-

диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофууро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфа-циклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламино-вая соль (оптический изомер 2).

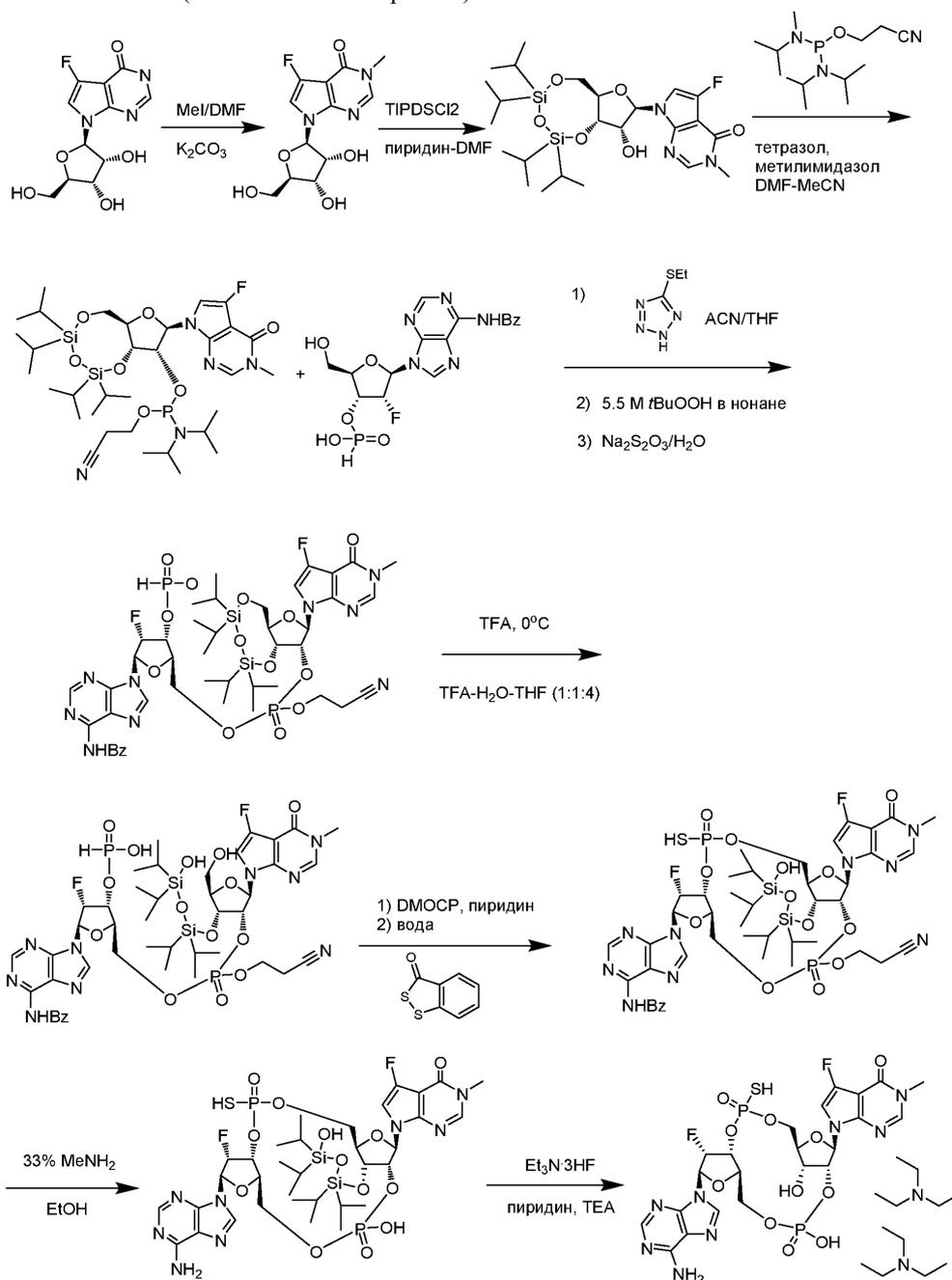
Оптический изомер 2 был получен с использованием той же методики, что и для оптического изомера 1. 7-{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-[[трет-бутил(диметил)силил]окси]-10-гидрокси-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофууро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфа-циклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (24,5 мг, пик 1/первая фракция со стадии D) дает указанное в заголовке соединения (11,8 мг). МС:  $[M+H]^+$  707,1.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  м.д. 1,25 (18H, т,  $J=7,22$  Гц), 3,17 (к,  $J=7,24$  Гц, 12H), 3,35 (3H, с), 4,12-4,22 (3H, м), 4,40-4,53 (3H, м), 4,62 (1H, м), 4,83-4,90 (1H, м), 4,93-4,98 (1H, м), 5,09-5,15 (1H, м), 6,16 (1H, с), 6,28-6,36 (1H, м), 7,50 (1H, с), 8,12 (1H, с), 8,15 (1H, с), 8,31 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (162 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -2,42, 54,11.

$^{19}\text{F}$  ЯМР (376 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -165,54.

Пример 24. Синтез 7-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофууро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфа-циклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламиновой соли (оптический изомер 1 и 2)



А) 7-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил]-5-фтор-3-метилпирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

7-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил]-5-фтор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (300 мг) растворили в N,N-диметилформамиде (3,30 мл) и прибавили карбонат калия (192 мг). Суспензию охладил на ледяной бане. Прибавили иодометан (0,080 мл). Смесь перемешивали с охлаждением в течение 5 мин и затем перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь концентрировали и прибавили воду, нейтрализовали 1М HCl до pH ~6. Полученное твердое вещество собирали фильтрованием и сушили под вакуумом в течение ночи с получением указанного в заголовке соединения (266 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 300,1.

В) 5-Фтор-7-[(6aR,8R,9R,9aS)-9-гидрокси-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-8-ил]-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

7-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-2-ил]-5-фтор-3-метилпирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (985 мг) (предварительно 3 раза подвергнутый азеотропной перегонке с ацетонитрилом и высушенный в вакууме в течение 5 ч) растворили в пиридине (9,75 мл) и N,N-диметилформамиде (4,80 мл). После перемешивания в течение 15 мин по каплям прибавили 1,3-дихлор-1,1,3,3-тетраизопропилдисулоксан (1,02 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь концентрировали при пониженном давлении и подвергли азеотропной перегонке с толуолом. Остаток разделили между EtOAc (120 мл) и водой (50 мл). Отделенный органический слой промывали водой (2×50 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью хроматографии, используя EtOAc/гексан с получением указанного в заголовке соединения (1,41 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 542,3.

С) 2-Цианоэтил-(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-диизопропилфосфорамидит.

В 15 мл круглодонной колбе 5-фтор-7-[(6aR,8R,9R,9aS)-9-гидрокси-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-8-ил]-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (1,41 г) подвергли азеотропной перегонке с сухим ацетонитрилом (3×5 мл), растворили в сухом N,N-диметилформамиде (6,17 мл) в атмосфере аргона. Прибавили 1Н-тетразол 0,45М в ацетонитриле (7,05 мл), 1-метил-1Н-имидазол (123 мкл) и 2-цианоэтил-N,N,N',N'-тетраизопропилфосфородиамидит (1,86 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь разбавили 70 мл EtOAc, промывали насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (× 2) и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Сырой остаток очищали с помощью колоночной хроматографии, используя EtOAc/гексан (0,5% Et<sub>3</sub>N) с получением указанного в заголовке соединения (1,87 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 742,4.

Д) (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9Н-пурин-9-ил]-2-({[(2-цианоэтоксид)({(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил)окси} фосфорил)окси} метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

В 100 мл круглодонной колбе 2-цианоэтил-(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-диизопропилфосфорамидит (937 мг) и (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9Н-пурин-9-ил]-4-фтор-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (425 мг) подвергли азеотропной перегонке с сухим CH<sub>3</sub>CN (3×5 мл), суспендировали в сухом тетрагидрофуране (1,80 мл) и ацетонитриле (2,95 мл) в атмосфере аргона. Прибавили раствор 5-(этилтио)-1Н-тетразола (380 мг) (предварительно подвергнутый азеотропной перегонке с ацетонитрилом 3×5 мл) в сухом ацетонитриле (1,80 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавили трет-бутилгидропероксид (5,5 моль/л) в нонане (425 мкл). Смесь перемешивали в течение 40 мин при комнатной температуре, затем охладил на ледяной бане. Добавили раствор тиосульфата натрия (500,0 мг) в воде (700 мкл) и смесь перемешивали в течение 10 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/ДХМ). Получили указанное в заголовке соединение (1,10 г) в виде смеси двух оптических изомеров. МС: [M+H]<sup>+</sup> 1094,3.

Е) (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9Н-пурин-9-ил]-2-({[(2-цианоэтоксид)({(2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-5-(гидроксиметил)-4-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисулоксанил)окси]тетрагидрофуран-3-ил)окси} фосфорил)окси} метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

К раствору (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9Н-пурин-9-ил]-2-({[(2-цианоэтоксид)({(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуоро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил)окси} фосфорил)окси} метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфоната (1,10 г) в тетрагидрофуране (11,0 мл) и воде (2,50 мл), охлажденному на ледяной бане, медленно прибавили трифторуксусную кислоту (2,50 мл). Смесь перемешивали

вали с охлаждением в течение 4 ч. Прибавили гидрокарбонат натрия (3800 мг), с последующим прибавлением 8 мл воды. Смесь перемешивали в течение 5 мин, привели к комнатной температуре и дважды экстрагировали EtOAc. Объединенный органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и фильтрат выпарили при пониженном давлении с получением сырого продукта. Хроматография на колонке с силикагелем (метанол/ДХМ) дала указанное в заголовке соединение (1,14 г). МС: [M+H]<sup>+</sup> 1112,3.

F) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксид)-15-фтор-7-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамид.

В 100 мл круглодонной колбе (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-2-((2-цианоэтоксид)((2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-5-(гидроксиметил)-4-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]тетрагидрофуран-3-ил)окси)фосфорил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (149 мг) подвергли азеотропной перегонке с ацетонитрилом (3×4 мл) и сушили в вакууме, растворили в сухом пиридине (2,35 мл) и охладили на ледяной бане. Прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфоринан 2-оксид (180 мг) в пиридине (0,120 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Прибавили воду (70,3 мкл), с последующим прибавлением 3H-1,2-бензодитиол-3-она (56,2 мг). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение 40 мин. Прибавили тиосульфат натрия (135 мг) в 1 мл воды. Смесь перемешивали в течение 10 мин, концентрировали при пониженном давлении, подвергли азеотропной перегонке с толуолом для удаления пиридин. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/ДХМ) с получением указанного в заголовке соединения в виде смеси двух оптических изомеров (63,6 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 1126,3.

G) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10-гидрокси-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он.

Смесь двух изомеров N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксид)-15-фтор-7-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (60,7 мг) перемешивали в метиламине (33 мас.%) в этаноле (3,00 мл) при комнатной температуре в течение 1 ч. Летучее вещество выпарили при пониженном давлении. Сырой продукт очищали с помощью обращенно-фазной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf Gold HP C18), элюируя от 0 до 50% ACN в 10 mM водном NH<sub>4</sub>OAc, с получением двух изолированных индивидуальных изомеров указанных в заголовке соединений: пик 1 (ранняя фракция, 12 мг) и пик 2 (поздняя фракция, 35,6 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 969, 3.

H) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер 1).

В 15 мл полипропиленовую коническую пробирку загрузили 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10-гидрокси-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (35,6 мг, пик 2/последняя фракция со стадии G). Прибавили пиридин (273 мкл), с последующим прибавлением тригидрофторида триэтиламина (27,3 мкл) и триэтиламина (414 мкл). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи и при 50°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охладили на ледяной бане и разбавили водой (1,3 мл). Медленно прибавили раствор хлорида кальция (146,0 мг) в воде (1,0 мл). Смесь перемешивали в течение 30 мин, затем отфильтровали через слой Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью обращенно-фазной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf Gold HP C18Aq), элюируя от 0 до 10% ACN в 10 mM водн. ацетате триэтиламония, с получением указанного в заголовке соединения (23,9 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 709,2.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, метанол-d<sub>4</sub>) δ 8,29-8,24 (м, 1H), 8,22 (с, 1H), 8,08-8,04 (м, 1H), 7,46-7,40 (м, 1H), 6,48 (д, 1H, J=12 Гц), 6,37 (д, 1H, J=16 Гц), 5,80-5,57 (м, 1H), 5,33-5,12 (м, 1H), 5,05-4,95 (м, 1H), 4,50-4,42 (м, 2H), 4,41-4,34 (м, 1H), 4,34-4,24 (м, 2H), 4,08-3,96 (м, 1H), 3,57 (с, 3H), 3,52-3,48 (м, 1H), 3,25-3,11 (м, 12H), 1,39-1,24 (м, 18H).

<sup>31</sup>P ЯМР (162 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -2,45, 55,32.

<sup>19</sup>F ЯМР (376,5 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -164,60, -200,71.

I) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфа-

циклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер 2).

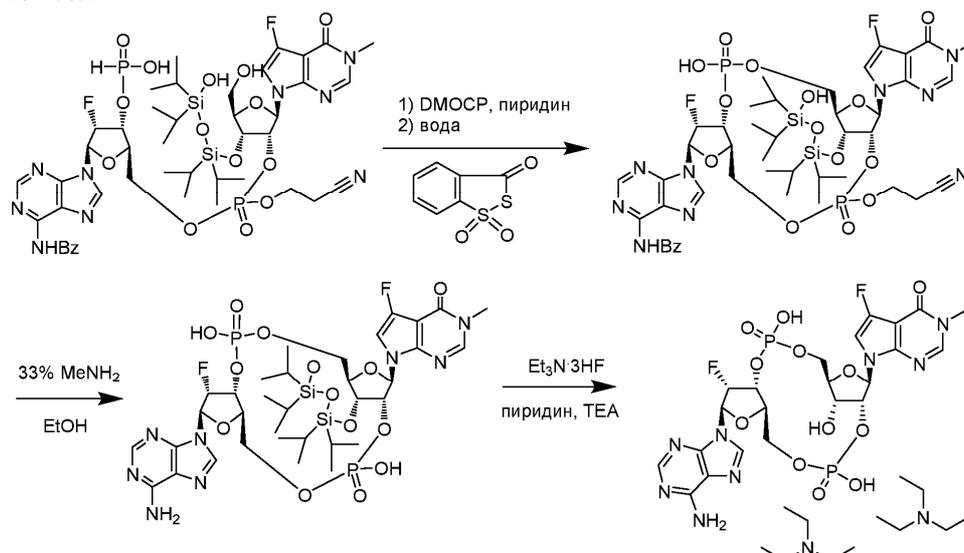
В 15 мл полипропиленовую коническую пробирку загрузили 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-10-гидрокси-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (12,0 мг, пик 1/ранняя фракция со стадии G). Прибавили пиридин (92 мкл), с последующим прибавлением тригидрофторида триэтиламина (9,2 мкл) и триэтиламина (140 мкл). Смесь оставили перемешиваться при 50°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охладили на ледяной бане и разбавили водой (1,0 мл). Медленно прибавили раствор хлорида кальция (6,98 мг) в воде (1,0 мл). Смесь перемешивали в течение 30 мин, затем отфильтровали через слой Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью обращенно-фазной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf Gold HP C18Aq), элюируя от 0 до 10% ACN в 10 mM водн. ацетате триэтиламония, с получением указанного в заголовке соединения (1,94 мг). МС:  $[M+H]^+$  709,3.

$^1H$  ЯМР (400 МГц, оксид дейтерия)  $\delta$  8,20 (с, 1H), 8,06 (с, 1H), 7,99 (с, 1H), 7,46-7,40 (м, 1H), 6,37 (д, 1H,  $J=16$  Гц), 6,27 (д, 1H,  $J=8$  Гц), 5,83 (дд, 1H,  $J_1=52$  Гц,  $J_2=4$  Гц), 4,98-4,84 (м, 2H), 4,57 (уш.д.,  $J=3,9$  Гц, 2H), 4,54-4,48 (м, 2H), 4,46-4,36 (м, 3H), 4,20-4,11 (м, 3H), 3,55-3,47 (м, 3H), 3,20-3,06 (дд, 12H), 1,28-1,12 (т, 18H).

$^{31}P$  ЯМР (162 МГц,  $D_2O$ )  $\delta$  -2,52, 53,94.

$^{19}F$  ЯМР (376,5 МГц,  $D_2O$ )  $\delta$  -165,55, -202,45.

Пример 25. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли



А) N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтоксидо)-15-фтор-7-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2-гидрокси-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид.

В 100 мл круглодонной колбе (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9Н-пурин-9-ил]-2-((2-цианоэтоксидо)((2R,3R,4R,5R)-2-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-5-(гидроксиметил)-4-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]тетрагидрофуран-3-ил)окси)фосфорил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (1,14 г) подвергли азеотропной перегонке с ацетонитрилом (3×4 мл) и сушили под вакуумом, растворили в пиридине (18,0 мл) и охладили на ледяной бане. Прибавили 2 порциями 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфоринан-2-оксид (586 мг). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение 40 мин. Прибавили воду (0,554 мл) с последующим прибавлением 3Н-1,2-бензодитиол-3-он-1,1-диоксида (251 мг). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение 40 мин. Прибавили раствор тиосульфата натрия (810 мг) в 2 мл воды. Смесь концентрировали при пониженном давлении и подвергли азеотропной перегонке с толуолом для удаления пиридина. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/ДХМ) с получением указанного в заголовке соединения (650 мг). МС:  $[M+H]^+$  1111,3.

В) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10-дигидрокси-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро

[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил}-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-он.

В 25 мл круглодонную колбу прибавили N-(9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-10-(2-цианоэтокси)-15-фтор-7-(5-фтор-3-метил-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-7-ил)-2-гидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисулоксанил)окси)-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил)-9Н-пурин-6-ил)бензамид (650 мг) и метиламин (33 мас.%) в абсолютном этаноле (22,7 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью обращенно-фазной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf Gold HP C18), элюируя от 0 до 60% ACN в 10 mM водн. NH<sub>4</sub>OAc, с получением указанного в заголовке соединения (32,0 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 953,3.

С) 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10,16-тригидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-он-дитриэтиламинная соль.

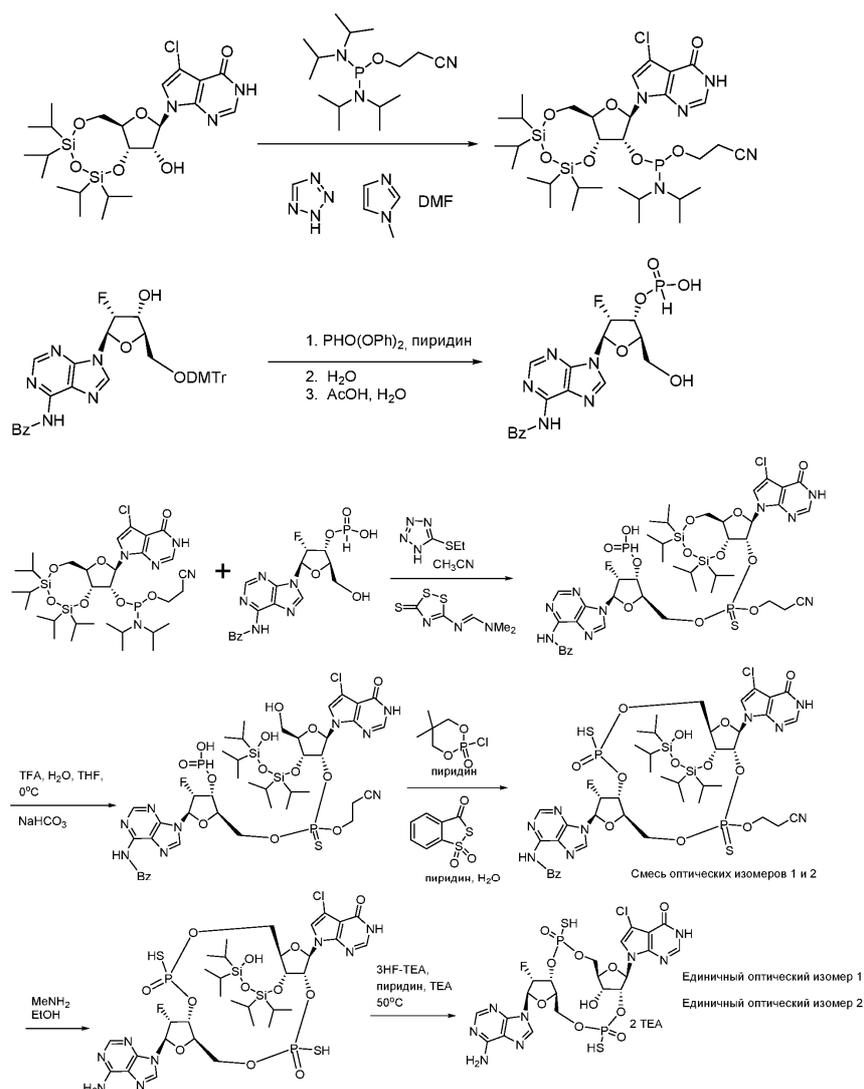
В 15 мл полипропиленовую коническую пробирку загрузили 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-2,10-дигидрокси-16-((3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисулоксанил)окси)-2,10-диоксидооктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-он (32,0 мг) и прибавили пиридин (246 мкл). К суспензии прибавили тригидрофторид триэтиламина (24,6 мкл), с последующим прибавлением триэтиламина (372 мкл). Смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь охладили на ледяной бане и разбавили водой (1 мл). Медленно прибавили раствор хлорида кальция (18,6 мг) в воде (1 мл). Смесь перемешивали в течение 30 мин, затем отфильтровали через слой Celite®. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью обращенно-фазной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf Gold HP C18Aq), элюируя от 0 до 5% ACN в 10 mM водн. ацетате триэтиламония, с получением указанного в заголовке соединения (8,3 мг). МС: [M+H]<sup>+</sup> 693,2.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, метанол-*d*<sub>4</sub>) δ 8,36 (уш., 1H), 8,22 (с, 1H), 8,05 (с, 1H), 7,38 (д, 1H, J=2), 6,48 (д, 1H, J=8), 6,37 (д, 1H, J=16 Гц), 5,70 (дд, 1H, J1=52 Гц, J2=4 Гц), 5,20-5,07 (м, 1H), 4,98-4,92 (м, 1H), 4,53 (д, 1H, J=4 Гц), 4,45-4,33 (м, 2H), 4,33-4,19 (м, 3H), 4,09-4,03 (м, 1H), 3,45 (с, 3H), 3,17 (кт, 12H), 1,28 (т, 18H).

<sup>31</sup>P ЯМР (162 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -1,66, -2,26.

<sup>19</sup>F ЯМР (376,5 МГц, D<sub>2</sub>O) δ -164,5, -201,7.

Пример 26. Синтез 7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12Н-5,8-метанофуоро[3,2-*l*][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-хлор-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-он дитриэтиламинной соли (оптический изомер 1 и оптический изомер 2)



A) (6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-2-цианоэтил диизопропилфосфорамидит.

В 100 мл круглодонной колбе 5-хлор-7-[(6aR,8R,9R,9aS)-9-гидрокси-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6Н-фуро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-8-ил]-3,7-дигидро-4Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (1,469 г) (синтезировали таким же образом, как в способе примера 15А)), подвергли азеотропной перегонке с толуолом (3×) и сушили в вакууме. Из круглодонной колбы откачали воздух и обратно наполнили аргоном (3×). Безводный N,N-диметилформаимид (5,00 мл) прибавили, чтобы растворить исходный материал при обработке ультразвуком в течение минуты, с последующим прибавлением 2-цианоэтил-N,N,N',N'-тетраизопропилфосфородиамидита (2,50 мл), 1-метилимидазола (0,13 мл) и затем 1Н-тетразола (0,45М в ацетонитриле, 6,70 мл). Смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 3 ч. Смесь разбавили EtOAc (200 мл). Прибавили насыщенный раствор  $\text{NaHCO}_3$ . Водный слой дважды экстрагировали EtOAc. Объединенный слой в EtOAc промывали водой, затем насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , отфильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением сырого маслянистого продукта. Сырой материал очищали с помощью колоночной хроматографии (колонка ISCO RediSepRf DIOL HP Gold 100 г), элюируя смесь EtOAc:смесь гексанов (от 1:9 до 1:1) с получением указанного в заголовке соединения (1,77 г). МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+$  661,3 для гидролизованного фрагмента продукта.

В) (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9Н-пурин-9-ил]-4-фтор-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

N-{9-[(2R,3R,4R,5R)-5-[[бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси]метил]-3-фтор-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил]-9Н-пурин-6-ил}бензамид (2,64 г) в атмосфере аргона растворили в безводном пиридине (18,0 мл), охладили на ледяной бане. Дифенилфосфит (1,60 мл) медленно прибавляли в течение 1 мин. Реакционный раствор оставили нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч. Медленно прибавили вторую порцию дифенилфосфита (0,35 мл) и смесь продолжили перемешивать в течение 30 дополнительных мин. Смесь охладили на ледяной бане. Прибавили воду (2,0 мл)

и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении и подвергли азеотропной перегонке с толуолом с дополнительным удалением пиридина и воды. Остаток сушили под вакуумным насосом. К остатку прибавили уксусную кислоту (10,0 мл) и воду (2,0 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении и подвергли азеотропной перегонке с толуолом, затем сушили под вакуумным насосом, получая сырое масло, которое хроматографировали на колонке с силикагелем, используя MeOH/ДХМ (от 0/100 до 50/50), получали 1,33 г указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. МС:  $[M+H]^+$  438,1.

С) (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-2-({[[(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил]окси}(2-цианоэтоксифосфоротиоил]окси}метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат.

В 250 мл круглодонной колбе смесь (6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил-2-цианоэтил диизопропилфосфорамидита (2,23 г) и (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-4-фтор-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфоната (1,17 г) подвергли азеотропной перегонке с сухим ацетонитрилом (25 мл × 3), сушили под вакуумным насосом в течение 1 ч. К смеси прибавили безводный ацетонитрил (20,0 мл) в атмосфере аргона с последующим прибавлением раствора 5-(этилтио)-1H-тетразола (1,00 г) (предварительно подвергнутого азеотропной перегонке с сухим ацетонитрилом, 10 мл × 3 и сушили под вакуумным насосом) в безводном ацетонитриле (10,0 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч 20 мин. Прибавили ((диметиламинометил)иден)амино)-3H-1,2,4-дитиазолин-3-тион (655 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 40 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении.

Хроматография на колонке с силикагелем с использованием MeOH/ДХМ (от 0/100 до 40/60) дала указанное в заголовке соединение (1,78 г) в виде смеси 2 оптических изомеров. МС:  $[M+H]^+$  1112,4.

Е) (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-2-({[[(2R,3R,4R,5R)-2-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-5-(гидроксиметил)-4-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]тетрагидрофуран-3-ил]окси}(2-цианоэтоксифосфоротиоил]окси}метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил гидрофосфонат.

В круглодонной колбе растворили (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-2-({[[(6aR,8R,9R,9aR)-8-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-2,2,4,4-тетраизопропилтетрагидро-6H-фуро[3,2-f][1,3,5,2,4]триоксасилоцин-9-ил]окси}(2-цианоэтоксифосфоротиоил]окси}метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (1,73 г) в тетрагидрофуране (16 мл) и воде (4,0 мл). Раствор охладил на ледяной бане. По каплям прибавили трифторуксусную кислоту (4,0 мл). Смесь перемешивали с охлаждением в течение 4 ч. Порциями прибавили гидрокарбонат натрия (7,00 г) при 0°C с последующим прибавлением воды и EtOAc. Смесь перемешивали в течение 3 мин, затем привели к комнатной температуре. Слои разделили. Водный слой экстрагировали EtOAc (3×). Объединенные фазы раствора EtOAc промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и сушили под вакуумным насосом с получением сырого продукта. Сырой материал очищали на колонке с силикагелем, используя MeOH/ДХМ (от 0/100 до 40/60) с получением указанного в заголовке продукта (1,43 г) в виде смеси 2 оптических изомеров. МС:  $[M+H]^+$  1130,3.

Ф) N-(9-({[[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-7-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10-(2-цианоэтоксифосфоротиоил)-15-фтор-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]-2-оксидо-2-сульфанил-10-сульфидооктагидро-12H-5,8-метанофуро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-14-ил]-9H-пурин-6-ил)бензамид (смесь двух главных оптических изомеров).

В круглодонной колбе (2R,3R,4R,5R)-5-[6-(бензоиламино)-9H-пурин-9-ил]-2-({[[(2R,3R,4R,5R)-2-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-5-(гидроксиметил)-4-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанил)окси]тетрагидрофуран-3-ил]окси}(2-цианоэтоксифосфоротиоил]окси}метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил-гидрофосфонат (1,20 г) подвергли азеотропной перегонке с сухим пиридином (свежеперегнанный)/ацетонитрилом (×2), затем с сухим ацетонитрилом. Полученное белое твердое вещество сушили под вакуумом. В атмосфере аргона прибавили безводный пиридин (20,0 мл) (из бутылки со свежеперегнанным), с последующим прибавлением 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксида (0,700 г). Прозрачный раствор оставили перемешиваться при комнатной температуре в течение 1 ч 10 мин. Прибавили воду (0,70 мл), с последующим прибавлением 3H-1,2-бензодитиол-3-он-1,1-диоксида (0,300 г). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении, подвергли азеотропной перегонке с толуолом (×2), сушили под вакуумным насосом с получением сырого остатка. Сырой остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, используя MeOH/ДХМ (от 0/100 до 20/80). Указанные в заголовке продукты (590 мг) из ранних фракций получили и идентифицировали в виде смеси основных изомеров пиков 2 и 4

из ЖХ-МС; в то время как продукты второй загрузки (389 мг) из поздней фракции представляли собой смесь всех 4 изомеров. МС:  $[M+H]^+$  1144,2.

Г) 7- $\{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)\}$ -14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисулфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-7-ил}-5-хлор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (единичные оптические изомеры 1 и 2).

В атмосфере  $N_2$  N-(9- $\{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)\}$ -7-(5-хлор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10-(2-цианоэтокси)-15-фтор-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисулфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-14-ил}-9H-пурин-6-ил)бензамид (0,584 г, смесь 2 основных изомеров, ранняя фракция из колоночной хроматографии) перемешивали в метиламине (33 мас.%) в абсолютном этаноле (15,0 мл) при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении и сушили под вакуумным насосом, чтобы получить сырое твердое вещество. Две последующие очистки на колонках с силикагелем с использованием MeOH/EtOAc (от 0/100 до 40/60) дали 2 индивидуальных оптических изомера указанных в заголовке соединений: изомер 1 (ранняя фракция/пик 1, 73 мг) и изомер 2 (поздняя фракция/пик 2, 304 мг), фракция смеси пика 1 и 2 (0,30 г). МС (оптический изомер 1):  $[M+H]^+$  987,2. МС (оптический изомер 2):  $[M+H]^+$  987,2.

Н) 7- $\{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)\}$ -14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисулфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-7-ил}-5-хлор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер 1).

В полипропиленовую пробирку прибавили 7- $\{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)\}$ -14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисулфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-7-ил}-5-хлор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (оптический изомер 1, 69,2 мг, ранняя фракция из колоночной хроматографии), пиридин (0,40 мл), с последующим прибавлением тригидрофторида триэтиламина (0,060 мл), затем триэтиламин (0,90 мл). Реакционную смесь в герметично закрытой полипропиленовой пробирке перемешивали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь охладили до комнатной температуры, разбавили водой (1,30 мл). Прибавили раствор хлорида кальция (92,5 мг) в воде (1,30 мл). Белую мутную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем фильтровали через Celite® с использованием пластиковой фильтровальной воронки, промывали водой (1 мл  $\times$  4). Прозрачный водный фильтрат концентрировали при пониженном давлении, несколько раз подвергли азеотропной перегонке с толуолом, сушили в вакууме в течение 10 мин с получением сырого остатка. Сырой остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на колонке C18 (вода-ацетонитрил/10 mM буферный раствор ацетата триэтиламония). Фракцию продукта концентрировали при пониженном давлении, подвергли азеотропной перегонке с толуолом ( $\times$ 4), затем с водой без эндотоксина ( $\times$ 5). Конечный остаток растворили в воде без эндотоксина и лиофилизировали с получением указанного в заголовке продукта (оптический изомер 1, 29,0 мг). МС  $[M+H]^+$  727,0.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, оксид дейтерия)  $\delta$  8,19 (с, 1H), 8,16 (с, 1H), 7,96 (с, 1H), 7,63 (с, 1H), 6,39 (уш.д., J=15,7 Гц, 1H), 6,34 (уш.д., J=8,0 Гц, 1H), 5,60-5,41 (м, 1H), 5,22-5,14 (м, 1H), 5,14-5,02 (м, 1H), 4,55 (уш.д., J=3,8 Гц, 1H), 4,51 (уш.д., J=8,2 Гц, 1H), 4,42 (уш.с, 1H), 4,40 (уш.с, 1H), 4,35-4,28 (м, 1H), 4,16-4,10 (м, 1H), 4,06 (уш. дд, J=4,3, 11,5 Гц, 1H), 3,13 (к, J=7,3 Гц, 12H), 1,21 (т, J=7,3 Гц, 18H).

<sup>31</sup>P ЯМР (162 МГц, оксид дейтерия)  $\delta$  55,29, 54,54.

<sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, оксид дейтерия)  $\delta$  -200,90.

И) 7- $\{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)\}$ -14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисулфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-7-ил}-5-хлор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль (оптический изомер 2).

В полипропиленовую пробирку прибавили 7- $\{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)\}$ -14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-[(3-гидрокси-1,1,3,3-тетраизопропилдисулфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-7-ил}-5-хлор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он (оптический изомер 2, 186 мг, поздняя фракция из хроматографа). Прибавили пиридин (1,1 мл), с последующим прибавлением тригидрофторида триэтиламина (0,161 мл), затем триэтиламина (2,4 мл). Реакционную смесь в герметично закрытой полипропиленовой пробирке перемешивали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь охладили до комнатной температуры, разбавили водой (3,50 мл). Прибавили раствор хлорида кальция (250 мг) в воде (3,50 мл). Белую мутную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь отфильтровали через Celite® с использованием пластиковой фильтровальной воронки, промывали водой (3 мл  $\times$  4). Прозрачный водный фильтрат концентрировали при пониженном давлении, множество раз подвергли азеотропной перегонке с толуолом, сушили в вакууме в течение 10 мин с получением сырого остатка. Сырой остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на колонке C18 (вода-ацетонитрил/10

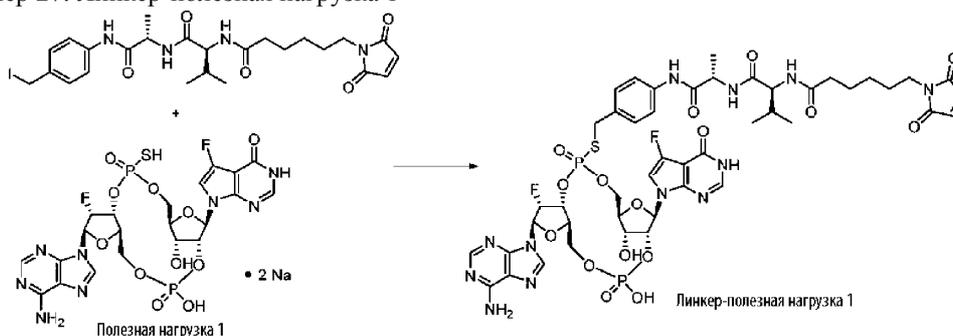
мМ буферный раствор ацетата триэтиламмония). Фракцию продукта концентрировали при пониженном давлении, подвергли азеотропной перегонке с толуолом (×4), затем с водой без эндотоксина (×5). Конечный остаток растворяли в воде без эндотоксинов и лиофилизировали с получением указанного в заголовке продукта (оптический изомер 2, 109 мг). МС  $[M+H]^+$  727,0.

$^1H$  ЯМР (400 МГц, оксид дейтерия)  $\delta$  8,10 (с, 1H), 7,89 (с, 1H), 7,86 (с, 1H), 7,55 (с, 1H), 6,30 (д,  $J=15$ , 9 Гц, 1H), 6,24 (д,  $J=8,2$  Гц, 1H), 5,49-5,27 (м, 1H), 5,07-4,86 (м, 2H), 4,85 (д,  $J=3,9$  Гц, 1H), 4,44 (уш.д.,  $J=9,0$  Гц, 1H), 4,33 (уш.д.,  $J=14,7$  Гц, 2H), 4,28-4,16 (м, 2H), 3,98 (уш.д.,  $J=5,0$ , 11,8 Гц, 1H), 3,04 (к,  $J=7,4$  Гц, 12H), 1,12 (т,  $J=7,3$  Гц, 18H).

$^{31}P$  ЯМР (162 МГц, оксид дейтерия)  $\delta$  55,12, 52,04.

$^{19}F$  ЯМР (376 МГц, оксид дейтерия)  $\delta$  -200,43.

Пример 27. Линкер-полезная нагрузка 1

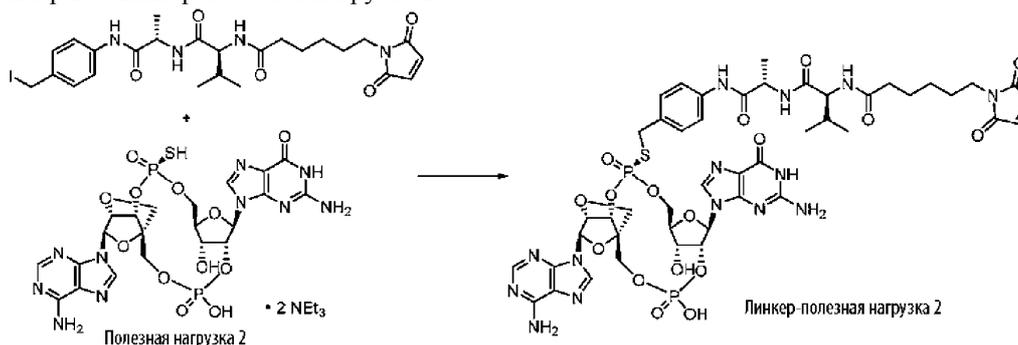


К смеси 6-(2,5-диоксопиррол-1-ил)-N-[(1S)-1-[[[(1S)-2-[4-(гидрокси-метил)анилино]-1-метил-2-оксоэтил]карбамоил]-2-метил-пропил]гексанамида (mc-Val-Ala-PAB-OH, Synchem, Элк Гров Виллидж, Иллинойс, 0,0822 ммоль, 40,0 мг) в безводном ацетонитриле (19,1 ммоль, 1,00 мл, 783 мг) прибавили иодид цезия (0,0986 ммоль, 25,6 мг) и эфират гексафтористого бора (0,0986 ммоль, 0,0125 мл, 14,0 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После 18 ч перемешивания смесь разбавили ~10 мл ДХМ и отфильтровали через слой Celite®. Твердое вещество промывали ДХМ. Фильтрат концентрировали с получением оранжевого твердого вещества. Сырой продукт (mc-Val-Ala-PAB-I) использовали без дополнительной очистки.

В пробирку загрузили раствор динатрий (5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-16-гидрокси-2-сульфидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-10-олат-2,10-диоксид (полезная нагрузка 1, также "соединение из примера 3a", 0,0106 ммоль, 7,80 мг) и 6-(2,5-диоксопиррол-1-ил)-N-[(1S)-1-[[[(1S)-2-[4-(подметил)анилино]-1-метил-2-оксоэтил]карбамоил]-2-метил-пропил]гексанамида (mc-Val-Ala-PAB-I, 0,0208 ммоль, 12,4 мг, сырой) в N,N-диметилформамиде (5,17 ммоль, 0,400 мл, 378 мг) герметично закрыли и нагревали до 60°C. Через 2 ч реакцию охладили до комнатной температуры и очистили с помощью хроматографии на колонке C18 (непрерывный градиент от 20-60%  $CH_3CN$ /вода с 0,1% муравьиной кислотой), чтобы получить N-[(2S)-1-[[[(2S)-1-[[4-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-l][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-2-ил]сульфанил} метил)фенил]амино]-1-оксопропан-2-ил]амино]-3-метил-1-оксобутан-2-ил]-6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамида (5,5 мг, выход 45%) в виде белого твердого вещества.

$^1H$  ЯМР (400 МГц, метанол- $d_4$ )  $\delta$  8,23-8,35 (м, 2H), 8,10 (с, 1H), 7,89-8,02 (м, 1H), 7,84 (с, 1H), 7,52-7,64 (м, 2H), 7,41 (уш.д.,  $J=8,53$  Гц, 2H), 7,22-7,38 (м, 2H), 6,75-6,83 (м, 2H), 6,32-6,43 (м, 2H), 5,71-5,90 (м, 2H), 4,54-4,59 (м, 2H), 4,42-4,51 (м, 2H), 4,07-4,35 (м, 8H), 3,46 (уш.т.,  $J=7,03$  Гц, 2H), 2,27 (уш.т.,  $J=7,34$  Гц, 2H), 2,03-2,15 (м, 2H), 1,53-1,70 (м, 4H), 1,39-1,47 (м, 3H), 1,23-1,37 (м, 2H), 0,92-1,02 (м, 6H). ЖХ-МС:  $m/z$  1163, 1164  $[M+H]^+$ .

Пример 28. Линкер-полезная нагрузка 2



Линкер-полезная нагрузка 2 генерировали в соответствии с методикой в примере 27, используя 2-амино-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-10,18-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилгексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7(12H)-ил]-1,9-дигидро-6H-пурин-6-она сесквитриэтиламиновую соль (полезная нагрузка 2) вместо полезной нагрузки 1.

Полезную нагрузку 2 получили в соответствии с методом ниже.

2-Амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-10,18-дигидрокси-2,10-оксидо-2-сульфанилгексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7(12H)-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он сесквитриэтиламиновая соль (оптический изомер).

А) (1R,3R,4R,7S)-3-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-1-((((2R,3R,4R,5R)-4-(трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидрокси)метил)-2-(2-изобутиламидо-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси(2-цианоэтоксифосфорил)оксиметил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат.

(1S,3R,4R,7S)-3-(6-Бензамидо-9H-пурин-9-ил)-1-(гидрокси)метил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат (700 мг) и 5'-О-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метил]-3'-О-[трет-бутил(диметил)силил]-2'-О-[(2-цианоэтоксифосфорил)диизопропиламино]фосфонил]-N-(2-метилпропаноил)гуанозин (2280 мг) подвергали азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и прибавили к ним безводный ацетонитрил (15 мл) и безводный тетрагидрофуран (5 мл). К смеси прибавили смесь 5-(этилсульфанил)-2H-тетразола (611 мг) (который подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом) и безводный ацетонитрил (10 мл), перемешивали смесь в течение ночи в атмосфере аргона при комнатной температуре. Прибавили к нему 70% трет-бутилгидропероксид (643 мкл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 20 мин. К реакционной смеси прибавили смесь тиосульфата натрия (5920 мг) и воды (3 мл), смесь концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили 80% уксусную кислоту (30 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (980 мг). МС:  $[M+H]^+$  1030,2.

В) 2-Амино-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-18-{трет-бутил(диметил)силил}окси]-2,10-дигидрокси-10-оксидо-2-сульфидогексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7(12H)-ил]-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он (оптический изомер).

(1R,3R,4R,7S)-3-(6-Бензамидо-9H-пурин-9-ил)-1-((((2R,3R,4R,5R)-4-(трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(гидрокси)метил)-2-(2-изобутиламидо-6-оксо-1H-пурин-9(6H)-ил)тетрагидрофуран-3-ил)окси(2-цианоэтоксифосфорил)оксиметил)-2,5-диоксибицикло[2,2,1]гептан-7-ил-гидрофосфонат (980 мг) подвергли азеотропной сушке с безводным ацетонитрилом и безводным пиридином, с прибавлением к нему безводного пиридина (50 мл). К смеси при комнатной температуре прибавили 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан 2-оксид (615 мг) и смесь перемешивали в атмосфере аргона при комнатной температуре в течение 1 ч. Прибавили к ней воду (600 мкл) и 3H-бензо[с][1,2]дитиол-3-он (240 мг) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительных 30 мин. К реакционной смеси прибавили смесь тиосульфата натрия (1180 мг) и воды (3 мл) и смесь концентрировали при пониженном давлении. К остатку прибавили безводный ацетонитрил (15 мл) и 2-метилпропан-2-амин (5,0 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 1,5 ч, концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат) и к полученному остатку прибавили 40% этанольный раствор метиламина (30 мл). Смесь перемешивали в течение ночи в атмосфере аргона при комнатной температуре и реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (метанол/этилацетат). Полученный остаток разделили на два диастереомера (tR1 и tR2, время удерживания которых из ЖХ/МС от короткого до более длинного в указанном порядке) ВЭЖХ (L-колонка 2 ODS, 50×150 мм, подвижная фаза: 5 mM водный раствор ацетата аммония/ацетонитрил) с получением указанного в заголовке соединения (38 мг, tR1) и указанного в заголовке соединения (322 мг, tR2). МС (tR1):  $[M+H]^+$  817,1. МС (tR2):  $[M+H]^+$  817,1.

С) 2-Амино-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-2,10,18-тригидрокси-10-оксидо-2-сульфидогексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7(12H)-ил]-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он сесквитриэтиламиновая соль (оптический изомер).

К 2-амино-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-18-{трет-бутил(диметил)силил}окси]-2,10-дигидрокси-10-оксидо-2-сульфидогексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксиадифосфациклотетрадецин-7(12H)-ил]-1,9-дигидро-6H-пурин-6-ону (оптический изомер) (38 мг, tR1) прибавили метанол (3,0 мл) и тригидрофторид триэтиламина (0,76 мл). Реакционную смесь концентрировали для удаления метанола и перемешивали остаток при 55°C в течение 1 ч. Смесь охладили до комнатной температуры, прибавили к ней этокси(триметил)силан (4,2 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на ко-

лонке C18 (ацетонитрил/10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламмония) с получением указанного в заголовке соединения (27 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,23 (13H, т,  $J=7,3$  Гц), 3,15 (9H, к,  $J=7,3$  Гц), 4,04 (1H, д,  $J=8,3$  Гц), 4,08-4,19 (3H, м), 4,28 (1H, д,  $J=12,2$  Гц), 4,37-4,52 (2H, м), 4,65 (1H, д,  $J=4,2$  Гц), 4,90 (1H, д,  $J=4,6$  Гц), 5,36 (1H, с), 5,55 (1H, тд,  $J=8,5$ , 4,0 Гц), 5,98 (1H, д,  $J=8,3$  Гц), 6,16 (1H, с), 7,94 (1H, с), 8,21 (1H, с), 8,25 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (162 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -1,45, 53,78.

Синтез 2-амино-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-10,18-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилгексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-7(12H)-ил]-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он сесквитриэтиламиновой соли (оптический изомер; полезная нагрузка 2).

К 2-амино-9-[(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,18R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-18-{[трет-бутил(диметил)силил]окси}-2,10-дигидрокси-10-оксидо-2-сульфидогексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадецин-7(12H)-ил]-1,9-дигидро-6H-пурин-6-ону (оптический изомер) (322 мг, tR2) прибавили метанол (3,0 мл) и тригидрофторид триэтиламина (3,2 мл). Реакционную смесь концентрировали для удаления метанола и перемешивали остаток при 55°C в течение 1 ч. Смесь охладили до комнатной температуры, прибавили к ней этокси(триметил)силан (14 мл) и перемешивали смесь при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на колонке C18 (ацетонитрил/10 мМ буферный раствор ацетата триэтиламмония) с получением указанного в заголовке соединения (266 мг).

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  1,23 (14H, т,  $J=7,3$  Гц), 3,15 (10H, к,  $J=7,3$  Гц), 4,02 (1H, д,  $J=8,1$  Гц), 4,13-4,24 (2H, м), 4,27-4,42 (4H, м), 4,59 (1H, д,  $J=4,4$  Гц), 5,01 (1H, с), 5,11 (1H, д,  $J=4,2$  Гц), 5,61-5,73 (1H, м), 5,95 (1H, д,  $J=8,3$  Гц), 6,15 (1H, с), 7,87 (1H, с), 8,00 (1H, с), 8,25 (1H, с).

$^{31}\text{P}$  ЯМР (162 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  -1,93, 55,44.

Пример 29. Общая методика конъюгации ADC.

Раствор антитела разбавили до желаемой концентрации реакции с помощью соответствующего буфера. pH доводили до 7 добавлением 0,5M раствора Трис, 25 мМ ЭДТА в воде (pH 8,0). Прибавили ТСЕР (2,2 экв., 5 мМ в воде) при перемешивании. После 1 ч инкубации при комнатной температуре прибавили 5 экв. линкер-полезная нагрузка (5 мМ в DMA). После 2 дополнительных часов осторожного перемешивания при комнатной температуре смесь очищали дважды через 3 мл колонки обессоливания spinOUT (G-Bioscience, предварительно уравновешенные буфером, содержащим 10 мМ гистидина, 7,5% сахарозы (мас./об.) и 0,08% полисорбата 20 (мас./об.) при pH 5,2), затем буфер заменяли на PBS Дульбекко и концентрировали до 1-3 мг/мл (как определено по УФ-поглощению с использованием стандартного коэффициента экстинкции IgG1) с использованием колонки Vivaspin6 (GE Healthcare). Затем образец был охарактеризован для соотношения лекарственное средство-антитело (DAR) с помощью масс-спектрометрии QTOF. Мономерный состав ADC определяли методом эксклюзионной хроматографии (SEC).

Протокол эксклюзионной хроматографии (SEC).

Приготовление образца.

Приготовьте чистую воду, добавив воду для ВЭЖХ во флакон для ВЭЖХ. Оголенные контрольные антитела и образцы ADC получены от химиков. Контрольные образцы и образцы разбавляют 1XPBS, если концентрация выше 5 мг/мл, или вводят в чистом виде, если концентрация составляет 5 мг/мл или ниже.

Настройка системы ВЭЖХ.

Для анализа использовали систему ВЭЖХ Agilent 1100. Система установлена с помощью промывки системы (5% ацетонитрила в воде ВЭЖХ) в одном канале насоса и подвижной фазы (как описано выше) в другом канале насоса. Используемая колонка представляет собой гель Tosoh Biosep TSK, G3000SWx1; P/N 8541; 250A; 5 мкм; 7,8 мм × 300 мм. Скорость потока установлена на 1 мл/мин, и каждый прогон является изократическим со 100% подвижной фазой [100 мМ фосфата натрия, 300 мМ хлорида натрия, pH 6,8, 10% ацетонитрила (об./об.)] в течение 20 мин. DAD установлен на 280 нм. Объем инъекции для каждого контроля, образца и чистой воды обычно составляет 10 мкл, но его можно регулировать в зависимости от УФ-поглощения. Данные анализа: все пики при 280 нм в пределах соответствующего временного окна (обычно 2-10 мин) интегрированы.

Пример 30. Получение ADC1.

Синтез проводили в соответствии с общей методикой конъюгации ADC.

Антитело: антитело 1, анти-GCC антитело (5F9), 100 мкл раствора 60 мг/мл в буфере из 50 мМ гистидина и 100 мМ аргинина при pH 6,0, мишень рецептора гуанилилциклазы C (GCC).

Тяжелая цепь антитела 1:

QVQLQQWAGLLKPSSETLSLTCAVFGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHRGNTND  
 NP SLKSRVTISVDTSKNQFALKLSSVTAADTAVYYCARERGYTYGNFDHWGQGLTTLTVSSASTK  
 GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV  
 VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKD  
 TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW  
 LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI  
 AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSL  
 SLSPGK (SEQ. ID No. 1)

Легкая цепь антитела 1:

EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSRNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIP  
 ARFSGSGSGTEFTLTIGSLQSEDFAVYYCQYKTPWRTFGQGTNVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE  
 QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYLSSTLTLSKADYE  
 KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ. ID No. 2)

Буфер: 50 mM раствор гистидина и 100 mM раствор аргинина при pH 6,0, 200 мкл, конечная концентрация 20 мг/мл.

Линкер-полезная нагрузка: N-[(2S)-1-{{(2S)-1-{{[4-({{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-2-ил)сульфанил}метил)фенил]амино}-1-оксопропан-2-ил]амино}-3-метил-1-оксобутан-2-ил]-6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамид (линкер-полезная нагрузка 1).

Продукт ADC: ADC1, выход=1,9 мл при 2,5 мг/мл (79%), DAR 3,5, 99% мономер (т.е. не агрегируется).

Пример 31. Получение ADC2.

Синтез проводили в соответствии с общей методикой конъюгации ADC.

Антитело: антитело 2, не нацеливающее на GCC антитело, направленное на закрепленный на мембране белок, сверхэкспрессируемое в некоторых солидных опухолях, включая легкие и молочную железу, 100 мкл при 11,8 мг/мл в 25 mM ацетате натрия, pH 5,5.

Буфер: PBS Дульбекко, pH 7,4, 200 мкл, конечная концентрация 4 мг/мл.

Линкер-полезная нагрузка: N-[(2S)-1-{{(2S)-1-{{[4-({{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-7-(5-фтор-4-оксо-3,4-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-7-ил)-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-2-ил)сульфанил}метил)фенил]амино}-1-оксопропан-2-ил]амино}-3-метил-1-оксобутан-2-ил]-6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамид (линкер-полезная нагрузка 1).

Продукт ADC: ADC2, выход=0,6 мл при 1,4 мг/мл (70%), DAR 2,6, 99% мономер.

Пример 32. Получение ADC3.

Синтез проводили в соответствии с общей методикой конъюгации ADC.

Антитело: антитело 1, 33 мкл при 60 мг/мл в буфере 50 mM гистидина и 100 mM аргинина при pH 6,0.

Буфер: 50 mM раствор гистидина и 100 mM раствор аргинина при pH 6,0, 66 мкл, конечная концентрация раствора антитела 20 мг/мл.

Линкер-полезная нагрузка: N-[(2S)-1-{{(2S)-1-{{[4-({{(5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,18R)-7-(2-амино-6-оксо-1,6-дигидро-9H-пурин-9-ил)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-10,18-дигидрокси-2,10-диоксидогексагидро-14H-15,12a-(эпоксиметано)-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксадифосфациклотетрадецин-2(12H)-ил)сульфанил}метил)фенил]амино}-1-оксопропан-2-ил]амино}-3-метил-1-оксобутан-2-ил]-6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамид (линкер-полезная нагрузка 2).

Продукт ADC: ADC3, выход=1,9 мл при 1,0 мг/мл (95%), DAR 4,3, 98% мономер.

Пример 33. Анализ высвобождения тритосомальной полезной нагрузки - измерение высвобождения полезной нагрузки из систем линкер-полезная нагрузка или ADC в модели лизосом *in vitro*.

Материалы.

Буфер: 47,9 мг/мл одноосновного фосфата калия (Sigma-Aldrich, номер продукта P5379); 6,8 мг/мл двухосновного фосфата натрия (Sigma-Aldrich, номер продукта S0876), 1,7 мг/мл этилендиамина тетрауксусная кислота (Sigma-Aldrich, номер продукта ED4SS) в очищенной воде. pH довели до 6,0, используя 1N HCl или 1N KOH.

Тритосомы печени крысы приобретены у XenoTech.

Линкер-полезная нагрузка (10 mM ДМСО).

ADC (1-40 мкм в буфере для хранения, используемом для производства).

#### Методика.

Для оценки высвобождения полезной нагрузки из соединений линкер-полезная нагрузка готовили рабочий раствор ДМСО 120,95 мкМ из исходного раствора 10 мМ соединений линкер-полезная нагрузка. Затем рабочий раствор ДМСО 120,95 мкМ разбавили до 1 мкМ в 225 мкл тритосомного буферного раствора, содержащего 22,4% тритосом печени крысы.

Для оценки молекул ADC 1,86 мкл раствора ADC разбавили 223,1 мкл смеси тритосом печени крысы в тритосомном буфере.

Растворы, приготовленные таким образом, инкубировали в течение 24 ч при 37°C. Аликвоты по 40 мкл удаляли через 0,5, 1, 3, 5 и 24 ч и разбавляли 160 мкл 0,1% раствора муравьиной кислоты в метаноле в 96-луночном планшете, который хранили в морозильной камере при -80°C до завершения эксперимента. После сбора последней временной точки в образцы добавляли свежий 200 мкл 0,1% раствора муравьиной кислоты в метаноле и добавляли 150 нМ карбутамида, который является раствором внутреннего стандарта. Образцы хорошо перемешивали и центрифугировали при 4000 g в течение 10 мин и 96-луночный планшет представляли для анализа концентрации полезной нагрузки с помощью ЖХ/МС/МС.

#### Система ЖХ/МС/МС.

5 мкл образцов впрыскивали в ЖХ/МС/МС в колонку Waters Xselect C18 CSH 3,5u 2,1 мм ID × длиной 30 мм. Водный растворитель подвижной фазы содержал 0,1% муравьиной кислоты в воде, а органический растворитель подвижной фазы содержал 0,1% муравьиной кислоты в 5% воды и 95% ацетонитрила. Образцы работали с градиентом 3 мин при скорости потока 1,5 мл/мин. Первоначально прибор работал в течение 0,5 мин со 100% водным растворителем подвижной фазы, с последующим повышением до 100% органического растворителя в течение следующих 1,5 мин. Система будет удерживать при 100% органическом растворителе в течение еще 0,5 мин, а затем она будет заменена на 100% водно-фазовый растворитель в течение следующих 0,5 мин.

#### Анализ.

Для мониторинга и расчета высвобождения линкера-полезной нагрузки и полезной нагрузки из ADC была построена кривая зависимости площади пика или концентрации от времени. Данные будут проанализированы с использованием программы Excel-Fit для расчета линейной скорости диапазона и t1/2 высвобождения полезной нагрузки из протестированных молекул.

Данные о выпуске тритосомной полезной нагрузки.

Как проиллюстрировано на фиг. 1, 2 и 3, при воздействии вышеуказанных протоколов ADC1, ADC2 и ADC3 высвобождают ожидаемые полезные нагрузки.

#### Протокол анализа фосфо-IRF3.

Клетки HEK293, созданные для экспрессии ассоциированных с опухолью мишеней на клеточной поверхности для антитела mAbs 1 (ADC1 и ADC3) и антитела 2 (ADC2), а также неэкспрессирующие клетки-мишени HEK293 (HEK293-Vect) высевали при  $1,5 \times 10^5$  клеток/лунку (500 мкл/лунку) в покрытых поли-D-лизином 24-луночных планшетах (Corning) и культивировали в течение ночи. После в течение ночи депривации сыворотки клетки обрабатывали различными концентрациями ADC в течение 6 ч и затем лизировали в буфере RIPA (ThermoFisher Scientific) с ингибиторами протеазы и фосфатазы (ThermoFisher Scientific). Клеточные лизаты подвергали Вестерн-блоттингу для фосфо-IRF3 (CST) и IRF3 (BD Biosciences). Уровень фосфо-IRF3 был нормализован до его общего IRF3.

#### Результаты анализа фосфо-IRF3.

Как проиллюстрировано на фиг. 4, 5 и 6, клетки HEK293, которые экспрессируют мишени поверхностного рецептора для ADC1, ADC2 и ADC3, демонстрируют ожидаемое увеличение маркера пути STING фосфо-IRF3 (pIRF3) при обработке с помощью ADC1, ADC2 и ADC3 соответственно. Наоборот, ответ pIRF3 не повышается при обработке ADC в векторных клетках HEK293, которые не экспрессируют соответствующие поверхностные рецепторы-мишени.

Пример 34. Фармакологические профили выбранных циклических динуклеотидов.

Фармакологические профили выбранных циклических динуклеотидов показаны в табл. 6.

Таблица 6

Пример	Связывание STING (мкМ)	Клетки STING-293T EC <sub>50</sub> (мкМ) Репортер без ДИГИТОНИНА (А)	Клетки STING-293T EC <sub>50</sub> (мкМ) Репортер с ДИГИТОНИНОМ (В)	Клеточная проницаемость Соотношение EC <sub>50</sub> (А) / (В)	Двойные клетки ТНР-1 EC <sub>50</sub> (мкМ) Репортер	Стабильность плазмы человека (/ч)
Пример 3а	0,015	2,9	0,13	22,3	5,6	0,58
Пример 5	0,050	3,6	0,19	18,9	Нет данных	<0,01
Пример 14	0,013	0,34	0,13	2,6	2,3	<0,01
cGAMP	0,015	21	0,039	539	18	1,39

Протокол анализа иммунолюминесцентного анализа гена-репортера двойных ТНР-1.

Клетки ТНР1-Dual™ (InvivoGen № по каталогу thpd-nfis) были получены из клеточной линии моноцитов ТНР-1 человека путем стабильной интеграции гена люциферазы в иммунолюминесцентном анализе, секретлируемого репортерного гена люциферазы, под контролем минимального промотора ISG54 (интерферон-стимулированный ген) в сочетании с пятью интерферонами (ИФН)-стимулированные элементы ответа. В день эксперимента клетки высевали на черный 384-луночный планшет (Corning 356697) при плотности 7500 клеток/25 мкл на лунку в питательной среде (RPMI 1640, 2 мМ L-глутамин, 25 мМ НЕРЕS, 10% инактивированная нагреванием эмбриональная бычья сыворотка, 100 мкг/мл Normocin™, 100 ед./мл-100 мкг/мл Pen-Strep, 10 мкг/мл бластицидина и 100 мкг/мл зоцина). Клеточные планшеты дозировали 62,5 нл исследуемых соединений и затем инкубировали при 37°C в течение 20 ч. В конце инкубации прибавили 15 мкл/лунку QUANTI-Luc™ (InvivoGen № по каталогу her-qlc1) и люминесценцию сразу измеряли с использованием LeadSeeker.

Протокол вестерн-блоттинга активации нижестоящего сигнального пути (ТБК1 и ИРФ3).

1,5×10<sup>6</sup> двойных клеток ТНР-1 (каталог Invivogen № по каталогу thpd-nfis) обрабатывали ДМСО или указанными концентрациями Ex14 в течение 3 ч. После стимуляции клетки собирали на лед, центрифугировали при 800 RCF в течение 5 мин и один раз промывали в ледяном PBS.

Клеточные осадки лизировали в 1% буфере для лизиса цельных клеток Triton X-100 (10% глицерин, 20 мМ Трис-НСl рН 7,5, 150 мМ NaCl, 1 мкМ ЭДТК и 1 мкМ DTT), содержащем коктейли ингибитора протеазы и фосфатазы (Sigma № по каталогу P8340 и CalBiochem № по каталогу 524629 соответственно). Клеточные лизаты очищали от нерастворимого дебриса центрифугированием при 16000 RCF в течение 10 мин. Концентрацию белка в лизатах определяли методом Брэдфорда с использованием стандартов BSA.

Лизаты денатурировали в буфере для образцов NuPAGE™ LDS (4X, № по каталогу NP0008), содержащем DTT в качестве восстановителя. Денатурированные лизаты разделяли на 4-12% бис-Трис-гелях NuPAGE™ в буфере MES/SDS и переносили на мембраны PVDF методом полусухого блоттинга. Мембраны исследовали в течение ночи при температуре 4°C для фосфо-ТБК1 S172, фосфо-ИРФ3 S396 и GAPDH с использованием антител от Cell Signaling Technology (№ по каталогу 5483, № по каталогу 4947 и № по каталогу 5174 соответственно).

После первичного зонда в течение ночи мембраны тщательно промывали, затем подвергали тестированию вторичным антителом (козий антикроличий IgG Alexa Fluor® 680, Life Technologies № по каталогу A21109) в блокирующем буфере Odyssey® (№ по каталогу 927-400000) при комнатной температуре. После интенсивной промывки мембраны были разработаны с использованием LI-COR ODYSSEY CLx.

Относительные интенсивности полос фосфо-ТБК1 и фосфо-ИРФ3 были количественно определены и нормированы на уровни GAPDH. GAPDH-нормализованные значения фосфо-ТБК1 и фосфо-ИРФ3 были представлены в виде кратности интенсивности по сравнению с нестимулированным (ДМСО) контролем. См фиг. 7.

Протокол анализа стабильности плазмы человека.

Соединение инкубировали в гепаринизированной плазме человека при 37°C в течение 0, 1, 2, 4, 8 и 24 ч, изменение концентрации соединения измеряли методом ЖХ/МС/МС. Константа скорости элиминации ( $=k$ (/ч)) рассчитывали на основе подогнанной кривой, предполагая экспоненциальное уменьшение

концентрации следующим образом: концентрация при времени  $x$  = начальная концентрация \*  $\exp(-k \cdot x)$ .

Тестирование модели сингенной опухоли.

Пример 14 и пример 3а были протестированы на моделях сингенной опухоли на мышах. Когда пример 14 и пример 3а вводили внутривенно (каждые 3 дня, 3 раза), наблюдали противоопухолевые эффекты. См. фиг. 8 и 9, где проиллюстрирован противоопухолевый эффект карциномы толстой кишки модели сингенных мышей СТ-26, а на фиг. 10 и 11 - противоопухолевый эффект карциномы толстой кишки модели сингенных мышей В16F10.

Протокол для оценки противоопухолевого эффекта.

$8 \times 10^4$  В16F10 и  $2 \times 10^5$  СТ-26 опухолевые клетки мыши были подкожно имплантированы в боку самки С57BL/6 (В16F10) и Balb/C (СТ-26) мыши ( $n=7$  на группу). Несущую среду (1×PBS), соединение примера 3а (30 мг/кг) или примера 14 (1,0 мг/кг) вводили внутривенно (конечный объем 100 мкл) мышам с опухолью, как только объем опухоли достиг  $100 \text{ мм}^3$  (день 0). Несущую среду примера 3а или примера 14 давали каждые 3 дня, в общей сложности 3 дозы (q3dx3). Измерения опухоли и массы тела проводили три раза в неделю с использованием штангенциркуля и шкалы mettler соответственно. Объемы опухолей определяли путем умножения квадрата ширины (W), измеренного вдоль короткой оси опухоли, на половину длины (L), измеренной вдоль короткой оси опухоли ( $V=W^2 \times 0,5L$ ).

Соединения примеров приведены в следующих таблицах.

МС в таблицах означает фактическое измеренное значение. Соединение примера 9 было синтезировано таким же образом, что и в методике из примера 5.

Таблица 1-1

При мер №	Название по IUPAC	Структура	Доба вка	МС
1	7-((5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2, 10, 16-тригидрокси-2, 10-диоксидооктагидро-12H-5, 8-метанофуру[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло[2, 3-d]пиримидин-4-он		2Et3 N	677, 1
1a	7-((5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2, 10, 16-тригидрокси-2, 10-диоксидооктагидро-12H-5, 8-метанофуру[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло[2, 3-d]пиримидин-4-он		2Na	678, 9
2	7-((5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10, 16-дигидрокси-2, 10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5, 8-метанофуру[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло[2, 3-d]пиримидин-4-он		2Et3 N	695, 0
3	7-((2R, 5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10, 16-дигидрокси-2, 10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5, 8-метанофуру[3, 2-1][1, 3, 6, 9, 11, 2, 10]пентаоксидифосфациклотетрадецин-7-ил)-5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло[2, 3-d]пиримидин-4-он		1, 7E t3N	693, 1

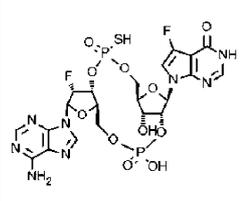
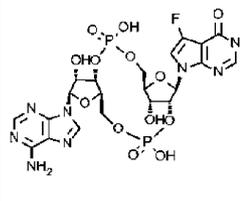
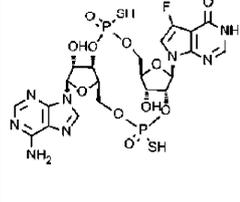
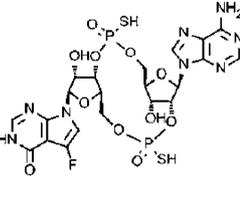
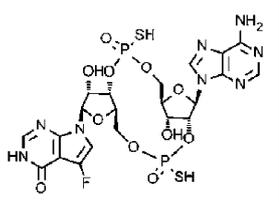
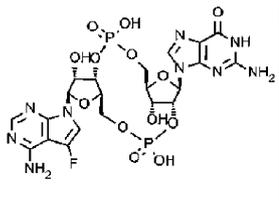
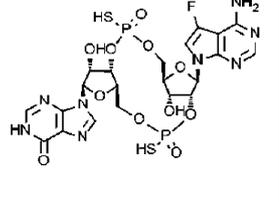
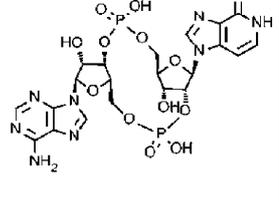
3а	7- ( (2R, 5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -14- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -15-фтор-10, 16-дигидрокси-2, 10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5, 8-метанофура [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он		2Na	695,0
4	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -14- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -2, 10, 15, 16-тетрагидрокси-2, 10-диоксидооктагидро-12H-5, 8-метанофура [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он		2Et3N	677,1
5	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -14- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -15, 16-дигидрокси-2, 10-диоксидо-2, 10-дисульфанилоктагидро-12H-5, 8-метанофура [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он		2Et3N	707,1

Таблица 1-2

При мер №	Название по IUPAC	Структура	Доб авк а	МС
6	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -7- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -15, 16-дигидрокси 2, 10 диоксидо 2, 10-дисульфанилоктагидро-12H-5, 8-метанофура [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-		2Et3N	707,1

	он (оптический изомер)			
7	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15 aS, 16R) -7- (6-амино-9Н-пурин-9-ил) -15, 16-дигидрокси-2, 10-диоксидо-2, 10-дисульфанилоктагидро-12Н-5, 8-метанофуоро [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он (оптический изомер)		2Et 3N	70 9, 0
8	2-амино-9- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15 aS, 16R) -14- (4-амино-5-фтор-7Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-7-ил) -2, 10, 15, 16-тетрагидрокси-2, 10-диоксидооктагидро-12Н-5, 8-метанофуоро [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил) -1, 9-дигидро-6Н-пурин-6-он		2Et 3N	69 2, 2
9	9- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15 aS, 16R) -7- (4-амино-5-фтор-7Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-7-ил) -15, 16-дигидрокси-2, 10-диоксидо-2, 10-дисульфанилоктагидро-12Н-5, 8-метанофуоро [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил) -1, 9-дигидро-6Н-пурин-6-он		2Et 3N	70 7, 1
10	1- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15 aS, 16R) -14- (6-амино-9Н-пурин-9-ил) -2, 10, 15, 16-тетрагидрокси-2, 10-диоксидооктагидро-12Н-5, 8-метанофуоро [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил) -1, 5-дигидро-4Н-имидазо [4, 5-с] пиридин-4-он			65 9, 1

При мер №	Название по IUPAC	Структура	Доба вка	МС
11	2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aS,16R)-14-(4-амино-1H-имидазо[4,5-c]пиридин-1-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадец ин-7-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он		2Et3 N	67 4, 2
12	8-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aS,16R)-7-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадец ин-14-ил)пиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-4(3H)-он		2Et3 N	69 2, 2
13	2-амино-9-((5R,7R,8R,12aR,14S,15S,15aS,16R)-14-(4-аминопиразоло[1,5-a][1,3,5]триазин-8-ил)-2,10,15,16-тетрагидрокси-2,10-диоксидооктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадец ин-7-ил)-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он		2Et3 N	67 5, 1
14	7-((2R,5R,7R,8R,10R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-16-гидрокси-2,10-диоксидо-2,10-дисульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадец ин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он		2Na	71 1, 0
15	7-((5R,7R,8R,12aR,14R,15R,15aR,16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-2,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-10-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуоро[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаоксидафосфациклотетрадец ин-7-ил)-5-фтор-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он		2Et3 N	69 5, 0

16	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 18R) -14- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -2, 10, 18-тригидрокси-2, 10-диоксидогексагидро-14Н-15, 12а- (эпоксиметано) -5, 8-метанофуру [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7 (12Н) -ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он		2Et 3N	68 7, 0
17	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 18R) -14- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -10, 18-дигидрокси-2, 10-диоксидо-2-сульфанилгексагидро-14Н-15, 12а- (эпоксиметано) -5, 8-метанофуру [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7 (12Н) -ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он		2Et 3N	70 2, 9
18	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 18R) -14- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -2, 18-дигидрокси-2, 10-диоксидо-10-сульфанилгексагидро-14Н-15, 12а- (эпоксиметано) -5, 8-метанофуру [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-		2Et 3N	70 2, 9
19	7 (12Н) -ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он 2-амино-9- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R) -15-фтор-7- (5-фтор-4-оксо-3, 4-дигидро-7Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-7-ил) -2, 10, 16-тригидрокси-2, 10-диоксидооктагидро-12Н-5, 8-метанофуру [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-14-ил) -1, 9-дигидро-6Н-пурин-6-он		2Et 3N	69 2, 9
20	7- ( (5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R) -14- (6-амино-9H-пурин-9-ил) -2, 10, 15, 16-тетрагидрокси-2-оксидо-10-сульфанилоктагидро-12Н-5, 8-метанофуру [3, 2-1] [1, 3, 6, 9, 11, 2, 10] пентаоксадифосфациклотетрадецин-7-ил) -5-фтор-3, 7-дигидро-4Н-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-он		2Et 3N	69 3, 3

Таблица 1-5

Пример №	Название по IUPAC	Структура	Доба вка	МС
23 (оптический изомер 1)	7- [(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-10,15,16-тригидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуо[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаксадифосфациклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль		2 Et <sub>3</sub> N	707, 1
23 (оптический изомер 2)	7- [(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aS, 16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-10,15,16-тригидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуо[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаксадифосфациклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль		2 Et <sub>3</sub> N	707, 1
24 (оптический изомер 1)	7- [(5R, 7R, 8R, 12aR, 14R, 15R, 15aR, 16R)-14-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-15-фтор-10,16-дигидрокси-2,10-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-12H-5,8-метанофуо[3,2-1][1,3,6,9,11,2,10]пентаксадифосфациклотетрадецин-7-ил]-5-фтор-3-метил-3,7-дигидро-4H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-он дитриэтиламинная соль		2 Et <sub>3</sub> N	709, 2



Вышеупомянутый биотинилированный белок STING (дикого типа (WT)) получали следующим способом.

Способ получения биотинилированного белка STING дикого типа.

ECOS (торговое наименование) компетентные E.coli BL21 (DE3) были приобретены у Nippon Gene Co., Ltd. Ампициллин, канамицин, NaCl, глицерин, изопропилтиогалактозид, (+)-биотин, имидазол, рекомбинантный нуклеотид SEM и набор белков BCA были приобретены у Wako Pure Chemical Industries, Ltd. Tryptone, Bacto и дрожжевой экстракт, Bacto были приобретены у Difco Laboratories, трис-буферные солевые (TBS) таблетки, pH7,6 были приобретены у Takara Bio Inc., лизоцим (яичный белок), 6x Cryst был приобретен у Seikagaku Corporation, a cOmplet (торговое наименование) и коктейль ингибитора протеазы без ЭДТК были приобретены у Roche. Использовали Ni-NTA Superflow Cartridge производства QIAGEN и HiLoad 26/60 Superdex 200 pg производства GE Healthcare.

В pRSF1b (Novagen), имеющий измененный сайт множественного клонирования, вставляли Escherichia coli BirA и трансфицировали в ECOS JM109, в результате чего был создан pRH8/FLAG-BirA.pET21HH/His-Avi-SUMO-FLAG-hTMMEM173(139-379) (H232R) (который был создан по методу, указанному в примере 36) и pRH8/FLAG-BirA для биотинилирования Avi-метки одновременно трансформировали в ECO (торговое наименование), компетентные E.coli BL21 (DE3) для приготовления His-Avi-SUMO-FLAG-hSTING (139-379, H232R)-экспрессирующей клеточной линии. Экспрессирующую клеточную линию прибавили к среде LB (10 г/л Tryptone, 5 г/л дрожжевого экстракта, 5 г/л NaCl), содержащей ампициллин (100 мкг/л) и канамицин (50 мкг/л), и смесь, предварительно культивированную при 30°C, расширили до ТВ среды (12 г/л Trypton, 24 г/л дрожжевого экстракта, 4 мл/л глицерина, 2,3 г/л K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 12,5 г/л K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>), содержащей те же антибиотики, и смесь культивировали при 37°C. Когда мутность культурального раствора достигала 500 KU, температуру культуры снижали до 16°C, к нему прибавили 0,1 mM изопропилтиогалактозида и 50 мкM (+)-биотина и смесь культивировали в течение дополнительных 16 ч.

Культуральный раствор центрифугировали, полученные грибковые тела суспендировали в буфере для лизиса (50 mM Tris HCl, 150 mM NaCl, 20 mM имидазола, 1 мг/мл лизоцима, 5 ед./мл SEM-нуклеазы, рекомбинантной, полностью без ЭДТК, pH 7,6), белок был извлечен ультразвуковой фрагментацией. Реагент к нему прибавили так, чтобы концентрация соли в экстракте была доведена до 300 mM NaCl, и супернатант был собран центрифугированием. Полученный супернатант пропускали через сверхпоточный картридж NiNTA, уравновешенный промывочным буфером (50 mM Tris HCl, 300 mM NaCl, 20 mM имидазола, pH 7,6), и картридж промывали промывочным буфером и элюировали элюирующим буфером (50 mM Tris HCl, 300 mM NaCl, 250 mM имидазола, pH 7,6). Элюат пропускали через колонку HiLoad 26/60 Superdex 200 pg, уравновешенную буфером для хранения (50 mM Tris HCl, 150 mM NaCl, pH 7,6), и элюированную фракцию собирали в виде биотинилированного His-Avi-SUMO-FLAG-hSTING (139-379, H232R). Концентрацию белка измеряли с использованием набора для анализа белка BCA, и фракция была криоконсервирована при -80°C до использования.

Таблица 2

Тест связывания STING

Пример №	скорость ингибирования связывания исследуемого соединения (30 мкM)
1	76%
2	79%
3	64%
3a	93%
5	71%
8	90%
13	68%
14	89%
15	89%
16	91%
17	86%
18	94%
19	93%
20	98%

Тест связывания STING

Пример №	IC <sub>50</sub> (мкМ)
23 (оптический изомер 1)	0,17
23 (оптический изомер 2)	20
24 (оптический изомер 1)	0,029
24 (оптический изомер 2)	0,29
25	0,083
26 (оптический изомер 1)	0,53
26 (оптический изомер 2)	0,075

Как ясно из вышеупомянутых результатов, соединение по данному изобретению ингибирует связывание белка STING дикого типа и природного лиганда 2',3'-цГМФ, т.е. соединение по данному изобретению связывается с диким типом STING-белка.

Пример 36. Анализ гена репортера.

Получение различных плазмид.

(i) Конструкция плазмиды экспрессии TMEM173 человека и т.п.

Плазмида экспрессии человеческого STING (в данном описании иногда называемая человеческим TMEM173) в *E. coli* получали путем ПЦР с перекрывающимися праймерами для введения мутации с использованием человеческого клона кДНК TMEM173 (GeneCopoeia) в качестве матрицы. Первое, ПЦР проводили с использованием двух видов праймера (5'-CCTGGCCCCAGCTGAGATCTCTG-3' (C-hTMEM(139aa)-F) (SEQ ID NO. 3) и 5'-GTAAACCCGATCCTTGATGCCAGCACGGTCACCGGTC-3' (hTMEM173(H232R)-R)) (SEQ ID NO. 4) и двух видов праймера (5'-CTGCCCCAGCAGACCGGTGACCGTGCTGGCATCAAG-3' (hTMEM173(H232R)-F) (SEQ ID NO. 5) и 5'-ATAATAGCGGCCGCTCAAGAGAAATCCGTGCGGAGAGG-3' (hTMEM173-st-Not-R) (SEQ ID NO. 6). Каждую ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar MAX (Takara Bio Inc.) последовательно (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 25-разовый повтор при 98°C в течение 10 с и при 72°C в течение 10 с, и (3) при 72°C в течение 1 мин. Затем проводили ПЦР с использованием полученного сегмента в качестве матрицы с использованием двух видов праймеров (C-hTMEM(139aa)-F и hTMEM173-st-Not-R). ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar GXL (Takara Bio Inc.) последовательно (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 35-разовый повтор при 98°C в течение 10 с и при 72°C в течение 1,5 мин, и (3) при 72°C в течение 1 мин. Полученный сегмент разрезали Not I (Takara Bio Inc.), вставляли в сайт Stu I/Not I вектора, в котором метка His-Avi-SUMO была прикреплена к pET21a (Novagen), с использованием Ligation High (Toyobo Co., Ltd.) и перенесена в ECOS JM109 (Nippon Gene Co., Ltd.), в результате чего был создан pET21HH/His-Avi-SUMO-hTMEM173(139-379) (H232R).

Второе, ПЦР проводили с использованием данной плазмиды в качестве матрицы и с использованием двух видов праймера

(5'-CGACTACAAGGACGACGATGACAAGGGATCCCTGGCCCCAGCTGAGATCTCTG-3' (C-FLAG-Vam-hTMEM173(139aa)-F) (SEQ ID NO. 7) и hTMEM173-st-Not-R). ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar MAX последовательно (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 25-разовый повтор при 98°C в течение 10 с и при 72°C в течение 10 с и (3) при 72°C в течение 1 мин. Полученный сегмент разрезали Not I, вставляли в сайт Stu I/Not I pET21a, к которому был прикреплен тег His-Avi-SUMO, с использованием Ligation High, как упомянуто выше, и переносили в ECOS JM109, в результате чего был создан pET21HH/His-Avi-SUMO-FLAG-hTMEM173(139-379) (H232R).

Плазмида экспрессии для анализа репортера была получена путем ПЦР с перекрывающимися праймерами для введения мутации с использованием человеческого клона кДНК TMEM173 в качестве матрицы, как упомянуто выше. Первое, ПЦР проводили с использованием двух видов праймера (5'-GTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTGGATCCGCCACCATGCCCCACTCCAGCCTGCATC-3' (HA-Vam-ko-hTMEM173-F) (SEQ ID NO. 8) и hTMEM173(H232R)-R) и двух видов праймера (hTMEM173(H232R)-F и hTMEM173-st-Not-R). Каждую ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar MAX последовательно (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 25-разовый повтор при 98°C в течение 10 с и при 72°C в течение 10 с, и (3) при 72°C в течение 1 мин. Затем проводили ПЦР с использованием полученного сегмента в качестве матрицы с использованием двух видов праймера (5'-ATAATATCTAGAATTTCGCCACCATGTACCCATACGATGTTCCAGATTACGC-3' (Xba-Eco-ko-HA-F) (SEQ ID NO. 9) и hTMEM173-st-Not-R). ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar GXL (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 35-разовый повтор при 98°C в течение 10 с, при 65°C в течение 5 с и при 72°C в течение 1,5 мин, и (3) при 72°C в течение 1 мин. Полученный сегмент разрезали Xba I (Takara Bio Inc.) и Not I, вставляли в сайт Nhe I/Not I вектора устойчивости к зеоцину, где сайт множественного клонирования вставляли в pcDNA3,3 (Invitrogen), используя Ligation High, и переносили в ECOS JM109, посредством чего был создан DNA3,3zeo/HA-hTMEM173 (H232R).

Плазмиду, экспрессирующую человеческий мутантный тип TMEM173 (R232H), создали с помощью

ПЦР с использованием человеческого клона кДНК TMEM173 (GeneCopoeia) в качестве матрицы и с использованием двух видов праймеров (5'-TTCCAGATTACGCTGGATCCGCCACCATGCCCCACTCCAGCCTGCATC-3' (Bam-ko-hTMEM173v1-F) (SEQ ID NO. 10) и 5'-CCTCTAGACTCGAGCGGCCGCTCAAGAGAAATCCGTGCGGAGAGG-3' (hTMEM173-st-Not-R2) (SEQ ID NO. 11). ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar MAX (Takara Bio Inc.) последовательно (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 30-разовый повтор при 98°C в течение 10 с и при 68°C в течение 10 с, и (3) при 72°C в течение 1 мин. Полученный сегмент был вставлен в сайт Bam HI/Not I вектора, где HA-Тэг был присоединен к pcDNA3,1 (+) (ThermoFischer), используя сборку Гибсона (NEB) и перенесены в ECOS JM109 (Nippon Gene Co., Ltd.), посредством чего был создан pcDNA3,1HA/HA-hTMEM173v1.

Плазмиду, экспрессирующую человеческий TMEM173 дикого типа (H232R), конструировали с помощью ПЦР с использованием pcDNA3,3zeo/HA-hTMEM173 (H232R) плазмиды в качестве матрицы, и используя два вида праймера

(5'-GGAGACCCAAAGCTGGCTAGCGCCACCATGTACCCATACGATG-3' (Nhe-ko-HA-F) (SEQ ID NO. 12) и 5'-CCTCTAGACTCGAGCGGCCGCTCAAGAGAAATCCGTGCGGAGAGG-3' (hTMEM173-st-Not-R2) (SEQ ID NO. 11). ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar MAX последовательно (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 30-разовые повторы при 98°C в течение 10 с и при 72°C в течение 35 с и (3) при 72°C в течение 1 мин. Полученный сегмент вставляли в сайт Nhe I/Not I pcDNA3,1zeo (ThermoFischer) с использованием Gibson Assembly и трансфицировали в ECOS JM109, посредством чего был создан pcDNA3,1zeo/HA-hTMEM173(H232R).

(ii) конструкция плазмиды экспрессии люциферазы светлячка.

Плазмиду экспрессии люциферазы светлячка создавали, вставляя промотор CMV в вектор репортера. ПЦР проводили с использованием вектора pcDNA3,1 (+) (Invitrogen) в качестве матрицы и с использованием двух видов праймера (5'-ATAАТААGATCTGTTGACATTGATTATTGACTAGTTATTAATAG-3' (CMVPro-BgIII-F) (SEQ ID NO. 13) и 5'-ATAАТААGCTTGAGCTCTGCTTATATAGACCTCCC-3' (CMVPro-HindIII-R) (SEQ ID NO. 14). ПЦР проводили с использованием ДНК-полимеразы PrimeStar MAX последовательно (1) при 98°C в течение 1 мин, (2) 25-разовые повторы при 98°C в течение 10 с и при 68°C в течение 3 с и (3) при 72°C в течение 1 мин. Полученный сегмент разрезали с помощью Bgl II и Hind III (Takara Bio Inc.), вставляли в сайт Bgl II/Hind III pGL4,17 (Promega Corporation) с использованием Ligation High (Toyobo Co., Ltd) и переносили в ECOS JM109, посредством чего был создан pGL4,17/CMV Pro.

Анализ гена репортера (1).

Была создана стабильно экспрессирующая клеточная линия 293Т, трансфицированная вектором pNL[NLucP/ISRE/Hygro] (Promega, Фитчбург, Висконсин, США). pcDNA3,3zeo/HA-hTMEM173(H232R) трансфицировали в клетки с использованием FugeneHD (Promega, Фитчбург, Висконсин, США), и клетки культивировали в течение одного дня с использованием модифицированной по Дульбекко среды Игла (DMEM) (Wako Pure Chemical Industries, Ltd), содержащей 10% эмбриональной бычьей сыворотки. Клетки собирали и криоконсервировали с помощью CELLBANKER 1 (Nippon Zenyaku Kogyo Co., Ltd.).

В день анализа исследуемое соединение разбавляли аналитическим буфером (DMEM, содержащий 0,1% бычьего сывороточного альбумина, не содержащего жирных кислот), прибавляли на белый 384-луночный планшет (Corning, Нью-Йорк, США) на 10 мкл/луночку. Криоконсервированные клетки оттаивали, а клетки суспендировали в буфере для анализа и высевали в него 10 мкл/луночку (10000 клеток/луночку). Клетки культивировали при 37°C в условиях 5% CO<sub>2</sub> в течение 20 ч и к ним прибавили раствор реагента NanoGlo (Promega, Фитчбург, Висконсин, США) (20 мкл). После инкубации в течение 5 мин уровень люминесценции измеряли с использованием Envision (PerkinElmer, Waltham, Массачусетс, США). Уровень активности каждого исследуемого соединения рассчитывали, когда количество клеток, обработанных 2',3'-цГАМФ (30 мкМ), принимали за 100%, а количество клеток, обработанных растворителем, принимали за 0%. Результаты проиллюстрированы в табл. 3.

Исследование агонистической активности STING

Пример №	уровень активности исследуемого соединения (30 мкМ)
1	77%
2	77%
3	76%
3a	107%
5	100%
14	71%
15	81%
16	123%
17	99%
18	81%
20	125%

Как ясно из вышеупомянутых результатов, соединение по данному изобретению обладает агонистической активностью по отношению к STING дикого типа.

Анализ гена репортера (2).

Была сконструирована стабильно экспрессирующая клеточная линия 293Т, трансфицированная вектором рNL[NLucP/ISRE/Hygro] (Promega, Фитчбург, Висконсин, США). Суспензию, которую получали путем трансфекции рсDNA3,1zeo/HA-hTMEM173 (H232R) или рсDNA3,1HA/HA-hTMEM173v1 вместе с плазмидой экспрессии люциферазы светлячка к клеткам с использованием FugeneHD (Promega, Фитчбург, Висконсин, США), прибавили к 384-луночному планшету (Корнинг, Нью-Йорк, США) и клетки культивировали в течение двух дней. Культуральный раствор удаляли и исследуемое соединение разбавляли аналитическим буфером (50 мМ HEPES, pH 7,0, 100 мМ KCl, 3 мМ MgCl<sub>2</sub>, 85 мМ сахарозы, 0,1 мМ DTT, 0,2% BSA, 1 мМ АРТ, 0,1 мМ ГТФ, 10 мкг/мл дигитонина), к нему прибавили по 15 мкл/лунку. Клетки культивировали при 37°C в условиях 5% CO<sub>2</sub> в течение 30 мин и удаляли буфер для анализа. Модифицированная по Дульбекко среда Игла (DMEM) (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.), содержащая 10% фетальной бычьей сыворотки, к которой прибавили 20 мкл/лунку, и клетки культивировали при 37°C в условиях 5% CO<sub>2</sub> в течение 4 ч. Сигналы люминесценции, полученные из люциферазы светлячка и люциферазы NanoLuc, каждый измеряли с использованием Envision (PerkinElmer, Уолтем, Массачусетс, США) в соответствии с протоколом системы для анализа репортерного гена люциферазы (Nano-Glo Dual-Luciferase Reporter Assay System) (Promega, Фитчбург, Висконсин, США). Отношение количества люциферазы NanoLuc, деленное на количество люциферазы светлячка, использовали для расчета. Уровень активности каждого исследуемого соединения рассчитывали, когда соотношение в клетках, обработанных 2',3'-цГМФ (30 мкМ), принималось за 100%, а соотношение в клетках, обработанных растворителем, принималось за 0%. Результаты проиллюстрированы в табл. 4.

Таблица 4

Исследование агонистической активности STING

Пример №	уровень активности против WT STING исследуемого соединения (30 мкМ)	уровень активности против STING мутантного типа (R232H) исследуемого соединения (30 мкМ)
1	97%	70%
1a	99%	92%
2	112%	77%
3	97%	73%
5	102%	95%
13	99%	85%
14	99%	92%
15	91%	100%
16	114%	108%
17	110%	85%
18	98%	96%
19	101%	62%
20	113%	85%

Как ясно из вышеупомянутых результатов, соединение по данному изобретению обладает агонистической активностью по отношению к STING дикого типа и STING мутантного типа (R232H).

Пример 37. Обнаружение фосфорилированного белка IRF3 в клетке FaDu.

Высевали клетки FaDu линии клеток рака гортани человека (ATCC), среду заменяли бессывороточной средой через один день после посева. После замены клетку культивировали в течение одного дня, и к клеткам добавляли природный лиганд 2',3'-цГАМФ (конечная концентрация; 30 мкМ) и исследуемое соединение (конечная концентрация; 15 мкМ или 30 мкМ). Через 6 ч после добавления клетки промывали PBS, готовили клеточный экстракт и фосфорилированный белок IRF3 определяли методом ELISA или методом вестерн-блоттинга. Активность фосфорилирования белка IRF3 исследуемого соединения рассчитывали, когда значение в образце с добавлением природного лиганда 2',3'-цГАМФ при конечной концентрации 30 мкМ считали равным 100%. Результаты проиллюстрированы в табл. 5.

Таблица 5

Тест на фосфорилирование белка IRF3

Пример №	уровень активности Исследуемое соединение
1	468,8% при 30 мкМ
2	88,7% при 30 мкМ
3	464,6% при 30 мкМ
5	117,4% при 30 мкМ

Как ясно из вышеупомянутых результатов, соединение по данному изобретению способствует фосфорилированию IRF3, который является нисходящим сигналом STING, как в природном лиганде 2',3'-цГАМФ. То есть соединение по данному изобретению активирует нисходящий сигнал STING в качестве агониста STING.

Пример 38. Пример препарата.

Лекарственное средство, содержащее соединение по данному изобретению в качестве активного компонента, может быть получено, например, на основе следующей композиции.

1. Капсула.

(1) Соединение, полученное в примере 1 - 10 мг.

(2) Лактоза - 90 мг.

(3) Кристаллическая целлюлоза - 70 мг.

(4) Стеарат магния - 10 мг.

1 капсула - 180 мг.

(1), (2), (3) и 5 мг (4) смешивают и гранулируют. К ним добавляются оставшиеся 5 мг (4), и все количество заполняется в желатиновую капсулу.

2. Таблетка.

(1) Соединение, полученное в примере 1 - 10 мг.

(2) Лактоза - 35 мг.

(3) Кукурузный крахмал - 150 мг.

(4) Кристаллическая целлюлоза - 30 мг.

(5) Стеарат магния - 5 мг.

1 таблетка - 230 мг.

(1), (2), (3), 20 мг (4) и 2,5 мг (5) смешивают и гранулируют. К ним добавляют оставшиеся 10 мг (4) и оставшиеся 2,5 мг (5), и смесь прессуют, чтобы получить таблетку.

#### Промышленная применимость

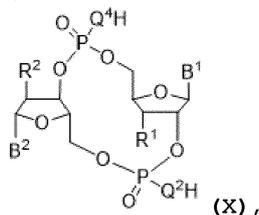
Соединение по данному изобретению может обладать агонистической активностью в отношении STING. Следовательно, соединение по данному изобретению может применяться в качестве агониста STING и может быть пригодным в качестве агента для профилактики или лечения заболеваний, связанных с STING, включая рак и т.п.

Следует понимать, что вышеизложенные описанные варианты реализации изобретения и примеры не предназначены для ограничения в каком-либо отношении объема описания, и что формула изобретения, представленная в данном документе, предназначена для охвата всех вариантов реализации изобретения и примеров, независимо от того, представлены ли они в данном документе явно или нет.

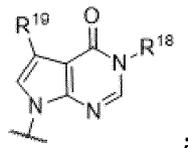
Все патенты, патентные заявки и публикации, процитированные в данном документе, включены в полном объеме посредством ссылки.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

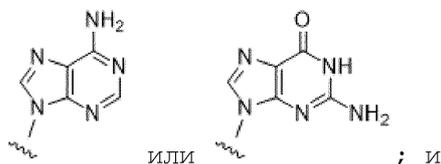
1. Соединение, имеющее формулу (X)



где  $R^1$  и  $R^2$ , каждый независимо, представляет собой гидроксигруппу или атом галогена;  
 $B^1$  представляет собой



$R^{18}$  представляет собой водород или  $C_{1-6}$ алкил;  
 $R^{19}$  представляет собой атом галогена;  
 $B^2$  представляет собой



$Q^2$  и  $Q^4$ , каждый независимо, представляет собой атом кислорода или атом серы,  
или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^{19}$  представляет собой фтор или хлор.

3. Соединение по п.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^1$  представляет собой гидроксигруппу.

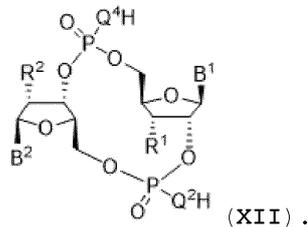
4. Соединение по любому из пп.1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^2$  представляет собой гидроксильную группу или атом фтора.

5. Соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $Q^4$  представляет собой атом серы.

6. Соединение по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $Q^2$  представляет собой атом кислорода.

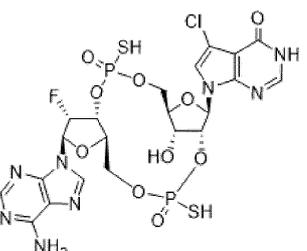
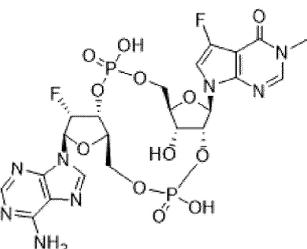
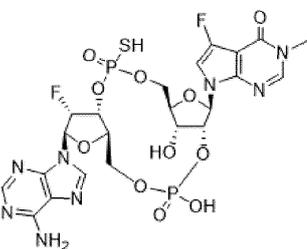
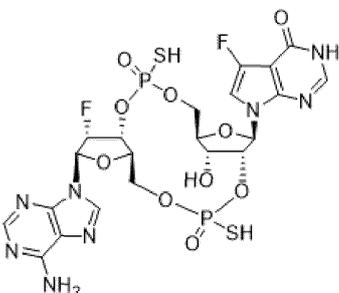
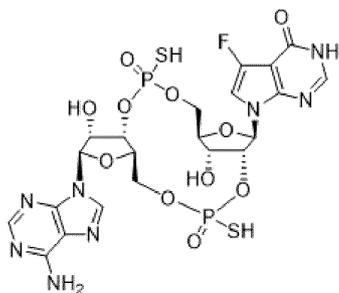
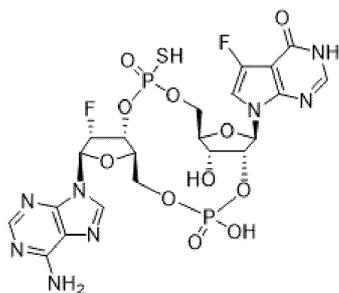
7. Соединение по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $Q^2$  представляет собой атом серы.

8. Соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемая соль, имеющее формулу (XII)



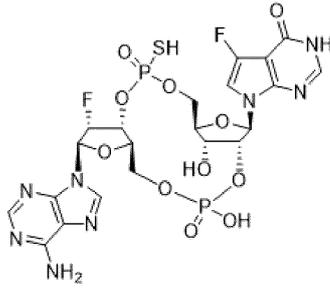
9. Соединение по любому из пп.1-8 или его фармацевтически приемлемая соль, где  $R^{18}$  представляет собой водород или метил.

10. Соединение по п.1, выбранное из группы, состоящей из



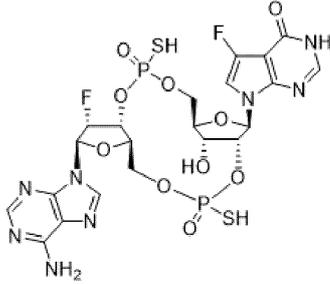
или его фармацевтически приемлемая соль.

11. Соединение по п.10, которое представляет собой



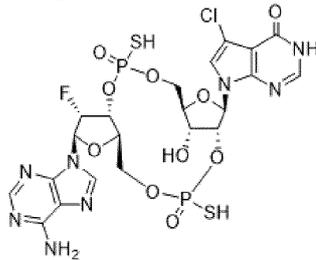
или его фармацевтически приемлемая соль.

12. Соединение по п.10, которое представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль.

13. Соединение по п.10, которое представляет собой



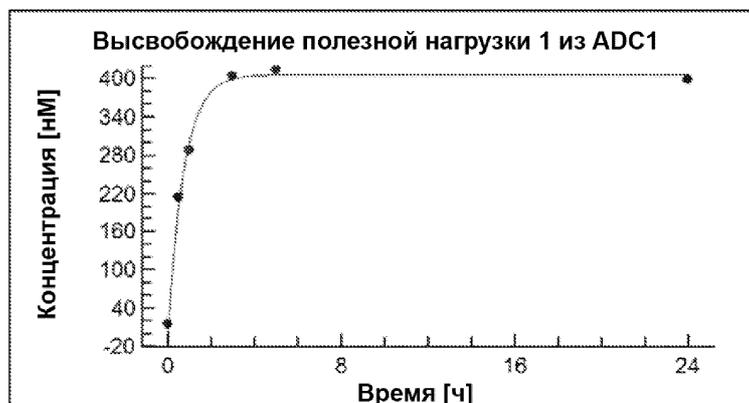
или его фармацевтически приемлемая соль.

14. Соединение по любому из пп.1-13, где фармацевтически приемлемая соль представляет собой триэтиламинную соль.

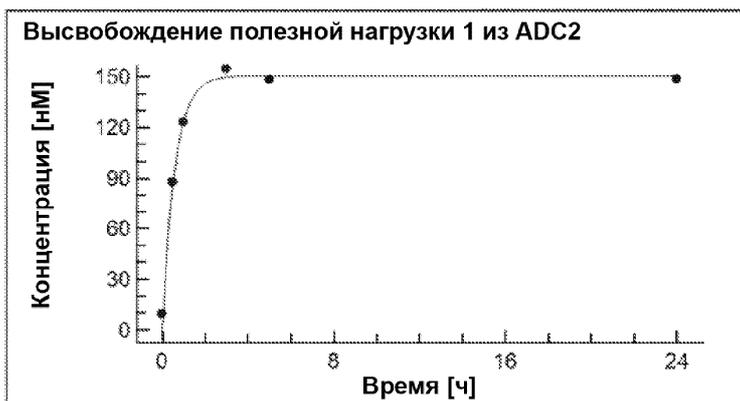
15. Соединение по любому из пп.1-13, где фармацевтически приемлемая соль представляет собой натриевую соль.

16. Фармацевтическая композиция для активации стимулятора генов интерферона, включающая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-15 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый эксципиент.

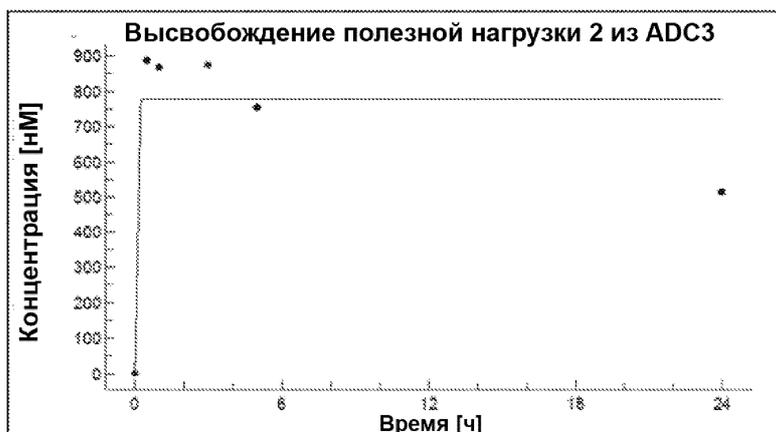
17. Способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-15 или его фармацевтически приемлемой соли.



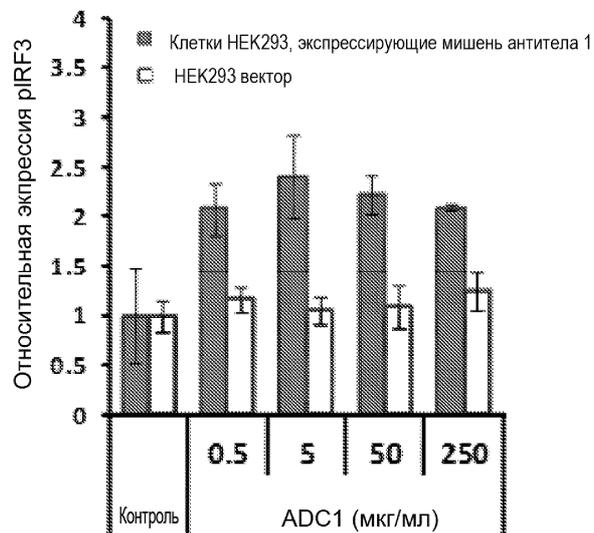
Фиг. 1



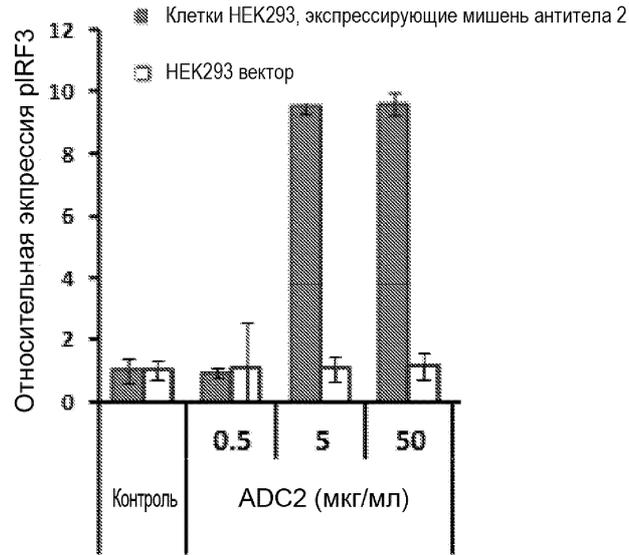
Фиг. 2



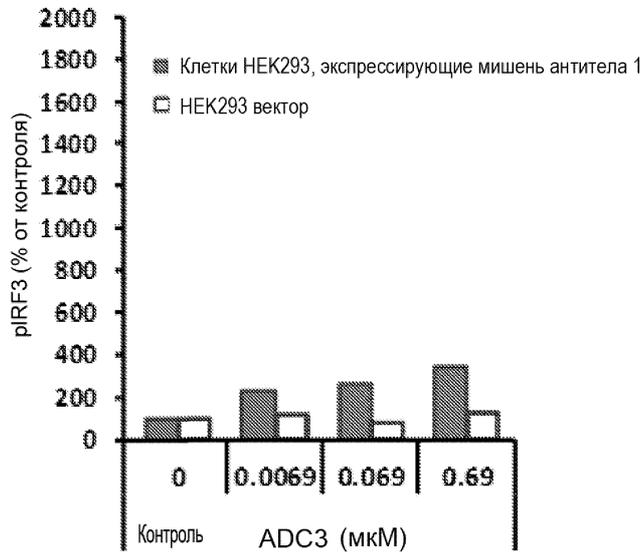
Фиг. 3



Фиг 4

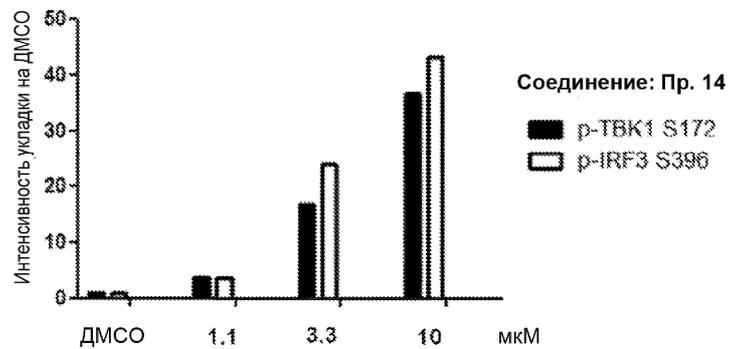


Фиг. 5

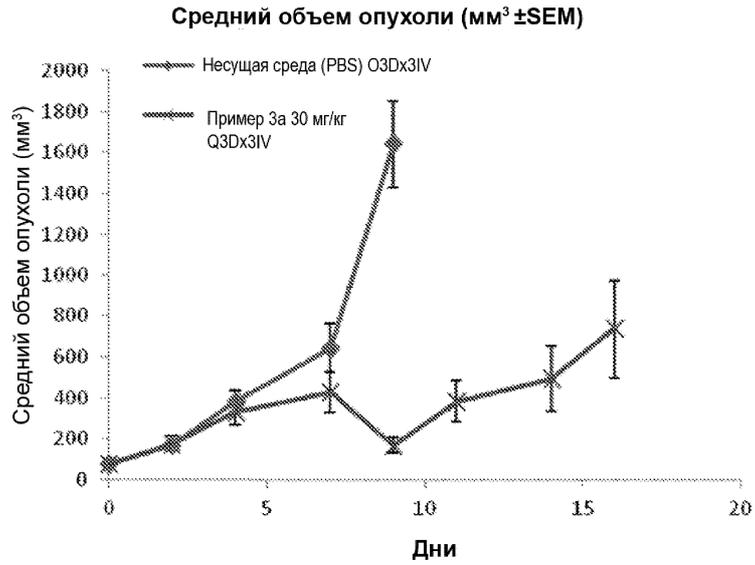


Фиг. 6

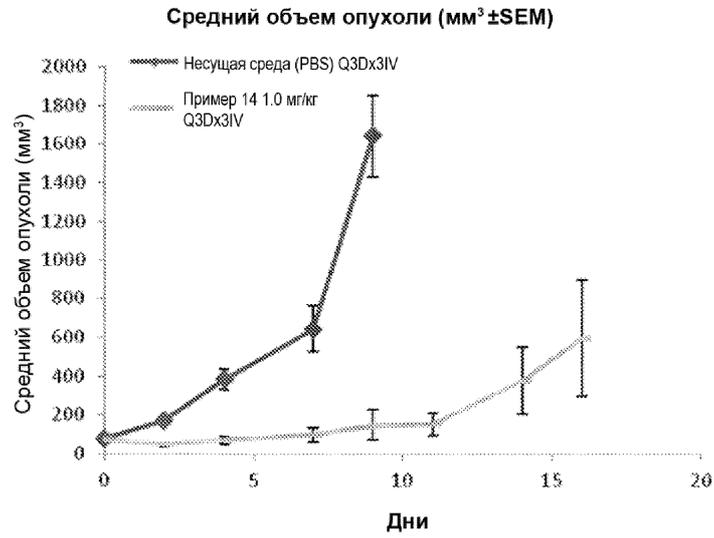
**p-TBK1 и p-IRF3 количественное измерение**



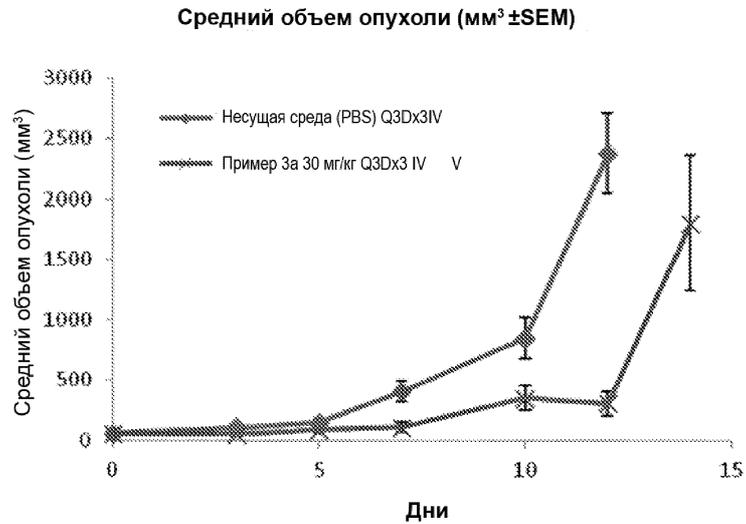
Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9



Фиг. 10

