(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 040630 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.07.07

(21) Номер заявки
201892055

(22) Дата подачи заявки
2015.11.27

(51) Int. Cl. *C07H 19/173* (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 32/02 (2006.01)

(54) НОВЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ 2' И/ИЛИ 5' АМИНОКИСЛОТНЫХ ЭФИРОВ ФОСФОРОАМИДАТОВ 3'-ДЕЗОКСИАДЕНОЗИНА В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОРАКОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ

(31) **1421211.2; 1519316.2**
(32) **2014.11.28; 2015.11.02**
(33) **GB**
(43) **2019.11.29**
(62) **201791182; 2015.11.27**

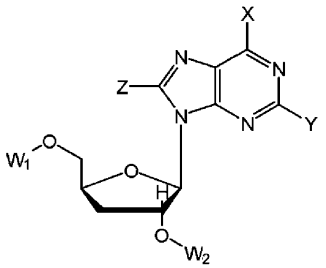
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
НУКАНА ПИЭЛСИ (GB)

(72) Изобретатель:
Гриффит Хью, Макгиган Кристофер, Феррари Валентина, Серпи Микаэла, Хименес Антунес Кармен (GB)

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

(56) WO-A1-2006100439
WO-A1-2006063149
WO-A1-2012040126

(57) Настоящее изобретение относится к химическим соединениям формулы Ib, к применению соединений формулы Ib для профилактики или лечения рака, к способу профилактики или лечения рака, включающему введение эффективного количества соединений формулы Ib, и к фармацевтической композиции, содержащей эти соединения. Соединения, в частности, могут быть использованы при лечении лейкемии у человека. Соединения являются производными кордицепина (3'-дезоксиаденозина).



(Ib)

040630 B1

040630 B1

Настоящее изобретение относится к химическим соединениям, к соединениям для применения в способе лечения, в частности в способе профилактики или лечения рака, к способу получения соединений и к фармацевтическим композициям, содержащим указанные соединения.

В частности, хотя и не только, настоящее изобретение относится к химическим соединениям для применения при лечении лейкемии, лимфомы и/или солидных опухолей у homo sapiens.

Кордицепин представляет собой 3'-дезоксиаденозин (3'dA). Он является нуклеозидным аналогом аденозина, у которого на рибозном фрагменте отсутствует 3'-гидроксильная группа.

Кордицепин является одним из основных биологически активных веществ, производимых Cordyceps militaris, паразитарным грибом, используемым в традиционной китайской медицине из-за его активирующего иммунитет, замедляющего старение и противоракового действий. См. ссылку, Tuli, H. S. et al. 3 Biotech (2014) 4:1-12.

Кордицепин может быть получен синтетически из аденозина. Ссылку на такие способы синтеза см. в работах Robins, J. R. et al. J. Org. Chem. 1995, 60, 7902-7908 и Aman, S. et al. Organic Process Research & Development 2000, 4, 601-605.

Кордицепин был наиболее широко изучен в качестве противоракового агента.

Из-за своей структуры 3'dA и его трифосфатная форма возможно могут мешать процессу, в котором необходимо участие аденозина или аденозинтрифосфата (АТФ) соответственно.

Однако после введения 3'dA быстро дезаминируется с помощью аденозиндезаминазы (ADA) и быстро метаболизируется до неактивного метаболита 3'-дезоксиинозина in vivo. См. ссылку на работу Tsai, Y-J et al. J. Agri. Food Chem. 58 4638-43 (2010).

Как описано в работе Glazer, R. et al. Cancer Research 38, 2233-2238 (1978), было показано, что кордицепин обладает противораковой активностью при использовании в комбинации с ингибитором аденозиндезаминазы, таким как пентостатин (2-дезоксикоформицин, dCF). В качестве альтернативных совместных лекарственных средств для введения с кордицепином были предложены также другие ингибиторы ADA, но в клинических испытаниях была использована указанная комбинация 3'dA-dCF. Однако, как было признано в работе Wehbe-Janek, H. et al. Anticancer Research 27: 3143-3146 (2007), 2-дезоксикоформицин известен как относительно токсичный препарат.

Известно также, что 2-фторкордицепин (3'-дезокси-2-фтораденозин) является цитотоксичным (см., например, Montgomery et al., J. Med. Chem., 1969, 12(3), 498-504 и Dickinson et al, J. Med. Chem., 1967, 10(6), 1165-1166).

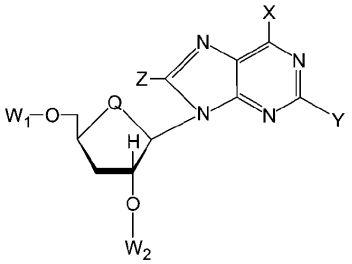
В отношении 2-хлоркордицепина (3'-дезокси-2-фтораденозин) была проведена оценка его противовирусной активности (Rosowsky et al. J. Med. Chem., 1989, 32, 1135-40).

Целью настоящего изобретения является решение проблемы повышения эффективности 3'-деоксинуклеозидов на основе пуринов, примером которых является кордицепин (3'-дезоксиаденозин), при применении в способе профилактики или лечения, в частности, хотя и не только, в противораковой химиотерапии, включая химиотерапию при лечении лейкемии, лимфомы и/или солидных опухолей.

Еще одной целью настоящего изобретения является предложить решение проблемы 3'-дезоксинуклеозидов на основе пуринов, как показано на примере кордицепина (3'-дезоксиаденозина), которые при введении дезаминируются с помощью ADA и затем быстро метаболизируются до неактивного метаболита.

Еще одной целью настоящего изобретения является предложить решение проблемы 3'-дезоксинуклеозидов на основе пуринов, как показано на примере кордицепина (3'-дезоксиаденозина), которые при введении дезаминируются с помощью ADA и затем быстро метаболизируются до неактивного метаболита, так, чтобы полностью устранить или уменьшить до некоторой степени необходимость совместного введения ингибитора ADA, когда используется 3'-деоксинуклеозид на основе пурина, в способе профилактики или лечения, в частности, хотя и не только, в противораковой химиотерапии, включая химиотерапию для лечения лейкемии, лимфомы и/или солидных опухолей.

В соответствии с первым аспектом настоящего изобретения предложено соединение, которое представляет собой соединение формулы (Ia)



(Ia)

где W_1 и W_2, каждый, независимо, выбраны из группы, включающей -P(=O)(U)(V) и H, при условии, что по меньшей мере один из W_1 и W_2 представляет собой -P(=O)(U)(V),

где U и V, независимо для каждого из W_1 и W_2, выбраны из группы, включающей:

(a) U представляет собой -OAr в комбинации с V, представляющим собой $-NR_4-CR_1R_2-C(=O)OR_3$,

где Ar выбран из группы, включающей C_{6-30}арил и C_{5-30}гетероарил, каждый из которых является необязательно замещенным;

каждый из R_1 и R_2 независимо выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-6}алкил, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкокси, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкилC_{6-30}арил, C_{6-30}арилокси и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным;

R_3 выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-20}алкил, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкилC_{6-30}арил и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным;

R_4 выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-20}алкил, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкокси, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкилC_{6-30}арил, C_{6-30}арилокси и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным; и

(b) каждый из U и V независимо выбран из $-NR_5R_6$,

где R_5 выбран из группы, включающей H и C_{1-6}алкил и R_6 представляет собой $-CR_7R_8CO_2R_9$, где R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, включающей боковые цепи, включая H, природные альфа аминокислоты, и R_9 выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-20}алкил-, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкилC_{6-30}арил и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным; или

R_5 и R_6 вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют кольцевую группу, содержащую от 5 до 8 кольцевых атомов;

Q выбран из группы, включающей O, S и $CR_{10}R_{11}$, где R_{10} и R_{11} независимо выбраны из H, F и C_{1-6}алкила;

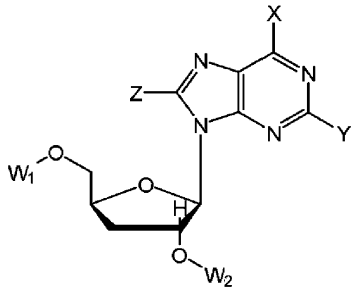
каждый из X и Z независимо выбран из группы, включающей H, OH, F, Cl, Br, I, C_{1-6}алкил, $-NR_{12}R_{13}$, где каждый из R_{12} и R_{13} независимо выбран из H и C_{1-6}алкила, и $-SR_{14}$, где R_{14} выбран из группы, включающей H и C_{1-6}алкил; и

Y выбран из группы, включающей H, OH, F, Cl, Br, I, $-OC_{1-6}$алкил, C_{1-6}алкил, C_{2-8}алкинил, $-NR_{15}R_{16}$, где каждый из R_{15} и R_{16} независимо выбран из H и C_{1-6}алкила, и $-SR_{17}$, где R_{17} выбран из группы, включающей H и C_{1-6}алкил,

или фармацевтически приемлемая соль, сложный эфир, соль сложного эфира, сольват или пролекарство соединения формулы (Ia).

Соединения по настоящему изобретению представляют собой 3'-дезоксинуклеозиды на основе пурина, в которых каждое из положений заместителя 3' на сахарном фрагменте нуклеозида занимает H.

В следующей варианте осуществления изобретения соединение по изобретению может представлять собой соединение формулы (Ib)



(Ib)

где W_1 и W_2, каждый, независимо, выбраны из группы, включающей -P(=O)(U)(V) и H, при условии, что по меньшей мере один из W_1 и W_2 представляет собой -P(=O)(U)(V),

где U и V, независимо для каждого из W_1 и W_2, выбраны из группы, включающей:

(a) U представляет собой -OAr, и V представляет собой $-NR_4-CR_1R_2-C(=O)OR_3$,

где Ar выбран из группы, включающей C_{6-30}арил и C_{5-30}гетероарил, каждый из которых является необязательно замещенным;

каждый из R_1 и R_2 независимо выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-6}алкил, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкокси, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкил, C_{6-30}арил, C_{6-30}арилокси и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным;

R_3 выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-20}алкил, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкил, C_{6-30}арил и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным;

R_4 выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-20}алкил, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкокси, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкил, C_{6-30}арил, C_{6-30}арилокси и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным; и

(b) каждый из U и V независимо выбран из $-NR_5R_6$, где R_5 выбран из группы, включающей H и C_{1-6}алкил, и R_6 представляет собой $-CR_7R_8CO_2R_9$, где R_7 и R_8 независимо выбраны из группы, включающей боковые цепи, включая H, природные альфа аминокислоты, и R_9 выбран из H и группы, включающей C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-20}алкил-, C_{2-20}алкенил, C_{1-20}алкоксиC_{1-20}алкил, C_{1-20}алкоксиC_{6-30}арил, C_{2-20}алкинил, C_{3-20}циклоалкил, C_{6-30}арил и C_{5-20}гетероциклил, любой из которых является необязательно замещенным; или

R_5 и R_6 вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют кольцевую группу, содержащую от 5 до 8 кольцевых атомов;

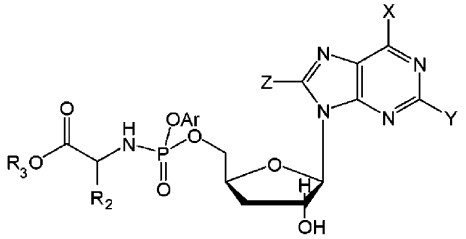
X выбран из $NR^{12}R^{13}$, где каждый из R_{12} и R_{13} независимо выбран из H и C_{1-6}алкила; и $-SR_{14}$, где R_{14} выбран из группы, включающей H и C_{1-6}алкил;

Z независимо выбран из группы, включающей H, OH, F, Cl, Br, I, C_{1-6}алкил, $-NR_{12}R_{13}$, и $-SR_{14}$, где R_{14} выбран из группы, включающей H и C_{1-6}алкил; и

Y выбран из группы, включающей H, OH, F, Cl, Br, I, $-OC_{1-6}$алкил, C_{1-6}алкил, C_{2-8}алкинил, $-NR_{15}R_{16}$, где каждый из R_{15} и R_{16} независимо выбран из H и C_{1-6}алкила, и $-SR_{17}$, где R_{17} выбран из группы, включающей H и C_{1-6}алкил, или

фармацевтически приемлемую соль, сложный эфир, соль сложного эфира, сольват или пролекарство соединения формулы (Ib).

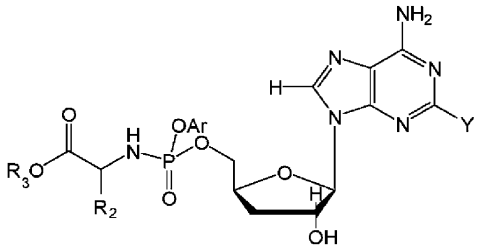
Соединение формулы (Ib) может представлять собой соединение формулы (II)



(II)

где Ar, Y, Z, R_2 и R_3 имеют значения, описанные выше для формулы (Ib), и где X представляет собой $-NR^{12}R^{13}$.

Соединение формулы (Ib) может представлять собой соединение формулы (III)

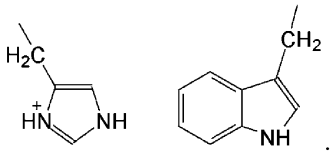


(III)

где Ar, R_2 и R_3 имеют значения, описанные выше для формулы (Ib), и где Y выбран из H, F, Cl и OMe.

Следующие определения относятся к соединениям любой из формул (Ia), (Ib), (II) и (III). Эти определения являются независимыми и взаимозаменяемыми. Другими словами, любой из признаков, описанный в любом из следующих определений, может (где это химически допустимо) сочетаться с признаками, описанными в одном или нескольких других определениях ниже. В частности, когда соединение показано в примерах или иллюстрируется в этом описании, любые два или более из нижеуказанных определений, которые описывают признак этого соединения, выраженное на любом уровне общности, могут быть объединены, чтобы представлять объект изобретения, который рассматривается как образующий часть описания настоящего изобретения в этом описании.

В настоящем описании термин "природная альфа аминокислота" означает аминокислоту, которая может обладать L или D стереохимией, выбранную из группы, включающей глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан, серин, треонин, лизин, аргинин, гистидин, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, аспарагин, глутамин, цистеин и метионин. В настоящем описании боковая цепь природных альфа аминокислот, таким образом, представляет собой член, выбранный из группы, включающей H, CH_3, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, CH_2Ph, CH_2Ph-OH, $-CH_2SH$, $-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH_2OH$, $-(CH_3)(OH)$, $CH_2CH_2CH_2CH_2NH_3^+$, $CH_2CH_2CH_2NHC(=NH_2^+)NH_2$, $-CH_2C(O)O-$, $CH_2CH_2C(O)O-$, $CH_2C(O)NH_2$, $CH_2CH_2C(O)NH_2$,



Может являться, что W_1 представляет собой -P(=O)(U)(V) и W_2 представляет собой H, и соединение по изобретению представляет собой 5'-фосфорамидат от исходного 3'-дезоксинуклеозида. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения W_1 представляет собой -P(=O)(U)(V), где U представляет собой -OAr и V представляет собой $-NR_4-CR_1R_2-C(=O)OR_3$, и W_2 представляет собой H.

Может являться, что W_1 представляет собой H и W_2 представляет собой -P(=O)(U)(V), и соединение по изобретению представляет собой 2'-фосфорамидат от исходного 3'-дезоксинуклеозида. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения W_1 представляет собой H и W_2 представляет собой -P(=O)(U)(V), где U представляет собой -OAr и V представляет собой $-NR_4-CR_1R_2-C(=O)OR_3$.

Может являться, что каждый из W_1 и W_2 представляет собой -P(=O)(U)(V), и соединение по изобретению представляет собой 2', 5'-фосфорамидат от исходного 3'-дезоксинуклеозида. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения, где каждый из W_1 и W_2 представляет собой -P(=O)(U)(V), U представляет собой -OAr и V представляет собой $-NR_4-CR_1R_2-C(=O)OR_3$. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения W_1 является таким же как W_2.

Ar может быть незамещенным. Ar может быть замещенным. Когда Ar является замещенным, он может быть замещен одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместители. Заместители могут быть выбраны из: галогена, C_1-C_4-алкила, C_1-C_4-алкокси, нитро и циано.

Ar либо замещенный, либо незамещенный, может быть выбран из группы, включающей фенил, пиридил, нафтил и хинолил. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения Ar выбран из группы, включающей фенил и нафтил. В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения, когда Ar представляет собой нафтил, присоединение к -O-P происходит в 1-положении на нафтиле. В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения Ar является незамещенным фенилом или незамещенным нафтилом, с присоединением к -O-P в 1-положении на нафтиле.

R_1 и R_2 могут быть выбраны таким образом, что группа CR_1R_2COO- соответствует группе природной альфа аминокислоты.

Может являться, что каждый из R_1 и R_2 независимо выбран из Me и H. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения один из R_1 и R_2 представляет собой Me и один из R_1 и R_2 представляет собой H, так что атом C, несущий R_1 и R_2, обладает той же абсолютной конфигурацией, что и L-аланин.

Может являться, что R_1 представляет собой H. Может являться, что R^2 представляет собой C_1-C_4алкил. Может являться, что R_2 представляет собой метил. Может являться, что атом C, несущий R_1 и R_2 обладает той же абсолютной конфигурацией, что и L-аланин.

Может являться, что каждый из R_1 и R_2 представляет собой Me. Может являться, что каждый из R_1 и R_2 представляет собой H.

Может являться, что R_3 выбран из группы, включающей C_{6-30}арилC_{1-6}алкил и незамещенный C_{1-20}алкил. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_3 выбран из группы, включающей бензил($-CH_2$-Ph), незамещенный метил($-CH_3$) и незамещенный н-пентил(-н-C_5H_{11}). В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_3 представляет собой бензил.

R_4 может представлять собой H.

U и V могут быть независимо выбраны из $-NR_5R_6$. Предпочтительно каждый из U и V являются одинаковыми. В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_8 представляет собой H и R_7 выбран из группы, включающей H, метил, изо-пропил, $-CH_2Ph$, $-CH_2CH(CH_3)_2$ и -CH (CH_3) (CH_2H_5). В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_7 представляет собой метил. В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения стереохимия атома C, несущего R_7 и R_8, может иметь такую же абсолютную конфигурацию, что и L-аланин. Альтернативно, стереохимия атома C, несущего R_7 и R_8, может иметь такую же абсолютную конфигурацию, что и D-аланин. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_9 выбран из группы, включающей разветвленный и неразветвленный C_1-C_{13}ациклический алкил, C_3-C_{18}циклический алкил и C_{6-30}арилC_{1-6}алкил, любой из которых является необязательно замещенным. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_9 представляет собой бензил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по настоящему изобретению содержит U и V, где каждый из U и V выбран, независимо, из $-NR_5R_6$, где R_5 и R_6 вместе с атомом N, к которому они присоединены, образуют кольцевую группу, содержащую от 5 до 8 кольцевых атомов. U и V могут быть одинаковыми.

Q может представляет собой O.

Может являться, что W_1 представляет собой -P(=O)(U)(V), где U представляет собой -O-1-нафтил и V представляет собой $-NH-(L)CH(CH_3)-C(=O)-O-CH_2-Ph$, W_2 представляет собой H и Q представляет собой O.

Может являться, что каждый из X и Z независимо выбран из группы, включающей H, OH, F, Cl, NH_2, SH и -SC_{1-6}алкил, и Y выбран из группы, включающей H, OH, F, Cl, -OC_{1-6}алкил, NH_2, C_{2-8}алкинил, SH и -SC_{1-6}алкил. Может являться, что X представляет собой $NR^{12}R^{13}$, например NH_2. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения Z представляет собой H. В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения X представляет собой NH_2 и Z представляет собой H. В

предпочтительных вариантах осуществления изобретения X представляет собой NH_2, Y представляет собой H и Z представляет собой H; X представляет собой NH_2, Y представляет собой F и Z представляет собой H; X представляет собой NH_2, Y в виде Cl и Z представляет собой H; или X представляет собой NH_2, Y представляет собой $-OCH_3$ и Z в виде H. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения X представляет собой NH_2, Y представляет собой H и Z представляет собой H и таким образом представляя соединения по изобретению, которые являются производными кордицепина (3'dA).

В некоторых особенно предпочтительных вариантах осуществления Ar представляет собой фенил, R_3 представляет собой бензил и R_2 представляет собой метил.

Соединения по настоящему изобретению, где, когда P является асимметричным, соединение может существовать как диастереоизомер R_p, диастереоизомер S_p или смесь диастереоизомеров R_p и S_p.

Предпочтительные соединения по изобретению включают:

(2S)-бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноат;

бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)ацетат;

(2S)-пентил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-4-метилпентаноат;

метил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-2-метилпропаноат;

(2S)-бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(2-(3-этокси-3-оксопропил)фенокси)фосфорил)амино)пропаноат;

(2S)-бензил 2-(((((2R,3R,5S)-2-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат;

бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-((((1-(бензилокси)-1-оксопропан-2-ил)амино)(фенокси)фосфорил)окси)тетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат;

(2S)-бензил 2-(((((2R,3R,5S)-2-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноат;

бензил 2-[({[5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксиоксолан-2-ил]метокси}({[1-(бензилокси)-1-оксопропан-2-ил]амино})фосфорил)амино]пропаноат;

(2S)-бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-метокси-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфориламино)пропаноат;

(2S)-бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-метокси-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфориламино)пропаноат;

(2S)-бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат;

(2S)-гексил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат;

(2R)-бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфориламино)пропаноат;

3'-дезоксиаденозин-5'-O-[фенил (бензилокси-L-аланинил)]фосфат;

2-O-метил-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(1-пентилокси-L-лейцинил)]фосфат;

2-O-метил-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[фенил (1-гексилокси-L-аланинил)]фосфат;

2-фтор-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат;

2-фтор-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(1-пентилокси-L-лейцинил)]фосфат;

2-хлор-3'дезоксиаденозин 5'-O-[1-фенил(2,2-диметилпропокси-L-аланин)]фосфат;

2-хлор-3'дезоксиаденозин 5'-O-[1-нафтил(2,2-диметилпропокси-L-аланин)]фосфат;

2-хлор-3'дезоксиаденозин 5'-O-[1-фенил (этокси-L-аланин)]фосфат; и

(2S)-изопропил-2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат

и их фармацевтически приемлемые соли, сложные эфиры, соли сложного эфира, сольваты или пролекарства.

В некоторых вариантах осуществления изобретения соединение по изобретению не представляет собой:

(2S)-изопропил-2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат.

В соответствии со вторым аспектом настоящего изобретения предложено соединение по настоящему изобретению для применения в способе лечения. Соединение могут быть использованы для профилактики или лечения злокачественного новообразования.

В соответствии с третьим аспектом настоящего изобретения предложено применение соединения по настоящему изобретению при изготовлении лекарственного средства для профилактики или лечения, в частности, хотя и не только, злокачественного новообразования.

В соответствии с четвертым аспектом настоящего изобретения, предложен способ профилактики

или лечения, в частности, хотя и не только, злокачественного новообразования, включающий введение пациенту, при необходимости такого лечения, эффективной дозы соединения по настоящему изобретению.

Что касается каждого из второго, третьего и четвертого аспектов настоящего изобретения, варианты осуществления изобретения включают злокачественное образование, выбранное из числа гематологических и солидных опухолей.

В частности, злокачественное новообразование может быть выбрано из группы, включающей лейкемию, множественную миелому, рак печени, рак молочной железы, рак головы и шеи, нейробластому, рак щитовидной железы, рак кожи (включая меланому), плоскоклеточную карциному полости рта, злокачественное новообразование мочевого пузыря, опухоль из клеток Лейдига, рак кишечника, колоректальный рак, рак легких (немелкоклеточный и мелкоклеточный), рак желчного пузыря, рак поджелудочной железы, саркому, рак предстательной железы, рак центральной нервной системы, саркому Юинга, холангиокарциному и гинекологические раковые заболевания, включая рак яичников, рак матки и рак шейки матки, включая рак эпителия шейки матки. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения злокачественное новообразование представляет собой лейкемию или лимфому, например злокачественное новообразование, выбранное из группы, включающей острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, монобластный лейкоз, волосатоклеточную лейкемию, лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому. В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения злокачественное новообразование представляет собой острый лимфобластный лейкоз.

Каждый из второго, третьего и четвертого аспектов изобретения может включать варианты лечения злокачественного новообразования, используемого в комбинации с другой терапией рака. Примеры другой терапии рака включают лучевую терапию и/или другую химиотерапию. Не будучи связанным теорией или механизмом, сообщалось (например, Robertson, J. B. et al. Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med. 1978 34(5): 417-29, Hiraoka, W. et al. Radiat. Res. (1988) 114 (2):231-9, и Hiraoka, W. et al. J. Radiat. Res. (Tokyo) (1990) 31(2):156-61), что 3'-дезоксиаденозин ингибирует восстановление повреждений ДНК, вызванных рентгеновскими лучами. В некоторых вариантах каждого из второго, третьего и четвертого аспектов настоящего изобретения соединения по изобретению предназначены для использования или используются в способе лечения злокачественного новообразования, включающего введение пациенту, нуждающемуся в таком лечении, соединения по настоящему изобретению в сочетании с лучевой терапией.

В отношении каждого из второго, третьего и четвертого аспектов настоящего изобретения, дополнительные варианты осуществления изобретения включают соединения по изобретению, которые предназначены для использования или используются в способе профилактики или лечения миелодиспластического синдрома.

Без привязки к теории или механизму: Tuli et al. (supra) сообщали, что кордицепин, помимо обладания противораковой активностью и апоптотической активностью, также демонстрирует антиоксидантную, противовоспалительную, противомалярийную, противогрибковую, иммуномодулирующую, антидиабетическую/гипогликемическую, стероидогенезную и замедляющую старение активность; Vodnala, S. K. et al. J. Med. Chem. 2013, 56, 9861-9873 сообщали, что каждый как кордицепин, так и 2-фторкордицепин демонстрируют антипаразитарную активность; Ann, Y. J. et al. J. Agric. Food Chem. 2000 48 (7) 2744-8 сообщали, что кордицепин демонстрирует антибактериальную активность, и de Julian-Ortiz J. V. et al. J. Med. Chem. 1999 42(17) 3308-14 сообщали, что кордицепин демонстрирует противовирусную активность; Sugar et al, Antimicrob. Agents. Chemother. 1998 42(6) 1424-7, показали, что кордицепин обладает противогрибковой активностью. В отношении каждого из второго, третьего и четвертого аспектов настоящего изобретения, варианты осуществления изобретения включают соединения по изобретению, которые предназначены для использования или используются в способе профилактики или лечения пациента с заболеванием или состоянием, при котором необходимо по меньшей мере одно воздействие, выбранное из группы, включающей антиоксидантную, противовоспалительную, противомалярийную, противогрибковую, иммуномодулирующую, антидиабетическую/гипогликемическую, стероидогенезную, замедляющую старение, антипаразитарную, антибактериальную и противовирусную активность.

В отношении каждого из второго, третьего и четвертого аспектов изобретения, варианты осуществления изобретения включают соединения по настоящему изобретению, которые предназначены для использования или используются в способе профилактики или лечения, где в способе не применяется введение дополнительного лекарственного средства, которое является ингибитором аденозина дезаминазы. В отличие от исходного соединения кордицепина, которое обычно необходимо вводить совместно с ингибитором ADA, чтобы проявлять эффективность, может быть возможным, что соединения по изобретению не потребуют такого совместного введения.

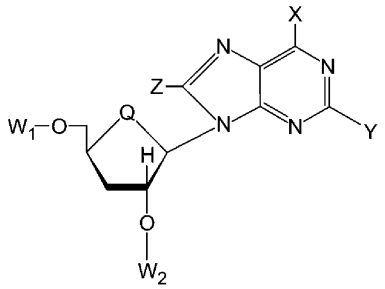
Ингибитор ADA, однако, может быть использован в качестве дополнительного лекарственного средства, если желательно, в отношении каждого из второго, третьего и четвертого аспектов изобретения. Подходящим ингибитором ADA для совместного введения с соединением, предложенным в на-

стоящем изобретении, является гидроксимочевина или пентастатин.

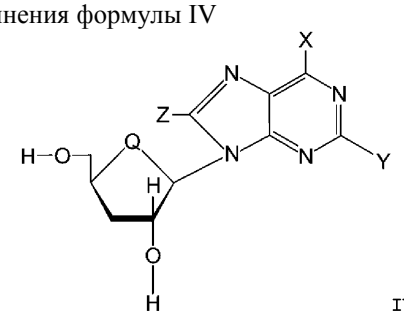
В соответствии со следующим аспектом настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая соединение по настоящему изобретению в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом.

В соответствии со следующим аспектом настоящего изобретения предложен способ получения фармацевтической композиции, включающий стадию объединения соединения по настоящему изобретению с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом.

В соответствии со следующим аспектом настоящего изобретения предложен способ получения соединения формулы (Ia)

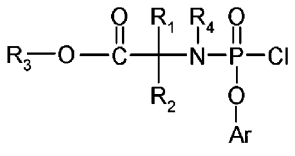


путем взаимодействия соединения формулы IV



IV

с (a) соединением формулы V



V

или (b) $POCl_3$, затем с солью $N^+R_5R_6H_2$,

где W_1, W_2, Q, X, Y, Z, Ar, R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 и R_6 имеют значения, указанные в настоящем документе в отношении формулы (Ia).

Неожиданно было обнаружено, что соединения, предложенные в настоящем изобретении, обладают повышенной фармацевтической активностью, в частности усиливают противоопухолевую активность по сравнению с исходным 3'-дезоксинуклеозидом на основе пурина (т.е. когда W_1 и W_2 представляют собой H), особенно когда используются при лечении лейкемии, лимфомы и/или солидных опухолей.

Повышение активности было обнаружено в отсутствие введения дополнительного лекарственного средства для ингибирования аденозиндезаминазы, в сравнении с исходным нуклеозидом на основе пурина, вводимого в отсутствие введения дополнительного лекарственного средства для ингибирования ADA.

Таким образом, в настоящем изобретении неожиданно представлено средство для использования производного 3'-дезоксиаденозина или производного аналога 3'-дезоксиаденозина в качестве фармацевтического агента, в частности в качестве противоракового агента, который облегчает проблему дезаминирования аденозиндезаминазой, полностью избегая при этом, если желательно, применение дополнительного лекарственного средства, которое является ингибитором аденозиндезаминазы, включая относительно токсичный 2-дезоксикоформицин.

Не будучи связанными какой-либо теорией, эффективность, особенно противоопухолевая эффективность, проявляемая соединениями по настоящему изобретению, демонстрирует, что 3'-дезоксинуклеозидные соединения по настоящему изобретению фосфорилируются внутриклеточно до 3'-дезоксиаденозинтрифосфата или до трифосфата 3'-деоксиаденозина. Если соединения по настоящему изобретению имеют W_1 в виде -P-(=O)(U)(V), полагают, что ферментативное расщепление U и V в клетке превращает соединения непосредственно в 3'-дезоксиаденозинмонофосфат или аналог монофосфата 3'-деоксиаденозина перед фосфорилированием до трифосфата.

Ни один из видов вышеуказанной внутриклеточной активности соединений по настоящему изобретению не мог быть предсказан заранее.

Вышеуказанные преимущества являются дополнением к повышенной проницаемости клеточной

мембраны фосфорамидатными нуклеозидами по настоящему изобретению по сравнению с 3'-деоксиаденозиновым исходным соединением или 3'-деоксиаденозиновым аналоговым исходным соединением, где повышенная проницаемость клеточной мембраны объясняется фосфорамидатной структурой соединения. Преимущество повышенной проницаемости клеточной мембраны нельзя, кроме того, предполагать априорным для фосфорамидата любого нуклеозида. Считается, что соединения по настоящему изобретению являются первым примером фосфорамидата 3'-дезоксинуклеозида, демонстрирующим повышенную противоопухолевую активность по сравнению с его исходным 3'-дезоксинуклеозидом. Таким образом, эффект повышенной проницаемости клеточной мембраны соединениями по настоящему изобретению является неожиданным.

Предпочтительные варианты соединений по настоящему изобретению в совокупности обладают признаками, изложенными выше в отношении вариантов осуществления соединений по изобретению.

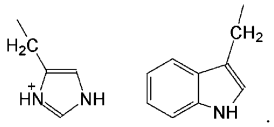
Каждый из Ar, R_1, R_2, R_3 и R_4 может быть замещен одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместители.

Заместители на Ar могут быть в орто-, мета-, пара- или иных положениях на ароматических группах. Заместители на Ar независимо выбраны из группы, включающей гидрокси, C_{1-6}ацил, C_{1-6}ацилокси, нитро, амино, карбоксил, C_{2-6}сложный эфир, C_{1-6}альдегид, циано, C_{1-6}алкиламино, диC_{1-6}алкиламино, тиол, хлор, бром, фтор, йод, C_{1-6}алкил, C_{2-6}алкенил, C_{1-6}алкоксиC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкоксиC_{6-10}арил, C_{5-7}циклоалкил, C_{5-11}циклоалкилC_{1-6}алкил, C_{5-7}циклоалкенил, C_{8-12}циклоалкинил, C_{6-11}арилC_{1-6}алкил, C_{1-6}алкилC_{6-11}арил, C_{6-11}арил, C_{1-6}фторалкил, C_{2-6}фторалкенил, SO_3H, SH и SR', где R' независимо выбран из той же группы, что указана выше как R_1 относительно формулы Ia. Каждый заместитель может быть замещен любым другим заместителем.

Заместители на R_1, R_2, R_3 и R_4 независимо выбраны из группы, включающей гидрокси, C_{1-6}ацил, C_{1-6}ацилокси, нитро, амино, амидо, карбокси, C_{2-6}сложный эфир, C_{1-6}альдегид, циано, C_{1-6}алкиламино, диC_{1-6}алкиламино, тиол, хлор, бром, фтор, йод, C_{5-7}циклоалкил, C_{5-7}циклоалкенил, C_{8-12}циклоалкинил, C_{6-11}арил, C_{6-11}арилC_{1-6}алкил, C_{5-20}гетероциклил, SO_3H, SH и SR', где R' независимо выбран из той же группы, что указана выше как R_1 относительно формулы Ib.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_1 и R_2 независимо выбраны из группы, включающей H, C_{1-10}алкил, C_{6-30}арилC_{1-6}алкил, C_{2-10}алкенил, C_{2-10}алкоксиC_{1-10}алкил, C_{1-10}алкоксиC_{6-10}арил, C_{2-10}алкинил, C_{3-20}циклоалкил, C_{3-20}циклоалкенил, C_{8-20}циклоалкинил и C_{5-10}гетероциклил.

В некоторых вариантах осуществления изобретения R_1 и/или R_2 соответствуют боковой цепи, включая H, природной альфа аминокислоты, которая может иметь L или D стереохимию. Таким образом, может являться, что R_1 и/или R_2 (например, отдельно или R_1 и R_2) выбраны из группы, включающей H, CH_3, $-CH(CH_3)_2$, $CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH(CH_3)(CH_2CH_3)$, CH_2Ph, CH_2Ph-OH, $-CH_2SH$, $-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH_2OH$, $CH(CH_3)(OH)$, $CH_2CH_2CH_2CH_2NH_3^+$, $CH_2CH_2CH_2NHC(=NH_2^+)NH_2$, $CH_2C(O)O$-, $CH_2CH_2C(O)O$-, $CH_2C(O)NH_2$, $CH_2CH_2C(O)NH_2$,



В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_1 и R_2 независимо выбраны из группы, включающей H, $-CH_3$ и $-CH_2CH(CH_3)_2$. В следующих предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_1 и R_2 вместе соответствуют боковым цепям L аланина.

R_3 может быть выбран из группы, включающей H, C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-6}алкил, C_{2-10}алкенил, C_{1-10}алкоксиC_{1-10}алкил, C_{1-10}алкоксиC_{6-10}арил, C_{2-10}алкинил, C_{3-20}циклоалкил, C_{3-20}циклоалкенил, C_{8-20}циклоалкинил и C_{5-20}гетероциклил.

R_3 может быть выбран из группы, включающей H, C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-6}алкил и C_{3-20}циклоалкил. R_3 может быть выбран из группы, включающей C_{6-30}арилC_{1-6}алкил и незамещенный C_{1-20}алкил. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления изобретения R_3 выбран из группы, включающей бензил($-CH_2Ph$), незамещенный метил($-CH_3$) и незамещенный н-пентил(-н-C_5H_{11}). R_3 может представлять собой бензил.

R_4 может быть выбран из группы, включающей H, C_{1-20}алкил, C_{6-30}арилC_{1-6}алкил, C_{2-10}алкенил, C_{1-10}алкокси, C_{1-10}алкоксиC_{1-10}алкил, C_{1-10}алкоксиC_{6-10}арил, C_{2-10}алкинил, C_{3-20}циклоалкил, C_{3-20}циклоалкенил, C_{8-20}циклоалкинил и C_{5-20}гетероциклил.

R_4 может быть выбран из группы, включающей H, C_{1-18}алкил, C_{6-30}арилC_{1-6}алкил, C_{3-20}циклоалкил и C_{5-20}гетероциклил. R_4 может быть выбран из группы, включающей H, метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил и циклогексил. R_4 может представлять собой H.

Данное изобретение относится к соединению по изобретению для применения в таргетировании раковых стволовых клеток.

Данное изобретение относится к применению соединения по изобретению при изготовлении лекарственного средства для таргетирования раковых стволовых клеток.

Данное изобретение относится к способу таргетирования раковых стволовых клеток, где способ

включает в себя обеспечение популяции раковых стволовых клеток количеством соединения по изобретению, достаточным для таргетирования таких раковых стволовых клеток.

Таргетирование раковых стволовых клеток, указанное в настоящем изобретении, может быть использовано для профилактики или лечения злокачественного новообразования. В таких вариантах осуществления популяция раковых стволовых клеток может представлять собой злокачественное новообразование или находиться в предраковом состоянии у пациента, нуждающегося в таком таргетировании, и способ может включать введение терапевтически эффективного количества соединения по изобретению пациенту.

Данное изобретение относится к соединению по изобретению для применения в качестве лекарственного средства против раковых стволовых клеток. Это применение соединений по изобретению может также быть использовано в профилактике или лечении злокачественного новообразования.

Данное изобретение относится к способу определения того, будут ли эффективным для пациента, страдающего злокачественным новообразованием или имеющим предраковое состояние, профилактика или лечение злокачественного новообразования с использованием соединения по изобретению, где способ включает:

анализ биологического образца, характерного для злокачественного новообразования или предракового состояния у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; где наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце указывает на то, что пациенту будет полезно лечение с использованием соединения по изобретению.

Данное изобретение относится к способу определения подходящего режима лечения пациента, страдающего злокачественным новообразованием или имеющим предраковое состояние, где способ включает:

анализ биологического образца, характерного для злокачественного новообразования или предракового состояния у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; где наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце указывает на то, что подходящий режим лечения будет включать лечение пациента с использованием соединения по изобретению.

Данное изобретение относится к соединению по изобретению для применения в профилактике или лечении злокачественного новообразования у пациента, выбранного для такого лечения способом, включающим:

анализ биологического образца, характерного для злокачественного новообразования или предракового состояния у пациента, на наличие раковых стволовых клеток; где наличие раковых стволовых клеток в биологическом образце указывает на то, что пациенту будет полезно лечение с использованием соединения по изобретению.

Способы, описанные выше, могут дополнительно включать стадию профилактики или лечения злокачественного новообразования или предракового состояния, используя соединение по изобретению.

В подходящих вариантах способов по изобретению злокачественное новообразование представляет собой рецидивирующее или рефрактерное злокачественное новообразование. Соединение по изобретению может быть использовано при лечении такого рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования.

Данное изобретение относится к соединению по изобретению для применения в лечении рефрактерного злокачественного новообразования у субъекта. Субъектом может являться пациент человек. Субъектом может являться домашнее животное, например млекопитающее.

Данное изобретение относится к применению соединения по изобретению при изготовлении лекарственного средства для лечения рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования у субъекта. Субъектом может являться домашнее животное, например млекопитающее.

Данное изобретение относится к способу лечения рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования у субъекта, где способ включает обеспечение субъекта терапевтически эффективным количеством соединения по изобретению при необходимости такого лечения. Субъектом может являться домашнее животное, например млекопитающее.

Данное изобретение относится к соединению по изобретению для применения при лечении злокачественного новообразования, где соединение по изобретению предназначено для использования в дозе в диапазоне приблизительно 25 и 4000 мг/м^2 в неделю по меньшей мере в одном начальном цикле лечения, а затем для использования в меньшей недельной дозе по меньшей мере в одном дополнительном цикле лечения. Злокачественным новообразованием может являться рецидивирующее или рефрактерное злокачественное новообразование.

Различные аспекты изобретения основаны на том, что соединение по изобретению способно уменьшать число раковых стволовых клеток и может уменьшить их предпочтительно по сравнению с другими типами клеток. Это открытие удивительно тем, что раковые стволовые клетки, как известно, устойчивы ко многим химиотерапевтическим агентам, и ранее не было сделано предположений о том, что, либо соединение по изобретению, либо кордицепин или 2-фторкордицепин, исходное пролекарственное соединение, из которого соединение по изобретение было получено, были способны таргетировать раковые стволовые клетки. Таким образом, обнаружение того, что соединение по изобретению спо-

собно таргетировать раковые стволовые клетки и, следовательно, уменьшать их количество, обнаружение, которое было подтверждено изобретателями, применимое к широкому спектру видов рака, представляет собой удивительный прорыв, который позволяет использовать целый ряд новых терапевтических применений соединений по изобретению.

Биологическая активность, проявляемая соединениями по изобретению, о которых ранее не сообщалось, указывает на то, что эти соединения способны обеспечить лечение, которое, вероятно, будет эффективным у пациентов с рецидивирующим или рефрактерным раком. Лечение такого рода с использованием соединений по изобретению может привести к сокращению размера опухоли и/или снижению клинически значимых биомаркеров, что может быть связано с более благоприятным прогнозом. Кроме того, лечение соединением по изобретению может помочь сохранить уменьшение размера опухолей у пациентов с рецидивирующим или рефрактерным раком. Соответственно лечение с использованием соединения по настоящему изобретению может обеспечить высокую надежную частоту контроля заболевания (DCR) у пациентов с рецидивирующими или резистентными видами рака.

Не желая быть связанными какой-либо гипотезой, изобретатели полагают, что способность соединений по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки способствует терапевтической полезности этих соединений при лечении рецидивирующего или рефрактерного рака.

За исключением случаев, когда из контекста требуется иное, ссылки в пределах данного описания на "применение" соединений по изобретению в соответствии с изобретением могут быть приняты как относящиеся к любому из медицинских применений соединений по изобретению, описанных в настоящем документе. Аналогично, ссылки на "способы" по изобретению с использованием соединения по изобретению следует рассматривать как относящиеся к любому из описанных в настоящем документе способов.

Способность соединения по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки предоставляет новые виды терапии, направленные против тех раковых клеток, которые считаются наиболее трудными для лечения и которые, как считается, играют главную роль в резистентности, которая ограничивает эффективность многих существующих методов лечения рака. Эта способность также предоставляет способ таргетирования клеток, которые, как полагают, связаны с развитием, прогрессированием, рецидивом и распространением рака. Соответственно будет признано, что эта активность соединений по изобретению против раковых стволовых клеток дает преимущества в тех случаях, для которых долго искали новые эффективные методы лечения.

Краткое описание фигур

Варианты осуществления изобретения описаны далее со ссылкой на прилагаемые чертежи, на которых:

фиг. 1 - сравнение значений LD_{50} для кордицепина, соединения A, 2-F-кордицепина, соединений O, P, Q и R. Все анализы проводились с использованием клеток KG1a, и данные представлены в виде среднего результата (±SD) пяти независимых экспериментов;

фиг. 2 - анализ способности таргетирования лейкемических стволовых клеток (LSC) кордицепином и соединением A. Ранее полученные данные (ii) показаны для сравнения. Все данные представляют собой средний результат (±SD) трех независимых экспериментов;

фиг. 3 - анализ способности таргетирования LSC 2-F-кордицепина и соединений O, P, Q и R. Все данные представляют собой средний результат (±SD) трех независимых экспериментов;

фиг. 4 - сравнение способности таргетирования LSC 2-F-кордицепина и каждого proTide. Все данные представляют собой средний результат (±SD) трех независимых экспериментов.

Подробное описание

Как используется в настоящем документе, термин "алкил" относится к прямому или разветвленному насыщенному моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) циклическому или ациклическому углеводородному радикалу, имеющему указанное число атомов углерода (или, когда оно не указано, ациклическая алкильная группа может содержать 1-20, 1-18, 1-10, 1-6 или 1-4 атомов углерода, и циклическая алкильная группа может содержать 3-20, 3-10 или 3-7 атомов углерода), необязательно замещенному одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из группы, описанной выше, в отношении заместителей, которые могут находиться на R_1, R_2, R_3 и R_4. В качестве неограничивающих примеров, алкильные группы могут включать метил, этил, пропил, бутил, пентил, гексил, октил, нонил и додецил.

Как используется в настоящем документе, термин "алкенил" относится к прямому или разветвленному ненасыщенному моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) ациклическому или циклическому углеводородному радикалу, имеющему одну или несколько двойных связей C=C и имеющему указанное число атомов углерода (или, когда оно не указано, ациклическая алкенильная группа может содержать 2-20, 2-10, 2-6 или 2-4 атомов углерода, и циклическая алкенильная группа может содержать 3-20 или 5-7 атомов углерода), необязательно замещенному одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из группы, описанной выше, в отношении заместителей, которые могут находиться на R_1, R_2, R_3 и R_4. В качестве неограничивающих примеров, алкенильные группы могут включать винил, пропенил, бутенил, пентенил и гексенил.

Как используется в настоящем документе, термин "алкинил" относится к прямому или разветвленному ненасыщенному моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) ациклическому или циклическому углеводородному радикалу, имеющему одну или несколько тройных связей C≡C и имеющему указанное число атомов углерода (или, когда оно не указано, ациклическая алкинильная группа может содержать 2-20, 2-10, 2-6 или 2-4 атомов углерода, и циклическая алкинильная группа может содержать 8-20 атомов углерода), необязательно замещенному одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из группы, описанной выше, в отношении заместителей, которые могут находиться на R_1, R_2, R_3 и R_4.

Как используется в настоящем документе, термин "алкокси" относится к группе алкил-O-, где алкил имеет значения, определенные выше, и где алкильный фрагмент может быть необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями, описанными выше для алкила. Связывание осуществляется через -O-. В качестве неограничивающих примеров, алкокси группы могут включать метокси, этокси, н-пропокси, изо-пропокси, н-бутокси, трет-бутокси, втор-бутокси, н-пентокси, н-гексокси и 1,2-диметилбутокси.

Как используется в настоящем документе, термин "арилокси" относится к группе арил-O-, где арил имеет значения, определенные далее, и где арильный фрагмент может быть необязательно замещен одним, двумя или тремя заместителями, описанными выше в отношении к группе Ar. Связывание осуществляется через -O-.

Как используется в настоящем документе, термин "алкоксиалкил" относится к алкильной группе, имеющей алкокси заместитель. Связывание осуществляется через алкильную группу. Алкильный фрагмент и алкокси фрагмент имеют значения, определенные в настоящем документе, в отношении к определениям алкила и алкокси соответственно. Алкокси и алкильные фрагменты, каждый, могут быть замещены одним, двумя или тремя заместителями, описанными выше с точки зрения определения алкила.

Как используется в настоящем документе, термин "арилалкил" относится к алкильной группе, имеющей арильный заместитель. Связывание осуществляется через алкильную группу. Арильный фрагмент и алкильная группа имеют значения, определенные в настоящем документе в отношении к определениям арила и алкила соответственно. Арильный и алкильный фрагменты, каждый, могут быть замещены одним, двумя или тремя заместителями, где заместители имеют значения, определенные в настоящем документе при описании тех заместителей, которые могут присутствовать в отношении к арилу и алкилу соответственно. В предпочтительном варианте осуществления арилалкил представляет собой бензил, который является $Ph\text{-}CH_2$-.

Как используется в настоящем документе, термин "алкоксиарил" относится к арильной группе, имеющей алкокси заместитель. Связывание осуществляется через арильную группу. Алкокси фрагмент и арильный фрагмент имеют значения, определенные в настоящем документе в отношении к определениям алкокси и арила соответственно. Алкокси и арильный фрагменты, каждый, могут быть замещены одним, двумя или тремя заместителями, где заместители имеют значения, определенные в настоящем документе при описании тех заместителей, которые могут присутствовать в отношении к алкокси и арил соответственно.

Как используется в настоящем документе, термин "циклоалкиларил" относится к арильной группе, имеющей циклический алкильный заместитель. Связывание осуществляется через арильную группу. Циклоалкильный фрагмент и арильный фрагмент имеют значения, определенные в настоящем документе в отношении к определениям циклоалкила и арила соответственно. Циклоалкильный фрагмент и арильный фрагмент, каждый, необязательно могут быть замещены одним, двумя или тремя заместителями, как изложено в настоящем документе с точки зрения определений алкила и арила соответственно.

Как используется в настоящем документе, термин "арил" относится к моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) ароматическому карбоциклическому радикалу, имеющему одно, два, три, четыре, пять или шесть колец и имеющему указанное число атомов углерода (или, когда оно не указано, от 6 до 30, от 6 до 12 или от 6 до 11 атомов углерода). В предпочтительном варианте имеется одно, два или три кольца. Арильная группа необязательно может быть замещена одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместителями, описанными выше в отношении к необязательным заместителям, которые могут присутствовать на группе Ar. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения арильная группа включает:

ароматическое моноциклическое кольцо, содержащее 6 атомов углерода; ароматическую конденсированную бициклическую кольцевую систему, содержащую 7, 8, 9 или 10 атомов углерода; или ароматическую конденсированную трициклическую кольцевую систему, содержащую 10, 11, 12, 13 или 14 атомов углерода. Неограничивающие примеры арила включают фенил и нафтил. В предпочтительном варианте осуществления необязательный заместитель группы на арильной группе может быть независимо выбран из гидрокси, C_{1-6}ацила, C_{1-6}ацилокси, нитро, амино, карбоксила, циано, C_{1-6}алкиламино, диC_{1-6}алкиламино, тиола, хлора, брома, фтора, йода, SO_3H, SH и SR', где R' независимо выбран из той же группы, что и R_1 относительно формулы Ia.

Как используется в настоящем документе, термин "арил" относится к моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) ароматическому карбоциклическому радикалу, имеюще-

му одно, два, три, четыре, пять или шесть колец и имеющему указанное число атомов углерода (или, когда оно не указано, от 6 до 30, от 6 до 12 или от 6 до 11 атомов углерода). В предпочтительном варианте имеется одно, два или три кольца. Арильная группа необязательно может быть замещена одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместителями, описанными выше в отношении к необязательным заместителям, которые могут присутствовать на группе Ar. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения арильная группа включает:

ароматическое моноциклическое кольцо, содержащее 6 атомов углерода; ароматическую конденсированную бициклическую кольцевую систему, содержащую 7, 8, 9 или 10 атомов углерода; или ароматическую конденсированную трициклическую кольцевую систему, содержащую 10, 11, 12, 13 или 14 атомов углерода. Неограничивающие примеры арила включают фенил и нафтил. В предпочтительном варианте осуществления необязательный заместитель группы на арильной группе может быть независимо выбран из гидрокси, C_{1-6}ацила, C_{1-6}ацилокси, нитро, амино, карбоксила, циано, C_{1-6}алкиламино, диC_{1-6}алкиламино, тиола, хлора, брома, фтора, йода, SO_3H, SH и SR', где R' независимо выбран из той же группы, что и R_1 относительно формулы Ia.

Как используется в настоящем документе, термин "$_{5-30}$ гетероарил" относится к моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) ненасыщенному ароматическому гетероциклическому радикалу, имеющему от 5 до 30 членов кольца в виде одного, двух, трех, четырех, пяти или шести конденсированных колец и по меньшей мере одно кольцо, содержащее по меньшей мере один гетероатом, выбранный из группы, включающей N, O и S. В предпочтительном варианте осуществления имеются одно, два или три конденсированных кольца. Доступные атомы углерода и/или гетероатомы в кольцевой системе могут быть замещены в кольце одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместители, описанными выше в отношении к заместителям, которые могут присутствовать на группе Ar. Гетероарильные группы могут включать ароматическую моноциклическую кольцевую систему, содержащее шесть членов кольца, из которых по меньшей мере один член кольца представляет собой атом N, O или S, и которая необязательно содержит один, два или три дополнительных кольцевых атомов N; ароматическое моноциклическое кольцо, содержащее шесть членов, из которых один, два или три члена кольца представляют собой N атом; ароматическую бициклическую конденсированную кольцевую систему, содержащую девять членов, из которых по меньшей мере один член кольца представляет собой атом N, O или S и которая необязательно содержит один, два или три дополнительных кольцевых атомов N; или ароматическую бициклическую конденсированную кольцевую систему, содержащую десять членов кольца, из которых один, два или три члена кольца представляют собой атом N. Примеры включают, и этим не ограничиваются, пиридил и хинолил.

Как используется в настоящем документе, термин "$_{5-20}$ гетероциклил" относится к моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) насыщенному или частично ненасыщенному гетероциклическому радикалу, имеющему от 5 до 20 членов кольца, где по меньшей мере один член кольца выбран из группы, включающей N, O и S, и представленный в виде одного, двух, трех, четырех, пяти или шести конденсированных колец. В предпочтительном варианте осуществления радикал содержит один, два или три кольца. В предпочтительном варианте осуществления радикал содержит от 5 до 10 членов кольца. Гетероциклильные радикалы могут включать: моноциклическую кольцевую систему, содержащую пять членов кольца, из которых по меньшей мере один член кольца представляет собой атом N, O или S, и который необязательно содержит один дополнительный кольцевой атом O или один, два или три дополнительных кольцевых атома N; моноциклическую кольцевую систему, содержащую шесть членов кольца, из которых один, два или три членов кольца представляют собой атом N и который необязательно включает атом O; бициклическую конденсированную кольцевую систему, содержащую девять членов кольца, из которых по меньшей мере один член кольца представляет собой атом N, O или S и который необязательно содержит один, два или три дополнительных кольцевых атома N; или бициклическую конденсированную кольцевую систему, содержащую десять членов кольца, из которых один, два или три членов кольца представляют собой атом N. Примеры включают, и этим не ограничиваются, пирролинил, пирролидинил, 1,3-диоксоланил, имидазолинил, имидазолидинил, пиразолинил, пиразолидинил, пиперидинил, морфолинил или пиперазинил.

Доступные кольцевые атомы углерода и/или кольцевые гетероатомы "гетероциклильных" кольцевых систем, описанных выше, могут быть замещены одним, двумя, тремя, четырьмя или пятью заместители. Когда кольцо(а) замещено(ы) одним или несколькими гетероатомами, гетероатомные заместители выбраны из галогена (F, Cl, Br и I) и из кислорода, азота и серы, где кислород, азот или сера образуют часть фрагмента заместителя. Когда кольцо(а) замещено(ы) одним или несколькими гетероатомами, предпочтительно, что 1, 2, 3 или 4 гетероатомных заместителя выбраны из группы, включающей кислород, азот, серу и галоген. Примеры групп заместителей, которые могут присутствовать в гетероциклической кольцевой системе, могут быть независимо выбраны из гидрокси, C_{1-6}ацила, C_{1-6}ацилокси, нитро, амино, карбоксила, циано, C_{1-6}алкиламино, диC_{1-6}алкиламино, тиола, хлора, брома, фтора, йода, SO_3H, SH и SR', где R' независимо выбран из той же группы, что и R_1 относительно формулы Ia.

Как используется в настоящем документе, термин "ацил" относится к прямому или разветвленному, насыщенному или ненасыщенному, замещенному или незамещенному, моновалентному (за исключени-

ем случаев, когда из контекста следует иное) радикалу, который включает фрагмент -C(=O)-, где связывание осуществляется через атом -C- фрагмента -C(=O)-, и содержит указанное число атомов (или, когда оно не указано, ацильная группа имеет 1-6, или 1-4 или 1-2 атомов углерода, включая атом C фрагмента -C(=O)-), необязательно замещенному одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из группы, описанной выше в отношении к заместителям, которые могут присутствовать на R_1, R_2, R_3 и R_4. В качестве неограничивающих примеров, ацильные группы включают HC(=O)-, $CH_3C(=O)$-, $C_2H_5C(=O)$-, $C_3H_7C(=O)$-, $C_4H_9C(=O)$ - и $C_5H_{11}C(=O)$-.

Как используется в настоящем документе, термин "ацилокси" относится к прямому или разветвленному, насыщенному или ненасыщенному, замещенному или незамещенному моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) радикалу, который включает фрагмент -C(=O)-O-, где связывание осуществляется через атом -O-, и содержит указанное число атомов, включая атом C фрагмента -C(=O)-O- (или, когда оно не указано, ацилокси группа содержит 1-6, 1-4 или 1-2 атомов углерода, включая атом углерода фрагмента -C(=O)-O)-), необязательно замещенный одним, двумя или тремя заместителями, которые могут присутствовать на R_1, R_2, R_3 и R_4. В качестве неограничивающих примеров, ацилокси группы включают HC(=O)-O-, $CH_3C(=O)$-O-, $C_2H_5C(=O)$-O-, $C_3H_7C(=O)$-O-, $C_4H_9C(=O)$-O- и $C_5H_{11}C(=O)$=O-.

Как используется в настоящем документе, термин "C_{2-6}сложный эфир" относится к замещенному или незамещенному моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) радикалу, который содержит $R_{18}C(=O)$-O-R_{19}, где R_{18} выбран из группы, содержащей H и C_{1-4}алкил, и R_{19} выбран из группы, включающей C_{1-5}алкил, с учетом максимального общего количества атомов C, включая атом C фрагмента -C(=O)-O- из $R_{18}C(=O)$-O-R_{19}, равного шести. Связывание осуществляется через R_{18} или R_{19}, при этом H на соответствующей группа отсутствует, так что алкильная группа, посредством которой происходит связывание, является двухвалентной, или, когда R_{18} представляет собой H, через атом C фрагмента -C(=O)-O-. В предпочтительном варианте осуществления C_{2-6}сложный эфир, включая атом C фрагмента -C(=O)-O, имеет 2-5 атомов углерода. C_{2-6}сложный эфир необязательно может быть замещен одним, двумя или тремя заместителями, независимо выбранными из группы, описанной выше в отношении к заместителям, которые могут присутствовать на R_1, R_2, R_3 и R_4. В порядке неограничивающего примера, C_{2-6}сложный эфир может представлять собой -C_2H_4-C(=O)-O-C_2H_5, где фрагмент -C_2H_4- представляет собой -CH_2-CH_2-, и связывание осуществляется через фрагмент -C_2H_4-.

Как используется в настоящем документе, термин "альдегид" относится к прямому или разветвленному, насыщенному или ненасыщенному, замещенному или незамещенному моновалентному (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) радикалу, который содержит HC(=O)-R_{20}-, где связывание осуществляется через -R_{20}-, содержит указанное число атомов, включая атом C фрагмента е -C(=O)- (или, когда оно не указано, альдегидная группа имеет 1-6, 1-4 или 1-2 атомов углерода, включая атом C фрагмента -C(=O)-), необязательно замещенному одним, двумя или тремя заместителями, который может присутствовать на R_1, R_2, R_3 или R_4. В качестве неограничивающих примеров, альдегидные группы включают HC(=O)-CH_2-, HC (=O)-C_2H_4-, HC (=O)-C_3H_6-, HC (=O)-C_4H_8- и HC(=O)-C_5H_{10}-.

Как используется в настоящем документе, термин "фторалкил" относится к алкильной группе, где алкильная группа представляет собой прямой или разветвленный насыщенный моновалентный (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) циклический или ациклический углеводородный радикал, имеющий указанное число атомов углерода (или, когда оно не указано, ациклическая алкильная группа имеет 1-6 или 1-4 атомов углерода, и циклическая алкильная группа имеет 3-6 атомов углерода), замещенные от 1 до 6 атомами F.

Как используется в настоящем документе, термин "фторалкенил" относится к алкенильной группе, где алкенильная группа представляет собой прямой или разветвленный ненасыщенный моновалентный (за исключением случаев, когда из контекста следует иное) ациклический или циклический углеводородный радикал, имеющий одну или несколько двойных связей C=C, и содержащий указанное число атомов углерода (или, когда оно не указано, ациклическая алкенильная группа имеет 2-6 или 2-4 атомов углерода, и циклическая алкенильная группа имеет 4-6 атомов углерода), замещенные от 1 до 6 атомами F.

Способ получения соединения формулы Ia или Ib предпочтительно осуществляют в присутствии подходящего растворителя.

Подходящие растворители включают углеводородные растворители, такие как бензол и толуол; растворители типа простых эфиров, такие как диэтиловый эфир, тетрагидрофуран, дифениловый эфир, анизол и диметоксибензол; галогенированные углеводородные растворители, такие как метиленхлорид, хлороформ и хлорбензол; растворители кетонного типа, такие как ацетон, метилэтилкетон и метилизобутилкетон; растворители спиртового типа, такие как метанол, этанол, пропанол, изопропанол, н-бутиловый спирт и трет-бутиловый спирт; растворители типа нитрила, такие как ацетонитрил, пропионитрил и бензонитрил; растворители сложноэфирного типа, такие как этилацетат и бутилацетат; растворители типа карбонатов, такие как этиленкарбонат и пропиленкарбонат; и тому подобное. Они могут быть использованы отдельно, либо два или более из них могут быть использованы в смеси.

Предпочтительно в способе по настоящему изобретению используется инертный растворитель.

Термин "инертный растворитель" означает растворитель, инертный в условиях реакции, в связи с которыми он описан, включая, например, бензол, толуол, ацетонитрил, тетрагидрофуран, диметилформамид, хлороформ, метиленхлорид (или дихлорметан), диэтиловый эфир, этилацетат, ацетон, метилэтилкетон, метанол, этанол, пропанол, изопропанол, трет-бутанол, диоксан, пиридин и тому подобное. Тетрагидрофуран является особенно предпочтительным.

Предпочтительно способ по настоящему изобретению осуществляют в, по существу, сухих условиях.

Фосфорохлоридат может быть получен исходя из арилокси фосфородихлоидата и соответствующим образом защищенного аминокислотного производного. Альтернативно может быть применен фосфатный синтез с использованием подходящих конденсирующих агентов.

Предпочтительно способ получения соединения формулы Ib может включать стадию защиты свободной OH группы на нуклеозиде, отличающейся от той, к которой присоединен фосфорамидат. Например, осуществление взаимодействия 3'-дезоксинуклеозида с желаемым фосфорохлоридатом в присутствии трет-BuMgCl позволяет получить 2'-фосфорамидат.

Взаимодействие 3'-дезоксинуклеозида с $POCl_3$, затем с солью $N^+R_5R_6H_2$ позволяет получить соединения, где каждый из U и V представляет собой $-NR_5R_6$. Подходящие соли включают хлорид, тозилат, сульфонат и сложноэфирные соли, такие как 4-метилбензолсульфонат. Последующее добавление основания, такого как диизопропилэтиламин, может способствовать осуществлению способа.

Как используется в настоящем документе, термин "стереоизомер" определяет все возможные соединения, состоящие из тех же атомов, связанных одной и той же последовательностью связей, но имеющие различные трехмерные структуры, которыми могут обладать соединения по настоящему изобретению.

Когда соединения в соответствии с данным изобретением имеют, по крайней мере, один хиральный центр, они могут, соответственно, существовать в виде энантиомеров. Когда соединения обладают двумя или более хиральными центрами, они могут, кроме того, быть в виде диастереоизомеров. Когда способ получения соединений в соответствии с изобретением приводит к смеси стереоизомеров, эти изомеры могут быть разделены общепринятыми методами, такими как препаративная хроматография. Соединения могут быть получены в стереохимически смешанном виде, или отдельные энантиомеры могут быть получены стандартными методами, известными специалистам, например путем энантиоспецифического синтеза или разделения, образования диастереоизомерных пар путем получения соли с оптически активной кислотой с последующей фракционной кристаллизацией и выделения свободного основания. Соединения также могут быть разделены путем образования диастереоизомерных сложных эфиров или амидов с последующим хроматографическим разделением и удалением хирального вспомогательного вещества. Альтернативно, соединения могут быть разделены с использованием хиральной колоночной ВЭЖХ. Следует понимать, что все такие изомеры и их смеси охватываются объемом настоящего изобретения.

Кроме того, следует понимать, что фосфатный центр является хиральным в соединениях по настоящему изобретению, и соединения могут существовать в виде диастереоизомеров R_P и S_P. Соединение может представлять собой смесь R_p и S_p или являться одним чистым диастереоизомером. В предпочтительном варианте осуществления соединение представляет собой, по существу, чистый диастереоизомер либо R_P, либо S_P. Под "по существу, чистым отдельным диастереоизомером" понимают, что соединение состоит на 98% или более из либо диастереоизомера R_P, либо диастереоизомера S_P. В другом варианте осуществления оно может быть смесью 1:1 диастереоизомеров R_P и S_P. Альтернативно, соединение может содержать смесь диастереоизомеров R_P и S_P при соотношении диастереоизомеров R_P и S_P от 1:90 до 90:1, от 1:50 до 50:1, от 1:20 до 20:1, от 1:15 до 15:1, от 1:10 до 10:1, от 1:9 до 9:1, от 1:8 до 8:1, от 1:7 до 7:1, от 1:6 до 6:1, от 1:5 до 5:1, от 1:4 до 4:1, от 1:3 до 3:1 или от 1:2 до 2:1. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения соединение по изобретению может содержать смесь диастереоизомеров R_p и S_p выше чем 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:15, 1:20, 1:50, 1:90, 1:95 или 1:99 или наоборот.

Термин "сольват" означает соединение Ia или формулы Ib, описанные выше, где молекулы подходящего растворителя встроены в кристаллическую решетку. Подходящий растворитель является физиологически переносимым при вводимой дозировке. Примерами подходящих растворителей являются этанол, вода и тому подобное. Когда растворителем является вода, молекула упоминается как гидрат.

Соединения по настоящему изобретению также могут быть представлены в виде фармацевтически приемлемых солей. Для применения в медицине соли соединений по настоящему изобретению указываются как "фармацевтически приемлемые соли". Одобренные FDA фармацевтически приемлемые формы солей (Ref. International J. Pharm. 1986, 33, 201-217; J. Pharm. Sci., 1977, Jan, 66 (1)) включают фармацевтически приемлемые кислотные/анионные или основные/катионные соли.

Фармацевтически приемлемые кислотные/анионные соли включают, и этим не ограничиваются, ацетат, бензолсульфонат, бензоат, бикарбонат, битартрат, бромид, эдетат кальция, камзилат, карбонат, хлорид, цитрат, дигидрохлорид, эдетат, эдизилат, эстрал, эсилат, фумарат, глицептат, глюконат, глутамат, гликолиларсанилат, гексилрезорцинат, гидрабамин, гидробромид, гидроксинафтоат, йодид, изетионат, лактат, малеат, манделат, мезилат, метилбромид, метилнитрат, метилсульфат, мукат, напсилат, нитрат, памоат, пантотенат, фосфат, дифосфат, полигалактуронат, салицилат, стеарат, субацетат, сукцинат, сульфат, таннат, тартрат, теоглат, тозилат и триэтиодид.

Фармацевтически приемлемые основные/катионные соли включают, и этим не ограничиваются со-

ли алюминия, бензатина, кальция, хлорпрокаина, холина, диэтаноламина, этилендиамина, лития, магния, калия, прокаина, натрия и цинка.

Настоящее изобретение включает в свой объем пролекарства соединений по настоящему изобретению. Обычно такие пролекарства являются функциональными производными соединений, которые легко преобразуются in vivo в требуемое соединение. Таким образом, в способах лечения по настоящему изобретению термин "введение" будет охватывать лечение различных описанных нарушений с использованием соединения, конкретно описанного, или с использованием соединения, которое может быть конкретно не описано, но которое преобразуются in vivo в указанное соединение после введения субъекту. Обычные способы выбора и получения подходящих пролекарственных производных описаны, например, в "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Фармацевтически приемлемые сложноэфирные производные, в которых одна или несколько свободных гидрокси групп этерифицированы в виде фармацевтически приемлемого сложного эфира, являются конкретными примерами пролекарственных сложных эфиров, которые могут быть преобразованы путем сольволиза в физиологических условиях в соединения по настоящему изобретению, имеющие свободные гидрокси группы.

Фармацевтические композиции для применения в соответствии с настоящим изобретением могут быть составлены обычным способом, используя один или несколько физиологически приемлемых носителей, содержащих вспомогательные вещества и вспомогательные средства, которые облегчают переработку активных соединений в препараты, которые могут быть использованы фармацевтически. Эти фармацевтические композиции могут быть изготовлены способом, который сам по себе известен, например известными обычными способами смешивания, растворения, гранулирования, дражирования, измельчения, эмульгирования, инкапсулирования, улавливания или лиофилизации. Надлежащие препараты зависят от выбранного пути введения.

Соединение или фармацевтическая композиция в соответствии с настоящее изобретение могут быть введены пациенту, который может представляет собой homo sapiens или животное, с помощью каких-либо подходящих средств.

Лекарственные средства, используемые в настоящем изобретении, могут быть введены пероральным или парентеральным путем, внутривенным, внутримышечным, внутрибрюшинным, подкожным, трансдермальным, воздушным (аэрозольным), ректальным, вагинальным и местным (включая буккальное и сублингвальное) введением.

Для перорального введения соединения по изобретению обычно предоставляются в виде таблеток или капсул, в виде порошка или гранул, или в виде водного раствора или суспензии.

Таблетки для перорального применения могут содержать активный ингредиент, смешанный с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, такими как инертные разбавители, разрыхляющие агенты, связующие агенты, смазывающие агенты, подслащивающие агенты, ароматизаторы, красители и консерванты. Подходящие инертные разбавители включают карбонат натрия и кальция, фосфат натрия и кальция и лактозу, при этом кукурузный крахмал и альгиновая кислота являются подходящими разрыхляющими агентами. Связующие агенты могут включать крахмал и желатин, при этом смазывающий агент, если он присутствует, обычно представляет собой стеарат магния, стеариновую кислоту или тальк. При желании таблетки могут быть покрыты материалом, таким как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, для замедления абсорбции в желудочно-кишечном тракте.

Таблетки для перорального применения могут содержать активный ингредиент, смешанный с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, такими как инертные разбавители, разрыхляющие агенты, связующие агенты, смазывающие агенты, подслащивающие агенты, ароматизаторы, красители и консерванты. Подходящие инертные разбавители включают карбонат натрия и кальция, фосфат натрия и кальция и лактозу, при этом кукурузный крахмал и альгиновая кислота являются подходящими разрыхляющими агентами. Связующие агенты могут включать крахмал и желатин, при этом смазывающий агент, если он присутствует, обычно представляет собой стеарат магния, стеариновую кислоту или тальк. При желании таблетки могут быть покрыты материалом, таким как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, для замедления абсорбции в желудочно-кишечном тракте.

Капсулы для перорального применения включают твердые желатиновые капсулы, в которых который активный ингредиент смешан с твердым разбавителем, и мягкие желатиновые капсулы, в которых активный ингредиент смешан с водой или маслом, таким как арахисовое масло, жидкий парафин или оливковое масло.

Препараты для ректального введения могут быть представлены в виде суппозиториев с подходящей основой, содержащей, например, масло какао или салицилат.

Препараты, подходящие для вагинального введения, могут быть представлены в виде пессариев, тампонов, кремов, гелей, паст, пен или аэрозольных препаратов, содержащих в дополнение к активному ингредиенту такие носители, которые известны в данной области как подходящие.

Для внутримышечного, внутрибрюшинного, подкожного и внутривенного введения соединения по изобретению, как правило, предоставляются в виде стерильных водных растворов или суспензий, забуферированных до подходящих pH и изотоничности. Подходящие водные растворители для лекарствен-

ных средств включают раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Водные суспензии в соответствии с изобретением могут содержать суспендирующие агенты, такие как производные целлюлозы, альгинат натрия, поливинилпирролидон и трагакант камеди, и смачивающий агент, такой как лецитин. Подходящие консерванты для водных суспензий включают этил и н-пропил п-гидроксибензоат.

Соединения по изобретению также могут быть представлены в виде липосомных препаратов.

Обычно подходящая доза будет находиться в диапазоне от 0,1 до 300 мг на килограмм массы тела реципиента в сутки. Более подходящая доза может быть в диапазоне от 0,5 до 150 мг на килограмм массы тела реципиента в сутки, в диапазоне от 0 до от 5 до 100 мг на килограмм массы тела реципиента в сутки, в пределах 1-50 мг на килограмм массы тела реципиента в день или в пределах от 1 до 10 мг на килограмм массы тела реципиента в день. Подходящая более низкая доза может составлять 0,5 мг на килограмм массы тела реципиента в день или 1 мг на килограмм массы тела реципиента в день. Альтернативно, подходящая доза может быть в диапазоне от 1 до 100 мг на $м^2$ площади поверхности тела реципиента в день или от 5 до 50 мг на $м^2$ площади поверхности тела реципиента в день. Подходящие дозы могут составлять 6, 12, 24 или 48 мг на $м^2$ площади поверхности тела реципиента в сутки. Желаемая доза может быть представлена и введена в виде разовой суточной дозы или в виде двух, трех, четырех, пяти или шести или более субдоз, вводимых через соответствующие интервалы в течение дня. Дозы могут быть введены в виде стандартных дозированных форм, например, содержащих от 10 до 1500 мг, предпочтительно от 20 до 1000 мг, и наиболее предпочтительно от 50 до 700 мг активного ингредиента на стандартную лекарственную форму. Общая суточная доза составляет, соответственно, 1000-3000 мг, независимо от того, принимается ли она в виде разовой дозы или в виде субдоз с интервалом в течение дня.

Раковые стволовые клетки.

Раковые стволовые клетки, которые иногда называют "опухоль-инициирующими клетками", хорошо известны специалистам в данной области. Как используется в настоящем описании, термин "раковая стволовая клетка" следует понимать в соответствии с его широким значением, то есть как клетку, которая обладает способностью к самообновлению путем асимметричного деления, тем самым инициируя образование опухолей, а также при дифференции дает более зрелые нестволовые клетки потомства.

Раковые стволовые клетки играют важную роль в развитии, прогрессирования, рецидиве и распространении злокачественных новообразований. Соответственно вывод о том, что соединения по настоящему изобретению могут таргетировать раковые стволовые клетки, и, таким образом, уменьшать их количество, дает терапевтические возможности для профилактики или лечения такой активности.

Как обсуждается более подробно в других разделах настоящего описания, раковые стволовые клетки обнаружены при предраковых состояниях, наличие которых, как полагают, способствует развитию этих состояний в злокачественные новообразования.

Соответственно способы лечения и медицинского применения изобретения, в которых для таргетирования раковых стволовых клеток используют соединение по настоящему изобретению, могут быть использованы для уменьшения числа раковых стволовых клеток при предраковых состояниях (таких как миелодиспластический синдром или другие состояния, рассматриваемые в других разделах описания) и, таким образом, для предотвращения прогрессирования таких предраковых состояний в злокачественное новообразование.

Как указано выше, асимметричное клеточное деление раковых стволовых клеток приводит к дифференцированным раковым нестволовым клеткам. Таким образом, раковые стволовые клетки отвечают за формирование и поддержание основной массы опухоли.

Накопление таких нестволовых раковых клеток играет важную роль в прогрессировании злокачественных новообразований. Таргетирование соединением по настоящему изобретению раковых стволовых клеток может уменьшать количество раковых стволовых клеток, что в свою очередь, уменьшает количество нестволовых раковых клеток потомства. Таким образом, способы лечения и медицинского применения соединения по настоящему изобретению в соответствии с настоящим изобретением эффективны при лечении злокачественного новообразования за счет предотвращения прогрессирования злокачественного новообразования. Такие варианты осуществления описаны более подробно в других разделах настоящего описания.

Раковые стволовые клетки также способны действовать как резервуар раковых клеток, что может вызывать рецидив злокачественного новообразования после ремиссии. Даже в том случае, когда большинство раковых клеток пациента были уничтожены (например, при хирургическом вмешательстве, лучевой терапии или химиотерапии, либо по отдельности, либо в сочетании) и не наблюдалось признаков наличия рака, сохраняющееся наличие раковых стволовых клеток может привести к образованию рецидива злокачественного новообразования с течением времени.

Таргетирование соединением по настоящему изобретению раковых стволовых клеток предлагает новый способ, благодаря которому число раковых стволовых клеток может быть уменьшено, и раковые стволовые клетки уничтожены. Соответственно и как подробно описано в других разделах настоящего описания, в соответствующих вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способам и медицинскому применению, при которых соединение по настоящему изобретению предотвращает или задерживает рецидив злокачественного новообразования.

Кроме того, перемещение раковых стволовых клеток из сайта злокачественного новообразования в другое место организма может способствовать распространению злокачественного новообразования, например, давая начало метастазам. Следовательно, способность соединения по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки, таким образом, предоставляет новые способы лечения и медицинского применения для профилактики или лечения распространения злокачественного новообразования.

Кроме своей биологической активности, раковые стволовые клетки могут быть идентифицированы по экспрессии некоторых характерных маркеров клеточной поверхности. Раковые стволовые клетки, идентифицированные при гематологических злокачественных опухолях, как правило, представляют собой $CD34^+$, при этом в качестве маркеров раковых стволовых клеток в солидных опухолях были идентифицированы $CD44^+$, $CD133^+$ и $CD90^+$. В следующей далее таблице приведены примеры известных поверхностных фенотипов раковых стволовых клеток. Следует ожидать, что соединение по настоящему изобретению может таргетировать каждую из этих форм раковых стволовых клеток в соответствии с настоящим изобретением, и поэтому способы или применение, в которых используются соединения по настоящему изобретению, могут быть использованы для профилактики или лечения злокачественных новообразований, связанных с раковыми стволовыми клетками, экспрессирующими любой из этих наборов маркеров.

Таблица I

Тип опухоли	**Известные маркеры клеточной поверхности раковых стволовых клеток**
Солидные опухоли	
Грудь	$CD44^+/CD24^{-/низкая}$ /линия$^-$ /ESA^+
ЦНС	$CD133^+$
Ободочная кишка	$CD133^+$
Ободочная кишка	$ESA^{высокая}/CD44^+$ /линия$^-$ /($CD166^+$)
Саркома Юинга	$CD133^+$
Голова и шея	$CD44^+$/линия$^-$
Меланома	$ABCB5^+$
Печень	$CD90^+/CD45^-/(CD44^+)$
Холангиокарцинома	$CD44^+/GLI1^+$ (глиома-ассоциированный онкоген гомолог-1)
Яичники	$CD44^+/CD117^+$
Поджелудочная железа	$CD44^+/CD24^+/ESA^+$
Поджелудочная железа	$CD133^+$
Немелкоклеточный рак легких	$CD44^+/Ber\text{-}EP4^+$
Рак мочевого пузыря	$CD44^+/ALDH1A1^+$
Гематологические опухоли	
Острый миелоидный лейкоз	$Lin^-/CD34^+/CD38^-/CD123^+$
В-клеточный острый лимфобластный лейкоз	$CD34^+/CD10^-$ или $CD34^+/CD19^-$
В-клеточный острый лимфобластный лейкоз	$CD34^+/CD38^-/CD19^+$
Множественная миелома	$CD34^-/CD138^-$
Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз	$CD34^+/CD4^-$ или $CD34^+/CD7^-$

Данные, представленные в примерах, показывают, что соединение по настоящему изобретению способно таргетировать раковые стволовые клетки линии лейкозных клеток, конкретно, раковые стволовые клетки, присутствующие в линии клеток KG1a острого миелоидного лейкоза. В этой клеточной линии обнаружен незначительный компартмент стволовых клеток с отличительным иммунофенотипом ($Lin^-/CD34^+/CD38^-/CD123^+$), который таргетируется соединением по настоящему изобретению. Соответственно способы лечения или медицинского применения соединения по настоящему изобретению в соответствии с настоящим изобретением могут быть использованы для профилактики или лечения лейкозов и других видов злокачественных новообразований, связанных с раковыми стволовыми клетками, экспрессирующими эти характерные маркеры.

Настоящее изобретение также относится к способам и медицинскому применению, в которых пациенты отобраны для профилактики или лечения злокачественного новообразования с использованием соединения по изобретению на основе идентификации наличия раковых стволовых клеток в биологическом образце, характерном для пациента, страдающего злокачественным новообразованием или имеющим предраковое состояние. Маркеры, указанные выше, обеспечивают подходящие примеры, которые

могут быть использованы для идентификации наличия раковых стволовых клеток в соответствии с такими вариантами осуществления изобретения. Подходящие способы, с помощью которых может быть исследована экспрессия этих маркеров в биологическом образце, рассматриваются далее в настоящем описании, биологическом образце, характерном для пациента, страдающего злокачественным новообразованием или имеющим предраковое состояние.

Таргетирование раковых стволовых клеток.

Первой особенностью настоящего изобретения является тот факт, что соединения по настоящему изобретению могут быть использованы для таргетирования раковых стволовых клеток. Способность соединений по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки проиллюстрирована в примерах, описанных в настоящем описании.

Как можно видеть, если соединение по настоящему изобретению попадает в популяцию злокачественных клеток, содержащих раковые стволовые клетки, то оно таргетирует присутствующие раковые стволовые клетки, что приводит к уменьшению общего числа злокачественных клеток. Как уже обсуждалось в других разделах настоящего описания, некоторые соединения по настоящему изобретению таргетируют раковые стволовые клетки, а не массу опухолевых клеток, и активность таких соединений может не только уменьшить общее количество присутствующих злокачественных клеток, но и уменьшить долю общего числа злокачественных клеток, которые демонстрируют фенотипические маркеры раковых стволовых клеток.

Предполагается, что соединения по настоящему изобретению проникают в злокачественные клетки и встраиваются в нуклеиновые кислоты (РНК и/или ДНК) этих клеток. Не привязываясь к какой-либо теории, считается, что эффективность, особенно противораковая эффективность, проявляемая соединениями по настоящему изобретению, указывает на то, что соединения по настоящему изобретению фосфорилирируются до трифосфата кордицепина или производного кордицептина (например, 2-фторкордицептин или 2-Cl-кордицептин), и предполагают, что ферментативное расщепление внутри клетки преобразовывает соединение по изобретению непосредственно в 8-хлораденозинмонофосфат перед фосфорилированием в трифосфат.

Также полагают, что соединения по настоящему изобретению обладают повышенной проницаемостью через клеточную мембрану (по сравнению с кордицепином), и это вносит свой вклад в повышенную противораковую активность соединений по изобретению по сравнению с исходным соединением, из которого они получены.

Не желая быть связанными какой-либо гипотезой, авторы изобретения полагают, что снижение числа стволовых раковых клеток возникает в результате нацеленного уничтожения раковых стволовых клеток в популяции злокачественных клеток. Таким образом, соединения по настоящему изобретению способны вызвать смерть раковых стволовых клеток. Кроме того, результаты, приведенные в настоящем описании, показывают, что некоторые соединения по настоящему изобретению, по всей видимости, уничтожают преимущественно раковые стволовые клетки по сравнению с раковыми нестволовыми клетками, вызывая тем самым не только гибель раковых стволовых клеток, но и снижение доли раковых стволовых клеток в общей популяции злокачественных клеток.

Хотя авторы настоящего изобретения полагают, что соединения по настоящему изобретению, которые предпочтительно таргетируют раковые стволовые клетки, предпочтительно уничтожают раковые стволовые клетки по сравнению с нестволовыми раковыми клетками, в снижение доли раковых стволовых клеток также могут вносить свой вклад другие механизмы, обусловленные соединением по настоящему изобретению, таргетирующим эти клетки.

Просто в качестве примера, лечение соединением по изобретению может привести к повышению дифференциации раковых стволовых клеток, тем самым уменьшая числа раковых стволовых клеток, а также их долю от общего числа раковых клеток, представленную раковыми стволовыми клетками. Альтернативно, соединение по настоящему изобретению может привести к потере раковыми стволовыми клетками фенотипа стволовой клетки, например к потере способности к самообновлению, тем самым уменьшая количество раковых стволовых клеток.

Указания на таргетирование раковых стволовых клеток в настоящем описании следует интерпретировать соответствующим образом. Для целей настоящего описания "таргетирование" раковых стволовых клеток может пониматься как включающее любой механизм, посредством которого соединение по настоящему изобретению уменьшает количество присутствующих в клеточной популяции раковых стволовых клеток, как in vitro, так и in vivo. В частности, таргетирование раковых стволовых клеток может пониматься как включающее преимущественно уменьшение числа раковых стволовых клеток по сравнению с другими типами клеток, в частности по сравнению с нестволовыми раковыми клетками. Указания на таргетирование в настоящем описании могут пониматься как включающие уничтожение, и, возможно, преимущественно уничтожение, раковых стволовых клеток по сравнению с нестволовыми раковыми клетками.

Профилактика и лечение злокачественного новообразования.

Изобретение относится к медицинскому применению и способам лечения, в которых соединение по настоящему изобретению используют для профилактики или лечения злокачественного новообразования. В контексте настоящего изобретения термин "профилактика" злокачественного новообразования

следует рассматривать как относящийся к профилактическому применению соединения по настоящему изобретению, используемого до развития злокачественного новообразования, и с целью прекращения развития злокачественного новообразования. С другой стороны, под "лечением" злокачественного новообразования следует понимать применение соединения по настоящему изобретению после того, как злокачественное новообразование возникло, для уменьшения злокачественного новообразования за счет замедления или остановки пролиферации злокачественных клеток и опухолевого роста. Предпочтительно лечение злокачественного новообразования может вызвать частичное или полное уменьшение числа злокачественных клеток и размера опухоли. Эффективное лечение злокачественного новообразования может привести к тому, что болезнь либо "стабилизируется", либо "реагирует" в соответствии с руководством RECIST (критерии оценки ответа солидных опухолей).

Как описано более подробно далее, профилактика злокачественного новообразования в соответствии с настоящим изобретением может быть особенно эффективна у пациентов с предраковым состоянием, при котором имеется повышенная вероятность развития злокачественного новообразования.

Профилактика злокачественного новообразования.

Профилактика злокачественного новообразования в соответствии с настоящим изобретением может быть осуществлена путем лечения предракового состояния, используя соединение по настоящему изобретению в соответствии с различными аспектами или вариантами осуществления настоящего изобретения, как описано в настоящем документе.

В частности, профилактика рака в контексте настоящего изобретения может быть достигнута способами или благодаря медицинскому применению в соответствии с настоящим изобретением, при которых пациент с предраковым соединением получает соединение по настоящему изобретению. Способы лечения или медицинского применения в соответствии с этим вариантом осуществления могут предотвратить развитие обработанных предраковых состояний в злокачественное новообразование, тем самым обеспечивая эффективную профилактику злокачественного новообразования.

Указания на профилактику злокачественного новообразования в контексте настоящего изобретения могут также включать другое профилактическое применение соединения по настоящему изобретению. Например, на способность соединения по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки и тем самым предотвращать развитие злокачественного новообразования, и/или предотвращать прогрессирование злокачественного новообразования, и/или предотвращать рецидив злокачественного новообразования, и/или предотвращать распространение злокачественного новообразования.

Предраковые состояния.

Злокачественному новообразованию зачастую предшествует развитие предракового состояния, которое само по себе не является злокачественным, но связано с повышенным риском развития злокачественного новообразования. Накопление генетических или эпигенетических изменений может привести к развитию у ранее нормальных клеток фенотипа стволовых раковых клеток. Соответственно раковые стволовые клетки также могут присутствовать при таких предраковых состояниях, а также при злокачественном новообразовании.

Считается, что присутствие раковых стволовых клеток при предраковых состояниях способствует развитию этих состояний в злокачественное новообразование. Способы и медицинское применение по настоящему изобретению могут быть использованы для таргетирования раковых стволовых клеток, присутствующих при предраковых состоящих, и, таким образом, для лечения таких состояний. Следует иметь в виду, что новый и неожиданный вывод о том, что соединения по изобретению таргетируют раковые стволовые клетки, означает, что лечение предраковых состояний такими соединениями может быть использовано для предотвращения развития обработанных состояний в злокачественное новообразование. Это обеспечивает путь, при котором соединение по настоящему изобретению может быть использовано с медицинской точки зрения для профилактики злокачественного новообразования, как это рассматривается в настоящем описании.

Примеры предраковых состояний, лечение которых можно осуществлять в соответствии с настоящим изобретением, включают, но ими не ограничиваются, состояния, которые выбраны из группы, включающей: старческий кератоз, пищевод Баррета, атрофический гастрит, врожденный дискератоз, сидеропеническую дисфагию, красный плоский лишай, оральный субмукозный фиброз, солнечный эластоз, дисплазию шейки матки, лейкоплакию, эритроплакию, моноклональную гаммапатию неизвестного генеза (MGUS), моноклональный В-клеточный лимфоцитоз (MBL), миелодиспластические синдромы, а также предраковые состояния желудка, такие как атрофический гастрит, язва желудка, пернициозная анемия, желудочная культя, полипы желудка и болезнь Менетрие. Из перечисленных предраковых состояний желудка особенно повышенный риск развития злокачественного новообразования возможно имеют атрофический гастрит, пернициозная анемия, желудочная культя, а также некоторые виды полипов желудка.

Предраковые состояния часто принимают форму поражений, содержащих диспластические или гиперпластические клетки. Соответственно наличие дисплазии или гиперплазии, альтернативно или дополнительно к наличию клеток с экспрессированными маркерами или фенотипом, характерным для раковых стволовых клеток, может использоваться для идентификации предраковых состояний.

Выраженность дисплазии может изменяться в ряду разных предраковых состояний или при разви-

тии одного предракового состояния с течением времени. Обычно, чем позднее стадия дисплазии, связанной с предраковым состоянием, тем больше вероятность того, что предраковое состояние будет развиваться в злокачественное новообразование. Дисплазию обычно классифицирует как легкую, умеренную или тяжелую. Тяжелая дисплазия обычно развивается в злокачественное новообразование при отсутствии лечения. Соответственно способы лечения или медицинского применения, использующие соединение по настоящему изобретению, таким образом, могут быть использованы для лечения пациента с предраковым состоянием, связанным с тяжелой дисплазией.

В соответствующем варианте осуществления настоящего изобретения соединение по изобретению используют для лечения пациента с тяжелой дисплазией шейки матки. Тяжелая дисплазия шейки матки может быть диагностирована с помощью цервикального мазка. В другом варианте осуществления настоящего изобретения соединение по настоящему изобретению используют для лечения тяжелой дисплазии пищевода ("пищевод Баррета"). Тяжелая дисплазия пищевода может быть диагностирована после биопсии ткани.

Согласно полученной недавно информации, пре-злокачественные опухоли также могут быть идентифицированы посредством обнаружения соматических мутаций в клетках индивидов, у которых не известно наличие злокачественного новообразования. В частности, сообщалось, что возрастной клональный гемопоэз является обычным предраковым состоянием, которое связано с повышенной общей смертностью и повышенным риском кардиометаболического заболевания. Большинство мутаций, обнаруженных в клетках крови, возникают в трех генах: DNMT3A, TET2 и ASXL1. Соответственно пациенты, для которых будет эффективно применение соединения по изобретению для таргетирования раковых стволовых клеток, и, таким образом, для лечения предраковых состояний, могут быть идентифицированы при анализе образца, содержащего клетки крови, на наличие генетических мутаций, указывающих на предраковое состояние, по крайней мере, одной из следующих: DNMT3A и/или TET2 и/или ASXL1.

Предраковые состояния, при которых может быть эффективным лечение соединением по изобретению путем таргетирования раковых стволовых клеток в соответствии с изобретением, также могут быть идентифицированы путем определения наличия раковых стволовых клеток со ссылкой на любую из методик, основанных на экспрессии маркеров, характерных для раковых стволовых клеток или фенотипа раковых стволовых клеток, как описано в других разделах в описания.

Лечение злокачественного новообразования.

Специалисту в данной области будет понятно, что существует много параметров, по которым может быть оценено "лечение" злокачественного новообразования. Просто в качестве примера, любое уменьшение или предотвращение развития злокачественного новообразования, прогрессирования злокачественного новообразования, рецидива злокачественного новообразования или распространения злокачественного новообразования следует считать указанием на эффективное лечение злокачественного новообразования.

В некоторых вариантах осуществления соединение по изобретению может использоваться: для уменьшения доли раковых стволовых клеток в популяции злокачественных клеток; и/или для ингибирования роста опухоли; и/или для уменьшения онкогенности; и/или для профилактики или лечения первичного злокачественного новообразования; и/или для предотвращения или лечения рецидивирующего злокачественного новообразования; и/или для предотвращения или лечения метастатического или вторичного злокачественного новообразования; и/или для лечения, предотвращения или ингибирования метастазов и рецидивов; и/или для лечения или предотвращения не поддающегося лечению злокачественного новообразования.

Возможность уменьшения размера опухоли, а также поддержание уменьшенного размера опухоли в период/после периода проведения лечения, при лечении злокачественного новообразования, используя соединение по изобретению, является исключительно важным указанием на эффективность лечения злокачественного новообразования. Как указано в примерах, лечение или медицинское применение согласно настоящему изобретению неожиданно оказалось эффективным в этом отношении, даже на моделях с использованием клеток, представляющих рецидивирующий или рефрактерный виды рака, которые ранее были устойчивы к лечению другими видами терапевтических средств.

Данные, представленные в примерах, показывают, что лечение соединением по настоящему изобретению уменьшает долю раковых стволовых клеток в популяции раковых клеток. Характерная биологическая активность или маркеры клеточной поверхности, по которым могут быть идентифицированы раковые стволовые клетки, описаны в других разделах настоящего описания. В подходящем варианте осуществления лечение злокачественного новообразования согласно настоящему изобретению может привести к сокращению доли раковых стволовых клеток, присутствующих у пациента, страдающего злокачественным новообразованием по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или по меньшей мере на 40%. В подходящих вариантах осуществления лечение злокачественного новообразования согласно настоящему изобретению может привести к сокращению доли раковых стволовых клеток, присутствующих у пациента, страдающего злокачественным новообразованием, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или, по меньшей мере на 80%. Лечение злокачественного новообразования согласно настоящему изобретению может привести к сокраще-

нию доли раковых стволовых клеток, присутствующих у пациента, страдающего злокачественным новообразованием, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к сокращению доли раковых стволовых клеток, присутствующих в злокачественном новообразовании пациента, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99%, или даже на 100% (таким образом, раковых стволовых клеток, по существу, не остается).

Асимметричное деление раковых стволовых клеток способствует росту опухолей. Лечение злокачественного новообразования соединением по изобретению в соответствии с настоящим изобретением может привести к ингибированию роста опухоли, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или, по меньшей мере на 40%. Таким образом, лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к ингибированию роста опухоли, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к ингибированию роста опухоли, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или, по меньшей мере на 95% у пациента, получающего лечение. Действительно, лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к ингибированию роста опухоли, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или даже на 100% обрабатываемой опухоли.

Рост опухоли может быть оценен любым подходящим способом, при котором изменение размера опухоли оценивается в течение времени. Применим вариант, когда размер опухоли до лечения злокачественного новообразования может быть сопоставлен с размером той же опухоли в процессе или после лечения злокачественного новообразования. Известен целый ряд путей, при которых может быть оценен размер опухоли. Например, размер опухоли может быть оценен путем визуализации опухоли in situ у пациента. Подходящие методы, такие как методы визуализации, могут позволить определить объем опухоли и оценить изменения в объеме опухоли.

Как показывают результаты, приведенные в примерах настоящего описания, способы лечения и медицинское применение соединения по настоящему изобретению способны не только задерживать рост опухоли, но на самом деле способны привести к уменьшению объема опухоли у пациентов, страдающих злокачественным новообразованием, включая пациентов с рецидивирующим или рефрактерным злокачественным новообразованием. Соответствующее лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к снижению объема опухоли, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или по меньшей мере на 40%. В соответствующих вариантах осуществления изобретения лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к снижению объема опухоли, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение злокачественного новообразования рака в соответствии с изобретением может привести к уменьшению объема опухоли, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к уменьшению объема опухоли, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или даже на 100%.

Уменьшение объема опухоли типа, описанного выше, может быть рассчитано со ссылкой на подходящий контроль. Например, в ходе исследований, проведенных in vitro или in vivo на подходящих животных моделях, уменьшение объема опухоли может быть определено путем непосредственного сравнения объема опухоли, обработанной соединением по изобретению, и объема контрольной опухоли (которая может быть необработанной, или может быть обработана соединением, отличным от соединения по настоящему изобретению). Следует иметь в виду, что такие модели, для которых требуется отсутствие лечения опухоли, могут быть этически неприемлемыми в контексте клинических испытаний или терапевтического контроля пациентов, и в этом случае уменьшение объема опухоли может быть оценено путем сравнения объема обработанной опухоли и объема опухоли до обработки, или прогнозируемого объема, который был бы достигнут опухолью в отсутствие обработки.

Способы лечения и медицинского применения соединения по настоящему изобретению могут привести к снижению количества биомаркеров, указывающих на злокачественное новообразование. Уменьшение таких биомаркеров дает дополнительную оценку, с помощью которой можно продемонстрировать эффективное лечение злокачественного новообразования. Подходящие примеры таких биомаркеров могут быть выбраны на основании типа злокачественного новообразования, в отношении которого проводится лечение: в случае гинекологических злокачественных новообразований CA125 представляет собой подходящий пример биомаркера, при этом в случае панкреатического рака или рака желчных протоков CA19.9 представляет собой подходящий пример биомаркера, а в случае колоректального рака CE может быть подходящим биомаркером.

Соответствующее лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к снижению биомаркеров злокачественного новообразования, по меньшей мере, на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30% или по меньшей мере на 40%. В соответствующих вариантах осуществления лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может

привести к снижению биомаркеров злокачественного новообразования, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 60%, по меньшей мере на 70% или по меньшей мере на 80%. Лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к снижению биомаркеров злокачественного новообразования, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90% или по меньшей мере на 95%. Действительно, лечение злокачественного новообразования в соответствии с изобретением может привести к снижению биомаркеров злокачественного новообразования, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или даже на 100%.

Благоприятные эффекты, такие как снижение доли присутствующих раковых стволовых клеток, снижение роста опухоли или уменьшение объема опухоли или биомаркеров злокачественного новообразования, наблюдаемые при лечении рака в соответствии с настоящим изобретением, могут сохраняться в течение, по крайней мере, одного месяца. Соответственно такие положительные эффекты могут сохраняться в течение по меньшей мере двух месяцев, по меньшей мере три месяца, по меньшей мере четыре месяца, по меньшей мере пять месяцев или, по меньшей мере шесть месяцев. Действительно, такие положительные эффекты могут сохраняться в течение по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев или, по меньшей мере 24 месяцев. Соответственно благоприятные эффекты могут сохраняться в течение, по меньшей мере трех лет, по меньшей мере четырех лет, по меньшей мере пяти лет, по меньшей мере шести лет, по меньшей мере семи лет, по меньшей мере восьми лет, по меньшей мере девяти лет или в течение десяти лет или более.

В подходящем варианте осуществления настоящего изобретения соединение по изобретению используют в способе профилактики или лечения злокачественного новообразования или предракового состояния, путем таргетирования раковых стволовых клеток. В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение относится к применению соединения по изобретению в способе профилактики или лечения злокачественного новообразования или предракового состояния, где способ снижает онкогенность одной или нескольких раковых стволовых клеток. Соответственно такие способы могут предотвращать прогрессирование злокачественного новообразования или ингибировать рост опухоли.

Если соединение по настоящему изобретению используется в способах или для медицинского применения по настоящему изобретению для профилактики или лечения прогрессирования злокачественного новообразования, такая профилактика или лечение могут привести к замедлению, задержке или полной остановке прогрессирования злокачественного новообразования.

Прогрессирование злокачественного новообразования обычно определяется путем оценки стадии злокачественного новообразования. Определение стадии обычно осуществляется путем присвоения номера от I до IV злокачественному новообразованию, где I является выделенным злокачественным новообразованием, а IV является злокачественным новообразованием, которое распространилось до того предела, который является мерой оценки. Особенности определения стадии изменяется в зависимости от злокачественного новообразования, но стадия обычно учитывает размер опухоли, поражала ли она соседние органы, на сколько региональных (ближайших) лимфатических узлов она распространилась (если распространилась), и появилась ли она в более отдаленных местах (метастазирование).

Как правило, стадия I локализована в одной части организма, и ее лечение может быть осуществлено с помощью хирургической резекции (для солидных опухолей, которые достаточно малы). Стадия II является местнораспространенной и поддается лечению химиотерапией, лучевой терапией, хирургией или их комбинацией. Стадия III также является местнораспространенной, и обозначение стадии II или стадии III зависит от конкретного типа злокачественного новообразования, хотя стадия III, как правило, считается "поздней" местнораспространенный. Стадия IV

злокачественного новообразования часто метастазирует во второй орган. Лечение злокачественного новообразования с использованием соединения по настоящему изобретению в способах или при медицинском применении по настоящему изобретению может быть использовано при лечении стадии I, II, III или IV злокачественного новообразования путем таргетирования раковых стволовых клеток. Лечение соединением по изобретению может быть использовано для предотвращения прогрессирования злокачественного новообразования от одной стадии к следующей. В одном из вариантов осуществления лечение соединением по настоящему изобретению используется для предотвращения прогрессирования от стадии I к стадии II. В другом варианте осуществления лечение соединением по настоящему изобретению используется для предотвращения прогрессирования от стадии II к стадии III. В еще одном варианте осуществления лечение соединением по настоящему изобретению используется для предотвращения прогрессирования от стадии III к стадии IV.

Предотвращение или ингибирование прогрессирования злокачественного новообразования является особенно важным для предотвращения распространения злокачественного новообразования, например прогрессирования от стадии I к стадии II, когда злокачественное новообразование распространяется локально, или прогрессирование от стадии III к стадии IV, когда рак метастазирует в другие органы. Раковые стволовые клетки являются онгогенными и поэтому, как полагают, играют решающую роль в распространении злокачественного новообразования, как локально, так и за счет метастазов. Способы лечения или медицинского применения по изобретению с применением соединения по изобретению, следовательно, могут быть использованы для предотвращения распространения злокачественного новообразо-

вания путем таргетирования онкогенных раковых стволовых клеток и, таким образом, уменьшая их количество.

Злокачественные новообразования.

Соединения по настоящему изобретению демонстрируют повышенную противораковую активность по сравнению с исходными нуклеозидами, из которого они получены. Такое усиление противораковой активности, по-видимому, является результатом повышенной активности как против раковых стволовых клеток, так и против нестволовых раковых клеток.

Раковые стволовые клетки играют роль в биологической активности широкого спектра злокачественных заболеваний. Соответственно существует широкий спектр злокачественных новообразований, который может быть предотвращен, или лечение которых может быть осуществлено в соответствии с настоящим изобретением.

Как описано в других разделах описания, раковые стволовые клетки, как известно, присутствуют во многих типах опухолей, включая опухоли жидкостей (в том числе гематологические опухоли, такие как лейкозы и лимфомы) и солидные опухоли (например, опухоли молочной железы, легких, толстой кишки, предстательной железы, яичников, кожи, мочевого пузыря, опухоль билиарной системы и поджелудочной железы). Способы лечения и медицинского применения соединения по изобретению путем таргетирования раковых стволовых клеток, таким образом, как ожидается, будут эффективными для профилактики или лечения таких злокачественных заболеваний.

Таким образом, соединение по изобретению может быть использовано для профилактики или лечения злокачественного новообразования, выбранного из группы, включающей: лейкоз, лимфому, множественную миелому, рак легкого, рак печени, рак молочной железы, рак головы и шеи, нейробластому, рак щитовидной железы, рак кожи (включая меланому), сквамозно-клеточную карциному полости рта, рак мочевого пузыря, опухоль клеток Лейдига, рак билиарного тракта, такой как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рак поджелудочной железы, рак толстой кишки, колоректальный рак и гинекологические виды рака, включая рак яичников, рак эндометрия, рак фаллопиевых труб, рак матки и рак шейки матки, в том числе эпителиальный рак шейки матки. В подходящих вариантах осуществления изобретения злокачественное новообразование представляет собой лейкоз и может быть выбрано из группы, включающей: острый лимфобластный лейкоз, острый миелобластный лейкоз (также известен как острый миелоидный лейкоз или острый нелимфоцитарный лейкоз), острый промиелоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический миелогенный лейкоз (также известен как хронический миелоидный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз или хронический гранулоцитарный лейкоз), хронический лимфоцитарный лейкоз, монобластный лейкоз и волосатоклеточный лейкоз. В других предпочтительных вариантах осуществления изобретения злокачественное новообразование представляет собой острый лимфобластный лейкоз. В конкретном варианте осуществления лейкоз представляет собой рефрактерный TdT-положительный лейкоз. В конкретном варианте осуществления изобретения злокачественное новообразование представляет собой лимфому, которая может быть выбрана из группы, включающей: лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, лимфому Беркитта и мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому.

Соответствующим таргетированием раковых стволовых клеток в таких злокачественных опухолях может быть достигнуто эффективное лечение злокачественного новообразования путем предотвращения или лечения развития злокачественного новообразования, путем предотвращения или лечения прогрессирования злокачественного новообразования, путем предотвращения или лечения рецидива злокачественного новообразования или путем предотвращения или лечения распространения злокачественного новообразования.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению по изобретению для применения при таргетировании раковых стволовых клеток для профилактики или лечения метастатического злокачественного новообразования.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению по изобретению для применения при таргетировании раковых стволовых клеток для лечения рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению по изобретению для применения при таргетировании раковых стволовых клеток для лечения первичного злокачественного новообразования. Соответственно первичный рак, подвергающийся лечению, может быть дополнительным очагом первичного злокачественного новообразования.

Настоящее изобретение относится к соединению по изобретению для применения при таргетировании раковых стволовых клеток для лечения вторичного злокачественного новообразования. В подходящем варианте осуществления вторичное злокачественное новообразование представляет собой метастатическое злокачественное новообразование.

В подходящем варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению по изобретению для применения при таргетировании раковых стволовых клеток, где таргетирование раковых стволовых клеток предотвращает или ингибирует: (i) рецидив злокачественного новообразования; (ii) возникновение дополнительного очага первичного злокачественного новообразования; или (iii) метаста-

зирование злокачественного новообразования.

Способы лечения или медицинское применение, в которых используется соединение по настоящему изобретению на основании его способности таргетировать раковые стволовые клетки, могут быть использованы для лечения рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования. Факторами, которые необходимо учитывать, касающимися рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования в таких вариантах осуществления изобретения, являются, исключая те случаи, где контекстом не подразумевается иное, такие же факторы, что и для лечения рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования согласно аспектам настоящего изобретения.

Рецидивирующее или рефрактерное злокачественное новообразование.

Как было указано выше, некоторые аспекты и варианты осуществления настоящего изобретения, в частности, относятся к применению соединения по изобретению для лечения рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования.

Для целей настоящего изобретения рефрактерные злокачественные новообразования могут быть рассмотрены как злокачественные новообразования, которые демонстрируют резистентность к противораковой терапии, отличной от терапии, при которой используется соединение по настоящему изобретению.

Например, соединение по настоящему изобретению может быть использовано для лечения рефрактерных злокачественных новообразований, которые резистентны к лучевой терапии. Альтернативно, или дополнительно, соединение по настоящему изобретению может быть использовано для лечения рефрактерных злокачественных новообразований, которые резистентны к биологическим средствами, используемым для лечения злокачественных новообразований. В подходящем варианте осуществления соединение по настоящему изобретению может быть использовано для лечения рефрактерных злокачественных новообразований, которые резистентны к лечению химиотерапевтическими средствами, отличными от соединения по изобретению.

В частности, рефрактерные злокачественные новообразования, при которых могут быть эффективными способы лечения или медицинское применение по изобретению с использованием соединения по настоящему изобретению, включают такие злокачественные новообразования, которые резистентны к кордицепину или 2-фторкордицепину.

Рецидивирующими злокачественными новообразованиями (или повторными злокачественными новообразованиями) являются такие новообразования, которые снова возвращаются после периода ремиссии, в течение которого злокачественное новообразование не может быть обнаружено. Рецидив злокачественного новообразования может происходить в месте первоначального злокачественного новообразования (местный рецидив), в месте, близком к первоначальной опухоли (региональный рецидив), или в месте, отдаленном от первоначального злокачественного новообразования (отдаленный рецидив). Раковые стволовые клетки, как полагают, играют определенную роль в рецидиве злокачественного новообразования, обеспечивая источник, из которого образуются клетки рецидива злокачественного новообразования.

Соответственно способы лечения и медицинское применение соединения по настоящему изобретению в соответствии с настоящим изобретением, которые обеспечивают таргетирование раковых стволовых клеток, могут быть весьма эффективны в контексте рецидивирующего злокачественного новообразования. Способность соединения по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки может быть использована для удаления популяций таких клеток, которые способны приводить к рецидиву, предотвращая тем самым случаи рецидива злокачественного новообразования. Активность соединения по настоящему изобретению против стволовых раковых клеток также может быть использована в отношении целевых раковых стволовых клеток в злокачественных новообразованиях, которые повторялись, а также, вероятно, оказывать цитотоксическое действие на нераковые стволовые клетки, обеспечивая тем самым лечение рецидивирующих злокачественных новообразований.

С учетом вышеизложенного, будет понятно, что соединение по настоящему изобретению может быть использовано в способах или для применения по настоящему изобретению для профилактики или лечения рецидивирующего злокачественного новообразования. Соединение по настоящему изобретению может быть использовано в способах или для применения по изобретению для профилактики или лечения местных, региональных или отдаленных рецидивирующих злокачественных новообразований.

Соединение по настоящему изобретению может быть использовано в способах или для применения по изобретению для предотвращения рецидива злокачественного новообразования, обеспечивая по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев или, по меньшей мере 30 месяцев ремиссии. Действительно, соединение по изобретению может быть использовано для предотвращения рецидива злокачественного новообразования, обеспечивая по меньшей мере 4 года, по меньшей мере 5 лет, по меньшей мере 6 лет, по меньшей мере 7 лет, по меньшей мере 8 лет, по меньшей мере 9 лет или по меньшей мере 10 лет ремиссии.

Соединение по настоящему изобретению может быть использовано в способах или для применения по изобретению для лечения рецидивирующего злокачественного новообразования, которое рецидивирует через по меньшей мере 2 месяца, по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 12 месяцев, по меньшей мере 18 месяцев, по меньшей мере 24 месяцев или по меньшей мере 30 месяцев ремиссии. Дей-

ствительно, соединение по изобретению может быть использовано для лечения рецидивирующего злокачественного новообразования, которое рецидивирует через по меньшей мере 4 года, по меньшей мере 5 лет, по меньшей мере 6 лет, по меньшей мере 7 лет, по меньшей мере 8 лет, по меньшей мере 9 лет или по меньшей мере 10 лет ремиссии.

Способность соединений по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки дает возможность использовать эти соединения при профилактике или лечении раковых заболеваний в соответствии с медицинским применением или способами лечения по настоящему изобретению. Тем не менее, следует отметить, что соединения по настоящему изобретению также оказывают прямое цитотоксическое действие на раковые нестволовые клетки, которые составляют основную часть опухолей. В то время как активность раковых стволовых клеток может лежать в основе большей части резистентности, что делает рецидивирующий или рефрактерный раков таким трудным для лечения, раковые нестволовые клетки также являются основным компонентом таких рецидивирующих или рефрактерных видов рака.

Соединения по настоящему изобретению оказывают более сильное цитотоксическое действие на раковые нестволовые клетки, чем кордицепин или 2-фторкордицепин, из химиотерапевтической молекулы которого получают соединения по настоящему изобретению. Соответственно механизм, посредством которого соединение по изобретению действует при лечении рецидивирующего или рефрактерного рака, не может быть ограничен только активностью этого соединения против раковых стволовых клеток, но может также использовать действие соединения по изобретению на раковые нестволовые клетки. При таком применении лечение с использованием соединения по изобретению будет уменьшать общее количество обоих видов, как раковых стволовых клеток, так и раковых нестволовых клеток. При использовании некоторых соединений по настоящему изобретению такие способы лечения предпочтительно будут уменьшать долю раковых стволовых клеток, которые остаются после лечения.

Терапевтически эффективные дозы соединения по настоящему изобретению.

Терапевтический эффективное количество соединения по настоящему изобретению может представлять собой количество, достаточное, чтобы вызывать гибель раковых клеток.

Терапевтически эффективное количество соединения по настоящему изобретению может представлять собой количество, достаточное, чтобы вызвать гибель раковых стволовых клеток. В некоторых вариантах осуществления изобретения, в частности таких, которые относятся к лечению рецидивирующего или рефрактерного рака, терапевтически эффективное количество соединения по настоящему изобретению может представлять собой количество, достаточное, чтобы вызывать гибель раковых стволовых клеток, а также, чтобы вызывать гибель раковых нестволовых клеток.

Существуют различные методы, которыми может быть рассчитано и отображено количество терапевтически эффективного соединения, такого как соединение по изобретению, вводимое пациенту. Одним из таких методов, который считается особенно подходящим для доз агентов в случае профилактики или лечения рака, является количество агента, вводимого в расчете на единицу площади поверхности тела пациента. Такие дозы, как правило, выражают в виде количества агента (которое может быть определено по массе) в расчете на квадратный метр ($м^2$) площади поверхности.

При применении соединения по настоящему изобретению для профилактики или лечения злокачественного новообразования можно использовать еженедельную дозу от 10 до 1000 $мг/м^2$. При таком лечении может, например, применяться еженедельная доза от 375 до 900 $мг/м^2$. Например, эффективное лечение рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования может быть осуществлено, когда пациенты получают еженедельные дозы соединения по изобретению, которые изменяются от приблизительно 500 до 825 $мг/м^2$.

Не желая быть связанными какой-либо гипотезой, авторы изобретения полагают, что способность соединения по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки позволяет достичь терапевтическую эффективность при использовании более низких доз этого соединения, чем можно было бы ожидать. Просто в качестве примера, еженедельные дозы соединения по изобретению, которые минимально составляют 825, 750, 600 или 500 $мг/м^2$, могут оказаться терапевтически эффективными при применении и в способах по изобретению.

Выбранная еженедельная доза соединения по изобретению может обеспечиваться одноразовым введением или многоразовым введением в течение недели. Так, например, недельная доза соединения по изобретению может вводиться два раза, три раза или более. Таким образом, для недельной дозы в 750 $мг/м^2$, это может быть достигнуто путем трехразового введения 250 $мг/м^2$ в течение недели или двухразового введения 375 $мг/м^2$ в течение недели. Аналогично, для недельной дозы в 600 $мг/м^2$, это может быть достигнуто трехразовым введением 200 $мг/м^2$ в течение недели или двухразовым введением 300 $мг/м^2$ в течение недели.

Подходящее количество соединения по настоящему изобретению, вводимое один раз при лечении для получения требуемой дозы этого соединения на протяжении недельного курса, может быть в диапазоне от приблизительно от 100 до 300 $мг/м^2$.

Еженедельная доза соединения по настоящему изобретению может быть уменьшена в течение курса лечения. Например, лечение может начинаться с еженедельной дозы, равной приблизительно 1000, 900, 825, 750 или 725 $мг/м^2$, и в течение курса лечения требуемая доза может быть уменьшена до прибли-

зительно 750 мг/м^2 (в тех случаях, когда начальная доза находится выше этого значения), примерно 650 мг/м^2, примерно 625 мг/м^2 или даже примерно 500 мг/м^2 или примерно 375 мг/м^2.

Дозы соединения по изобретению могут, конечно, быть представлены другими видами. Наиболее распространенным из них является количество активного агента, приведенное на единицу массы тела. Было вычислено, что для среднего пациента-человека доза 1 мг/м^2 эквивалентна примерно 0,025 мг/кг массы тела. Соответственно данные показывают, что соединение по настоящему изобретению является эффективным при лечении рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования в дозах в диапазоне от примерно 6,25 до примерно 25 мг/кг.

Подходящая доза может, например, быть в диапазоне от примерно 9,5 до 22,5 мг/кг. В соответствующем варианте осуществления изобретения благодаря соединению по настоящему изобретению достигается эффективное лечение рецидивирующего или рефрактерного злокачественного новообразования, когда пациенты принимают еженедельно дозы в диапазоне от примерно 12,5 до 20,5 мг/кг.

Соображения относительно составов соединения по изобретению, подходящих для применения в способах профилактики или лечения и медицинского применения по настоящему изобретению, описаны в другом разделе настоящего описания. В случае инъекционных составов соединения по изобретению, они могут быть введены внутривенно. Внутривенное введение может быть осуществлено в течение любого подходящего времени, в пределах, например, десятиминутной инъекции или тому подобное.

Виды лечения.

В подходящем варианте осуществления изобретения соединение по настоящему изобретению может быть использовано для таргетирования раковых стволовых клеток в качестве первой линии терапии злокачественного новообразования.

Тем не менее, обнаружение того, что соединения по изобретению способны таргетировать раковые стволовые клетки и, таким образом, лечить рецидивирующее или рефрактерное злокачественное новообразование показывает, что соединение по настоящему изобретению способно обеспечивать эффективное лечение злокачественного новообразования в контексте, при котором другие способы лечения оказались неэффективными. Таким образом, в соответствующем варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению по настоящему изобретению для таргетирования раковых стволовых клеток в качестве второй линии лечения злокачественного новообразования. Действительно, в подходящем варианте осуществления настоящее изобретение относится к соединению по настоящему изобретению для таргетирования раковых стволовых клеток в качестве третьей или последующей, линии лечения злокачественного новообразования.

В подходящем варианте осуществления изобретения предлагается применение соединения по настоящему изобретению в качестве неоадъюванта для лечения злокачественного новообразования. Неоадъювант представляет собой агент, вводимый пациенту для уменьшения размера опухоли перед "основной" противораковой терапией, такой как хирургическое удаление злокачественного новообразования. Соединение по настоящему изобретению может быть использовано в качестве для пациента, который впоследствии будет подвергнут хирургическому лечению злокачественного новообразования и/или лучевой терапии злокачественного новообразования.

Альтернативно или дополнительно, изобретение относится к соединению по изобретению для применения в качестве вспомогательного агента для лечения злокачественного новообразования. Вспомогательный агент представляет собой агент, вводимый пациенту после "основной" противораковой терапии, такой как хирургическое удаление злокачественного новообразования с целью предотвращения возврата злокачественного новообразования после основной терапии. Соединение по настоящему изобретению может быть использовано в качестве вспомогательного агента для пациента после хирургического лечения злокачественного новообразования и/или лучевой терапии злокачественного новообразования.

Соединение по настоящему изобретению может быть использовано в способах или может применяться по настоящему изобретению в качестве монотерапии, то есть для профилактики или лечения, при которых соединение по изобретению обеспечивает, по существу, полную терапевтическую активность, используемую для профилактики или лечения.

Альтернативно, в способах или при применении по настоящему изобретению соединение по изобретению может использоваться в комбинированной терапии. В таких вариантах осуществления соединение по изобретению используется в сочетании по меньшей мере с одной дополнительной терапией злокачественного новообразования. Дополнительная терапия злокачественного новообразования может включать хирургическое вмешательство и/или лучевую терапию. Кроме того, или альтернативно, дальнейшая терапия злокачественного новообразования может включать использование по меньшей мере одного терапевтического средства, которое способствует профилактике или лечению злокачественного новообразования. Соответственно такое средство может быть химиотерапевтическим средством или биологическим агентом, используемым для профилактики или лечения злокачественного новообразования.

В подходящем варианте осуществления комбинированной терапии соединение по изобретению и дополнительный терапевтический агент могут быть введены пациенту одновременно. В подходящем примере, соединение по настоящему изобретению и дополнительный терапевтический агент могут быть представлены как часть одной и той же фармацевтической композиции. Альтернативно, соединение по

настоящему изобретению и дополнительное терапевтическое средство могут быть включены в независимые составы для введения пациенту, по существу, в одно и тоже время.

В еще одном варианте осуществления комбинированной терапии соединение по изобретению и дополнительный терапевтический агент могут быть введены пациенту в разное время. Соединение по настоящему изобретению и дополнительный терапевтический агент могут быть введены пациенту последовательно. Например, соединение по настоящему изобретению может быть введено пациенту перед введением дополнительного терапевтического агента. Альтернативно, соединение по настоящему изобретению может быть введено пациенту после введения дополнительного терапевтического агента.

"Дополнительные терапевтические агенты"

Соединение по настоящему изобретению может быть использовано в сочетании с широким спектром дополнительных терапевтических агентов для профилактики или лечения злокачественного новообразования. Они включают биологические агенты, иммунотерапевтические средства и химиотерапевтические средства, которые могут быть использованы для профилактики или лечения злокачественного новообразования.

Несмотря на то, что в следующих далее абзацах рассмотрены конкретные примеры подходящих дополнительных агентов, их не следует рассматривать как ограничивающие диапазон дополнительных терапевтических агентов, подходящих для применения вместе с соединением по изобретению. Действительно, способность соединения по изобретению таргетировать раковые стволовые клетки указывает на то, что оно может быть эффективно использовано в сочетании с каким-либо дополнительным терапевтическим агентом, используемым для профилактики или лечения злокачественного новообразования, независимо от того, таргетирует ли такое дополнительное средство раковые стволовые клетки, раковые нестволовые клетки или на другие клетки или компоненты, участвующие в развитии, поддержании, рецидиве или распространении злокачественного новообразования.

Примеры дополнительных терапевтических агентов, которые могут быть использованы в комбинации с соединением по изобретению включают:

(a) антиангиогенный агент, где, необязательно, антиангиогенный агент представляет собой: (i) ингибитор пути VEGF, необязательно, бевацизумаб; (ii) ингибитор тирозинкиназы, необязательно, сорафениб, сунитиниб или пазопаниб; или (iii) ингибитор MTOR, необязательно, эверолимус;

(b) алкилирующий агент;

(c) антиметаболит;

(d) противоопухолевый антибиотик;

(e) топоизомеразу;

(f) ингибитор митоза;

(g) моноклональное антитело;

(h) металлический агент; или

(i) активную или пассивную иммунотерапию.

Для случаев, когда из контекста не следует иное, дополнительные терапевтические агенты, указанные в предыдущем списке, все должны быть рассмотрены для применения в любом из вариантов осуществления комбинированной терапии с соединением по изобретению, как рассмотрено выше.

Выбор пациентов.

Вывод изобретателей о том, что соединение по изобретению способно таргетировать раковые стволовые клетки, делает возможным ряд способов, с помощью которых можно определить, вероятен ли эффект от введения соединения по изобретению для лечения или профилактики злокачественного новообразования, такого как рецидивирующий или рефрактерный рак, у конкретного пациента.

Соответственно настоящее изобретение относится к способу определения, будет ли пациент, страдающий злокачественным новообразованием или предраковым состоянием, иметь эффект от профилактики или лечения злокачественного новообразования соединением по изобретению, где способ включает: оценку биологического образца, характерного для злокачественного новообразования или предракового состояния у пациента на наличие раковых стволовых клеток; где присутствие раковых стволовых клеток в биологическом образце указывает на то, что пациент будет иметь эффект от лечения соединением по изобретению.

Настоящее изобретение также относится к способу определения подходящего режима лечения пациента, страдающего злокачественным новообразованием или предраковым состоянием, где способ включает: оценку биологического образца, характерного для злокачественного новообразования или предракового состояния у пациента на наличие раковых стволовых клетки; где присутствие раковых стволовых клеток в биологическом образце указывает на то, что подходящий режим лечения будет включать лечение пациента соединением по настоящему изобретению.

Изобретение также относится к применению соединения по изобретению для профилактики или лечения злокачественного новообразования у пациента, выбранного для такого лечения способом, включающим: оценку биологического образца, характерного для злокачественного новообразования или предракового состоянию у пациента на наличие раковых стволовых клеток; где присутствие раковых стволовых клеток в биологическом образце указывает на то, что пациент подходит для лечения соедине-

нием по изобретению.

В подходящих вариантах осуществления раковые стволовые клетки в биологическом образца могут быть идентифицированы по экспрессии характерных наборов маркеров, как обсуждалось ранее в заявке.

Специалисту в данной области будет понятно, что существует много подходящих примеров биологических образцов, которые могут быть использованы в вариантах осуществления настоящего изобретения, такие как маркеры, указанные выше. Соответственно такой образец может включать клетки злокачественного новообразования или предракового состояния. Подходящий биологический образец может представлять собой образец ткани, такой как образец для использования в гистологии. Клетки в таких образцах могут быть непосредственно оценены по экспрессии маркеров стволовых клеток рака, таких, как маркеры, перечисленные выше.

Альтернативно или дополнительно, подходящий биологический образец может содержать молекулы-мишени, типичные для генной экспрессии клеток злокачественного новообразования или предракового состояния. Примеры таких молекул-мишеней включают белки, кодируемые экспрессированными генами, или нуклеиновые кислоты, такие как мРНК, типичные для генной экспрессии.

Подходящие примеры методов, с помощью которых может быть оценена экспрессия маркеров стволовых раковых клеток, могут быть выбраны со ссылкой на тип образца. Методики для исследования экспрессированных маркеров зачастую используются в контексте клинических оценок (например, для диагностических или прогностических целей), и их применение хорошо известно специалистам, которым необходимо их использовать в контексте настоящего изобретения. Просто в качестве примера, в образцах, содержащих белки, наличие маркеров стволовых раковых клеток может быть оценено с помощью подходящих методов, используя антитела, которые взаимодействуют с интересующими маркерами раковых стволовых клеток. Примеры таких образцов, содержащих белковые маркеры раковых стволовых клеток, включают гистологические образцы (где наличие маркеров может быть визуализировано с помощью соответствующих методов иммуноцитохимии) или образцы, полученные из циркулирующей крови. При этом наличие циркулирующих раковых стволовых клеток (которые, как полагают, способствуют распространению злокачественного новообразования посредством метастазов) может быть оценено с помощью таких методов, как проточная цитометрия.

В образцах, содержащих нуклеиновые кислоты, типичные для экспрессии маркеров стволовых раковых клеток, такая экспрессия может быть оценена с помощью соответствующих таких молекулярных биологических методов, как полимеразная цепная реакция (ПЦР) на основе амплификации, используя подходящие праймеры.

Пример 1. Способы синтеза.

Соединения по изобретению могут быть получены в соответствии с или аналогично следующим общим способам и примерам способам синтеза.

Общий способ 1 (для соединений A-F и L-U).

N-метилимидазол (1,0 ммоль) и раствор соответствующего фосфорохлоридата (0,6 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл) добавляли по каплям к суспензии 3'-дезоксиаденозина (0,20 ммоль) или замещенного 3'-дезоксиаденозина в безводном ТГФ (10 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии и препаративной ТСХ давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета. Количество используемых компонентов может варьироваться, а фактические количества приведены в приведенных примерах далее.

Общий способ 2 (для соединения J).

3'-Дезоксиаденозин (0,80 ммоль) суспендировали в $(CH_3O)_3PO$ (5 мл) и при температуре -5°C добавляли по каплям $POCl_3$ (0,80 ммоль). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и оставляли перемешиваться в течение 4 ч. Добавляли раствор соответствующей соли сложного эфира аминокислоты (4,0 ммоль), растворенной в безводном CH_2Cl_2 (5 мл), затем диизопропилэтиламин (8,0 ммоль) при температуре -78°C. После перемешивания при комнатной температуре в течение 20 ч добавляли воду и слои разделяли. Водную фазу экстрагировали дихлорметаном, и органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором. Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (градиентное элюирование смесью CH_2Cl_2/MeOH= от 100/0 до 93/7) с получением желаемого продукта в виде пены белого цвета. Количество используемых компонентов может варьироваться, а фактические количества приведены в приведенных примерах далее.

Общий способ 3 (для соединения G-I).

3'-Дезоксиаденозин (0,20 ммоль) суспендировали в безводном ТГФ (5 мл) и по каплям при комнатной температуре добавляли трет-BuMgCl (1,0M раствор в ТГФ, 0,22 ммоль). Добавляли по каплям раствор соответствующего фосфорохлоридата (0,6 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии и препаративной ТСХ давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета. Количество используемых компонентов может варьироваться, а фактические количества приведены в приведенных примерах далее.

Общий способ 4 (для соединения V).

В раствор соответствующего производного 3'-дезоксиаденозина (1 моль/экв) в безводном ДМФ добавляли трет-бутилдиметилсилил хлорид (3,3 моль/экв) и имидазол 6,6 (моль/экв), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи (16-20 ч). Затем в смесь добавляли NH_4Cl и промывали два раза этилацетатом. Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 и растворитель удаляли в вакууме. Очистка смеси с помощью колоночной хроматографии давала промежуточное соединение C1. Промежуточное соединение C1 затем растворяли в водном растворе ТГФ/H_2O/ТФУ 4/1/1 (6 мл/экв) и перемешивали при температуре 0°C в течение 4 ч. Затем раствор осторожно нейтрализовали насыщенным водным раствором $NaHCO_3$, и смесь промывали два раза этилацетатом. Органические слои объединяли, сушили над Na_2SO_4 и растворитель удаляли в вакууме. Очистка смеси с помощью колоночной хроматографии давала промежуточное соединение C2. Затем осуществляли общий способ B, и получали промежуточное соединение C3. Промежуточное соединение C3 растворяли в водном растворе смеси ТГФ/H_2O/ТФУ 1/1/1 (6 мл/экв) при температуре 0°C и перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Очистка с помощью хроматографии давала желаемые соединения в виде твердых веществ белого цвета.

Общий способ 5 (для получения 3'-дезоксиаденозина и 3'-дезокси-2-хлораденозина, используемых в примерах).

Раствор H_2O/CH_3CN 1:9 и затем α-AIBBr (4,0 моль/экв) последовательно добавляли к суспензии сухого аденозина или 2-хлораденозина в безводном CH_3CN, и перемешивание продолжали при комнатной температуре (20°C). Спустя 1 ч осторожно добавляли насыщенный раствор $NaHCO_3$, и раствор экстрагировали EtOAc. Объединенную органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором. Водную фазу экстрагировали EtOAc, и объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали с получением смолы белого цвета. Сырую смесь растворяли в безводном MeOH и перемешивали в течение 1 ч со смолой Amberlite (2×OH^-), предварительно хорошо промытой безводным MeOH. Раствор затем фильтровали, и смолу осторожно промывали безводным метанолом. Упаривание объединенного фильтрата давало 2',3'-дегидроаденозин или 2',3'-дегидро-2-хлораденозин в виде твердого вещества белого цвета.

К холодному (4°C) раствору 2',3'-дегидроаденозина или 2',3'-дегидро-2-хлораденозина (1 моль/экв) в безводном ДМСО/ТГФ (1/10) в атмосфере аргона добавляли по каплям раствор $LiEt_3BH$ (1 M в ТГФ 4-4,3 моль/экв). Перемешивание продолжали при температуре 4°C в течение 1 ч и при комнатной температуре в течение ночи (16 ч). Реакционную смесь осторожно подкисляли (5% AcOH/H_2O), продували N_2 в течение 1 ч (под вытяжным колпаком) для удаления самовоспламеняющегося триэтилборана и упаривали. Остаток подвергали хроматографии с получением 3'-дезоксиаденозина или 3'-дезокси-2-хлораденозина в виде порошка белого цвета.

Используя общий способ 5: 2',3'-дегидроаденозин получали исходя из 10,0 г (37,4 ммоль) аденозина, 7,5 мл смеси H_2O/CH_3CN (1/9), 22 мл (149,7 ммоль) α-AIBBr в 500 мл безводного CH_3CN и 300 мл смолы Amberlite (2×OH^-) в 400 мл сухого метанола. 2',3'-Дегидроаденозин получали в виде твердого вещества белого цвета (9,12 г, 98%). 3'-Дезоксиаденозин получали исходя из 9,12 г (36,6 ммоль) 2',3'-дегидроаденозина и 159 мл (159 ммоль) $LiEt_3BH$/ТГФ 1M, в безводном ДМСО/ТГФ (1/10, 50 мл). Очистка с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюентная система 3-18% MeOH в DCM) давала 3'-дезоксиаденозин в виде порошка белого цвета (7,12 г, 77%).

^{1}H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d_6): δ 8,37 (с, 1 H, H8), 8,17 (с, 1H, H2), 7,29 (шир. с, 2H, NH_2), 5,89 (д, J=2,5 Гц, 1H, H1'), 5,68 (д, J=4,5 Гц, 1H, OH-2'), 5,19 (т, J=6, 0 Гц, 1H, OH-5'), 4,63-4,58 (м, 1H, H2'), 4,40-4,34 (м, 1H, H4'), 3,71 (ддд, J=12,0, 6,0, 3,0 Гц, 1 H, H5'), 3,53-3,49 (ддд, J=12,0, 6,0, 4,0 Гц, 1H, H5'), 2,30-2,23 (м, 1H, H3'), 1,98-1,90 (м, 1H, H3'). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО-d_6) δ 156,00 (C6), 152,41 (C2), 148,82 (C4), 139,09 (C8), 119,06 (C5), 90,79 (C1'), 80,66 (C4'), 74,56 (C2'), 62,61 (C5'), 34,02 (C3').

Используя общий способ 5: 2',3'-дегидро-2-хлораденозин получали исходя из 5,0 г (16,6 ммоль) 2-хлораденозина, 3,0 мл смеси H_2O/CH_3CN (1/9), 9,7 мл (66,2 ммоль), α-AIBBr в 38 мл безводного CH_3CN и 150 мл смолы Amberlite (2×OH^-) в 200 мл безводного метанола. 2',3'-Дегидро-2-хлораденозин получали в виде твердого вещества белого цвета (3,03 г, 60%). 3'-Дезокси-2-хлораденозин получали исходя из 2,18 г (7,68 ммоль) 2',3'-дегидро-2-хлораденозина и 30,7 мл (30,7 ммоль) $LiEt_3BH$/ТГФ 1M в безводном ДМСО/ТГФ (1/10 мл, 30 мл). Очистка с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюентная система 2-20% MeOH в DCM) давала 3'-дезокси-2-хлораденозин в виде порошка белого цвета (1,20 г, 55%).

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,41 (с, 1H, H8), 5,93 (д, J=2,5 Гц, 1H, H1'), 4,68-4,66 (м, 1H, H2'), 4,56-4,52 (м, 1H, H4'), 3,95 (дд, J=3, 12,5 Гц, 1H, H5'), 3,70 (дд, J=3, 12,5 Гц, 1H, H5'), 2,39-2,33 (м, 1H, H3'), 2,08-2,03 (м, 1H, H3') ^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 158,14 (C6), 155,19 (C2), 151,15 (C4), 141,30 (C8), 119,56 (C5), 93,58 (C1'), 82,80 (C4'), 76,81 (C2'), 64,01 (C5'), 34,33 (C3').

Получение 3'-дезокси-2-фтораденозина.

Раствор H_2O/CH_3CN (1:9; 1,4 мл) и затем α-AIBBr (4,10 мл, 28,05 ммоль) добавляли последовательно к суспензии сухого 2-фтораденозина (2,0 г, 7,01 ммоль) в безводном CH_3CN (50 мл), и перемешивание

продолжали при комнатной температуре (20°C). Спустя 1 ч осторожно добавляли насыщенный раствор $NaHCO_3$, и раствор экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (1×50 мл). Водную фазу экстрагировали EtOAc (2×50 мл), и объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали с получением смолы белого цвета. Сырую смесь растворяли в смеси ТГФ/H_2O (4/1, 50 мл) и перемешивали в течение 1 ч с 60 мл смолы Amberlite (2×OH^-) (предварительно хорошо промытой ТГФ). Раствор затем фильтровали, и смолу осторожно промывали ТГФ. Упаривание объединенного фильтрата и кристаллизация остатка из EtOH давала 2',3'-дегидро-2-фтораденозин в виде твердого вещества белого цвета (1,13 г, 60%).

В холодный (4°C, ледяная баня) раствор 2',3'-дегидро-2-фтораденозина (1,13 г, 4,18 ммоль) в безводной смеси ДМСО/ТГФ (1/10, 15 мл) в атмосфере аргона добавляли по каплям раствор $LiEt_3BH$/ТГФ (1M; 18,01 мл, 18,01 ммоль). Перемешивания продолжал при температуре 4°C в течение 1 ч и при комнатной температуре в течение ночи (16 ч). Реакционную смесь осторожно подкисляли (5% AcOH/H_2O), продували N_2 в течение 1 ч (под вытяжным колпаком) для удаления самовоспламеняющегося триэтилборана, и упаривали. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле (3-18% MeOH в DCM) с получением 3'-дезокси-2-фтораденозина в виде порошка белого цвета (7,12 г, 77%).

^{19}F ЯМР (470 МГц, ДМСО-d6): δF -52,19- ^{1}H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d6) δH 8,34 (с, 1H, H8), 7,80 (шир. с, 2H, NH_2), 5,78 (д, J=2,25 Гц, 1H, H1'), 5,68 (шир. с, 1H, OH-2'), 5,01 (шир. с, 1H, OH-5'), 4,55-4,51 (м, 1H, H2'), 4,39-4,32 (м, 1H, H4'), 3,73-3,76 (м, 1H, H5'), 3,56-3,50 (м, 1H, H5'), 2,26-2,18 (м, 1H, H3'), 1,94-1,85 (м, 1H, H3'). ^{13}C ЯМР (125 МГц, ДМСО-d6) δC 158,51 (д, ^{1}JC-F=202,7 Гц, C2), 157,55 (д, $^3J_{C-F}$=21,2 Гц, C6), 150,11 (д, $^3J_{C-F}$=20,3 Гц, C4), 139,22 (д, $^5J_{C-F}$=2,2 Гц, C8), 117,37 (д, $^4J_{C-F}$=4,1 Гц, C5), 90,67 (C1'), 80,90 (C4'), 74,73 (C2'), 62,35 (C5'), 33,89 (C3').

Получение 3'-дезокси-2-метоксиаденозина.

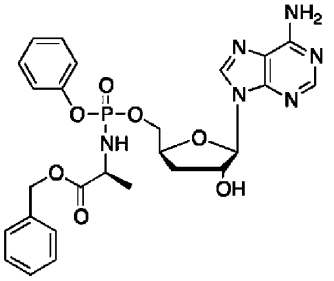
Раствор H_2O/CH_3CN (1:9; 1,4 мл) и затем α-AIBBr (4,10 мл, 28,05 ммоль) добавляли последовательно к суспензии сухого 2-фтораденозина (2,0 г, 7,01 ммоль) в безводном CH_3CN (50 мл) и перемешивание продолжали при комнатной температуре (20°C). Спустя 1 ч осторожно добавляли насыщенный раствор $NaHCO_3$, и раствор экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Объединенную органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором (1×50 мл). Водную фазу экстрагировали EtOAc (2×50 мл), и объединенную органическую фазу сушили над Na_2SO_4, фильтровали и упаривали с получением смолы белого цвета. Сырую смесь растворяли в безводном MeOH (50 мл) и перемешивали в течение 1 ч с 60 мл смолы Amberlite (2×OH^-) (предварительно хорошо промытой безводным MeOH). Раствор затем фильтровали, и смолу осторожно промывали ТГФ. Упаривание объединенного фильтрата и кристаллизация остатка из EtOH давала 2',3'-дегидро-2-метоксиаденозин в виде твердого вещества белого цвета (1,57 г, 84%).

В холодный (4°C) раствор 2',3'-дегидро-2-метоксиаденозина (762 мг, 2,84 ммоль) в безводном ДМСО/ТГФ (1/10, 15 мл) в атмосфере аргона добавляли по каплям раствор $LiEt_3BH$ (1M раствор в ТГФ; 8,53 мл, 8,53 ммоль). Перемешивания продолжали при температуре 4°C в течение 1 ч и при комнатной температуре в течение ночи (16 ч). Реакционную смесь осторожно подкисляли (5% AcOH/H_2O), продували N_2 в течение 1 ч (под вытяжным колпаком) для удаления самовоспламеняющегося триэтилборана, и упаривали. Остаток подвергали хроматографии на силикагеле (3-17% MeOH в DCM) с получением 3'-дезокси-2-метоксиаденозина в виде порошка белого цвета (650 мг, 81%).

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,20 (с, 1H, H8), 5,90 (д, J=2,4 Гц, 1H, H1'), 4,75-4,71 (м, 1H, H2'), 4,54-4,48 (м, 1H, H4'), 3,91 (дд, J=12,3, 2,5 Гц, 1H, H5'), 3,69 (дд, J=12,30, 4,0 Гц, 1H, H5'), 3,37 (с, 3H, OCH_3), 2,43-2,35 (м, 1H, H3'), 2,08-2,02 (м, 1H, H3'). ^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD) δC 163,68 (C2), 158,12 (C6), 151,94 (C4), 139,71 (C8), 116,64 (C5), 93,36 (C1'), 82,53 (C4'), 76,59 (C2'), 64,24 (C5'), 55,29 (OCH_3), 34,81 (C3').

Фосфорохлоридаты получали описанными способами исходя из арил фосфородихлоридатов и гидрохлоридов сложных эфиров аминокислот.

3'-Дезоксиаденозин-5'-O-[фенил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат A



Соединение A получали в соответствии с общим способом 1, используя 3'-дезоксиаденозин (50 мг, 0,20 ммоль), N-метилимидазол (80 мкл, 1,0 ммоль) и фенил(бензилокси-L-аланинил) фосфорохлоридат (212 мг, 0,6 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 7/93) с градиентом смеси CH_2Cl_2/MeOH (от 100 до 95:5%) и препаративной ТСХ (1000 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2C1_2 5/95) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого веще-

ства белого цвета (31 мг, 28%).

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,26 (с, 0,5H, H8), 8,24 (с, 0,5H, H8), 8,22 (с, 0,5H, H2), 8,21 (с, 0,5H, H2), 7,34-7,25 (м, 7H, Ar), 7,21-7,13 (м, 3H, Ar), 6,01 (д, J=2,9 Гц, 1H, H1'), 6,00 (д, J=2,9 Гц, 1H, H1'), 5,15-5,04 (м, 2H, OCH_2Ph), 4,73-4,63 (м, 2H, H2', H4'), 4,43-4,35 (м, 1H, H5'), 4,27-4,20 (м, 1H, H5'), 4,03-3,91 (м, 1H, $CHCH_3$), 2,35-2,28 (м, 1H, H3'), 2,09-2,02 (м,1H, H3'), 1,32 (д, J=7,4 Гц, 1,5 H, $CHCH_3$), 1,28 (д, J=7,4 Гц, 1, 5 H, $CHCH_3$).

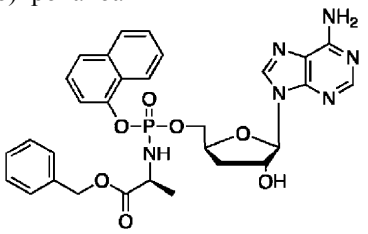
^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 174,84 (д, $^3J_{C-P}$=4,5 Гц, C=O), 174,63 (д, $^3J_{C-P}$=4,5 Гц, C=O), 157,32 (C6), 157,31 (C6), 153,86 (C2), 153,84 (C2), 152,13 (C4), 152,07 (C4), 150,20 (C-Ar), 150,18 (C-Ar), 140,47 (C8), 137,26 (C-Ar), 137,19 (C-Ar), 130,76 (CH-Ar), 130,74 (CH-Ar), 129,57 (CH-Ar), 129,32 (CH-Ar), 129,31 (CH-Ar), 129,29 (CH-Ar), 129,26 (CH-Ar), 126,16 (CH-Ar), 126,14 (CH-Ar), 121,46 (д, $^3J_{C-P}$=4,7 Гц, CH-Ar), 121,38 (д, $^3J_{C-P}$=4,7 Гц, CH-Ar) 120,54 (C5), 120,53 (C5), 93,24 (C1'), 93,18 (C1'), 80,43 (д, $^3J_{C-P}$=3,6 Гц, C4'), 80,36 (д, $^3J_{C-P}$=3,6 Гц, C4'), 76,62 (C2'), 68,62 (д, $^2J_{C-P}$=5,3 Гц, C5'), 68,30 (д, $^2J_{C-P}$=5,3 Гц, C5'), 67,95 (OCH_2Ph), 67,92 (OCH_2Ph), 51,74 ($CHCH_3$), 51,60 ($CHCH_3$), 34,91 (C3'), 34,70 (C3'), 20,45 (д, $^3J_{C-P}$=7,0 Гц, $CHCH_3$), 20,28 (д, $^3J_{C-P}$=7, 0 Гц, $CHCH_3$).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 3,9, 3,7.

МС (ES+) m/z: Найдено: 569,2 ($M+H^+$), 591,2 ($M+Na^+$), 1159,4 (2M+Na+). $C_{26}H_{29}N_6O_7P$, требуемое: (M) 568,2.

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 14,02 мин. и tR 14,26 мин.

(2S)-Бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноат B



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (240 мкл, 3,0 ммоль) и раствор (2S)-бензил 2-((хлор(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноата (727 мг, 1,8 ммоль) в безводном ТГФ (10 мл) добавляли по каплям к суспензии 3'-дезоксиаденозина (150 мг, 0,6 ммоль) в безводном ТГФ, и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (2000 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (45 мг, 12%).

МС (ES+) m/z: Найдено: 619,2 ($M+H^+$), 641,2 ($M+Na^+$), 1259,4 (2M+Na+). $C_{30}H_{31}N_6O_7P$, требуемое: (M) 618,58.

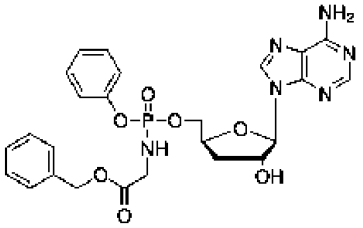
^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD): δP 4,3 (с), 4,1 (с).

^{1}H ЯМР (500 МГц, CH_3OD): δH 8,24 (с, 0,5H, H8), 8,22 (с, 0,5H, H8), 8,20 (с, 0,5H, H2), 8,19 (с, 0,5H, H2), 8,14-8,09 (м, 1H, Ar), 7,89-7,85 (м, 1H, Ar), 7,70-7,67 (м, 1H, Ar), 7,53-7,42 (м, 3H, Ar), 7,39-7,34 (м, 1H, Ar), 7,31-7,25 (м, 5H, Ar), 5,99 (д, J=2,0 Гц, 0,5H, H1'), 5,98 (д, J=2,0 Гц, 0,5H, H1'), 5,10-5,01 (м, 2H, CH_2Ph), 4,72-4,61 (м, 2H, H2', H4'), 4,47-4,40 (м, 1H, H5'), 4,33-4,24 (м, 1H, H5'), 4,09-3,98 (м, 1H, CH ala) 2,35-2,26 (м, 1H, H3'), 2,07-1,98 (м, 1H, H3'), 1,30-1,24 (м, 3H, CH_3).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD): δC 174,85 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 174,56 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 157,33 (C6), 157,31 (C6), 153,87 (C2), 153,85 (C2), 150,24 (C4), 150,23 (C4), 147,91 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, 'ipso' Nap), 147,95, (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, 'ipso' Nap), 140,56 (C8), 140,50 (C8), 137,22 (C-Ar), 137,17 (C-Ar), 136,28 (C-Ar), 129,55 (CH-Ar), 129,53 (CH-Ar), 129,30 (CH-Ar), 129,25 (CH-Ar), 128,88 (CH-Ar), 128,82 (CH-Ar), 127,91 (д, $^2J_{C-P}$=6,25 Гц, C-Ar), 127,83 (д, $^2J_{C-P}$=6,25 Гц, C-Ar), 127,77 (CH-Ar), 127,75 (CH-Ar), 127,49 (CH-Ar), 127,45 (CH-Ar), 126,48 (CH-Ar), 126,47 (CH-Ar), 126,02 (CH-Ar), 125,97 (CH-Ar), 122,77 (CH-Ar), 122,63 (CH-Ar), 120,58 (C5), 120,53 (C5), 116,35 (д, $^3J_{C-P}$=3,75 Гц, CH-Ar), 116,15 (д, $^3J_{C-P}$=3,75 Гц, CH-Ar), 93,22 (C1'), 93,20 (C1'), 80,30 (д, $^3J_{C-P}$ =2,75 Гц, C4'), 80,24 (д, $^3J_{C-P}$=2,75 Гц, C4'), 76,51 (C2'), 76,44 (C2'), 68,87 (д, $^2J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 68,64 (д, $^2J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 67,93 (OCH_2Ph), 51,82 (CH ala), 51,73 (CH ala), 35,01 (C-3'), 34,76 (C3'), 20,41 (д, $^3J_{C-P}$=6,7 Гц, CH_3 ala), 20,22 (д, $^3J_{C-P}$=6,7, CH_3 ala).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=200 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 16,36 мин. и tR 16,60 мин.

Бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)ацетат C



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (80 мкл, 1,0 ммоль) и раствор бензил 2-((хлор(фенокси)фосфорил)амино)ацетата (204 мг, 0,6 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл) добавляли по каплям к суспензии 3'-дезоксиаденозина (50 мг, 0,20 ммоль) в безводном ТГФ и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (500 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (21 мг, 19%).

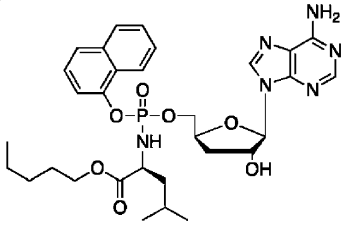
(ES+) m/z, Найдено: 555,2 ($M+H^+$), 577,2 ($M+Na^+$), 1131,4 ($2M+Na^+$). $C_{25}H_{27}N_6O_7P$, требуемое: (M) 554,2. ^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD) δ 5,1, 4,9.

^1H ЯМР (500 МГц, CH_3OD) δ 8,27 (с, 0,5H, H8), 8,24 (с, 0,5H, H8), 8,22 (с, 0,5H, H2), 8,21 (с, 0,5H, H2), 7,37-7,26 (м, 7H, Ph), 7,22-7,13 (м, 3H, Ph), 6,02 (д, J=1,8 Гц, 0,5H, H1'), 6,00 (д, J=1,8 Гц, 0,5H, H1'), 5,14-5,11 (м, 2H, OCH_2Ph), 4,73-4,64 (м, 2H, H2', H4'), 4,50-4,39 (м, 1H, H5'), 4,36-4,24 (м, 1H, H5'), 3,53-3,71 (м, 2H, CH_2 gly), 2,39-2,25 (м, 1H, H3'), 2,13-2,02 (м, 1H, H3').

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD) δ 172,30 (д, $^3J_{C-P}$=5, 0 Гц, C=O), 172,27 (д, $^3J_{C-P}$=5,0 Гц, C=O), 157,34 (C6), 157,32 (C6), 153,88 (C2), 153,87 (C2), 152,08 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, C-Ar), 152,05 (д, $^3J_{C-P}$ =7,5 Гц, C-Ar), 150,20 (C4), 150,19 (C4), 140,52 (C8), 140,42 (C8), 137,15 (C-Ar), 130,79 (CH-Ar), 129,57 (CH-Ar), 129,55 (CH-Ar), 129,35 (CH-Ar), 129,34 (CH-Ar), 129,33 (CH-Ar), 126,22 (CH-Ar), 121,44 (д, J_{C-P}=3,7 Гц, CH-Ar), 121,40 (д, J_{C-P}=3,7 Гц, CH-Ar), 120,51 (C5), 120,49 (C5), 93,19, 93,14 (C1'), 80,46 (д, $^3J_{C-P}$ =4,60 Гц, C4'), 80,39 (д, $^3J_{C-P}$=4,60, C4'), 76,66 (C2'), 68,68 (д, $^2J_{C-P}$=5,42 Гц, C5'), 68,24 (д, $^2J_{C-P}$=5,42 Гц, C5'), 67,95 (OCH_2Ph), 67,93 (OCH_2Ph), 43,90 (CH_2 gly), 43,83 (CH_2 gly), 34,83 (C3'), 34,54 (C3').

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=200 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 13,63 мин. и tR 13,41 мин.

(2S)-Пентил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-4-метилпентаноат D



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (76 мкл, 0,95 ммоль) и раствор (2S)-пентил 2-((хлор(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-4-метилпентаноата (250 мг, 0,6 ммоль) в безводном ТГФ (1 мл) добавляли по каплям к суспензии 3'-дезоксиаденозин (48 мг, 19 ммоль) в безводном ТГФ (5 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 5/95) и препаративной ТСХ (1000 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 4/96) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (27 мг, 22%).

МС (ES+) m/z: Найдено: 641,3 ($M+H^+$), 663,3 ($M+Na^+$), 1303,6 (2M+Na+). $C_{31}H_{41}N_6O_7P$, требуемое: (M) 640,3. ^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD) δ 4,64, 4,37.

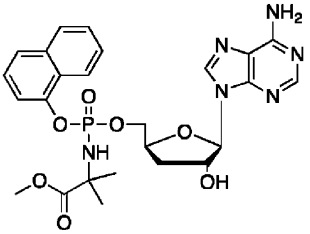
^1H ЯМР (500 МГц, CH_3OD) δ 8,28 (с, 0,5H, H-8), 8,25 (с, 0,5H, H-8), 8,21 (с, 0,5H, H-2), 8,20 (с, 0,5H, H-2), 8,17-8,12 (м, 1H, Nap), 7,88-7,83 (м, 1H, Nap), 7,69-7,66 (м, 1H, Nap), 7,54-7,42 (м, 3H, Nap), 7,40-7,35 (м, 1H, Nap), 7,31-7,26 (м, 5H, Ar), 6,01 (д, J=2,1 Гц, 0,5H, H1'), 6,00 (д, J=2,1 Гц, 0,5H, H1'), 4,47-4,67 (м, 2H, H2', H4'), 4,55-4,44 (м, 1H, H5'), 4,43-4,31 (м, 1H, H5'), 4,00-3,87 (м, 3H, CH leu, CH_2 Pen), 2,44-2,30 (м, 1H, H3'), 2,14-2,04 (м, 1H, H3'), 1,66-1,39 (м, 5H, CH_2CH leu, CH_2 Pen), 1,1,28-1,21 (м, 4H, CH_2CH_2 Pen), 0,86-0,81 (м, 3H, CH_3 Pen), 0,81-0,68 (м, 6H, $(CH_3)_2$ leu).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD) δ 175,42 (д, $^3J_{C-P}$=2,5 Гц, C=O), 175,04 (д, $^3J_{C-P}$=2,5 Гц, C=O), 157,32 (C6), 153,87 (C2), 153,86 (C2), 150,23 (C4), 147,97 (д, $^3J_{C-P}$=6,2 Гц, 'ipso' Nap), 140,55 (C8), 136,30 (C-Ar), 136,29 (C-Ar), 128,89 (CH-Ar), 128,84 (CH-Ar), 127,95 (C-Ar), 127,91 (C-Ar), 127,84 (C-Ar), 127,78 (CH-Ar), 127,76 (CH-Ar), 127,46 (CH-Ar), 126,50 (C-Ar), 126,48 (C-Ar), 126,46 (C-Ar), 126,01 (CH-Ar), 125,91 (CH-Ar), 122,80 (CH-Ar), 122,70 (CH-Ar), 120,58 (C5), 120,56 (C5), 116,40 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, CH-Ar), 116,01 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, CH-Ar), 93,31 (C1'), 93,27 (C1'), 80,35 (д, $^3J_{C-P}$=3,5 Гц, C4'), 80,29 (д, $^3J_{C-P}$=3,5 Гц, C4'), 76,54 (C2'), 76,50 (C2'), 69,07 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C5'), 68,85 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C5'), 66,33 (CH_2 pent), 66,32 (CH_2 pent), 54,81 (CH leu), 54,71 (CH leu), 44,22 (д, $^3J_{C-P}$=7,6 Гц, CH_2 leu), 43,93 (д, $^3J_{C-P}$=7,6 Гц, CH_2 leu), 35,15

(C3'), 34,86 (C3'), 29,32 (CH_2 pent), 29,30 (CH_2 pent), 29,11 (CH_2 pent), 25,67 (CH leu), 25,45 (CH leu), 23,30 (CH_2 pent), 23,12 (CH_3 leu), 23,02 (CH_3 leu), 22,04 (CH_3 leu), 21,78 (CH_3 leu), 14,28 (CH_3 pent).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=200 нм, показывала один пик из двух перекрывающихся диастереоизомеров с tR 20,84 мин.

Метил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)-метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-2-метилпропаноат E



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (24 мкл, 3,0 ммоль) и раствор метил 2-((хлор(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-2-метилпропаноата (612 мг, 1,8 ммоль) в безводном ТГФ (1 мл) добавляли по каплям к суспензии 3'-дезоксиаденозина (150 мг, 0,6 ммоль) в безводном ТГФ (15 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 7/93) и препаративной ТСХ (1000 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 4/96) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (20 мг, 6%).

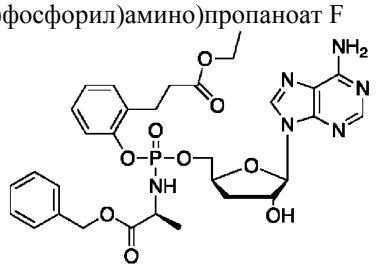
МС (ES+) m/z: Найдено: 557,2 ($M+H^+$), 579,2 ($M+Na^+$), 1135,4 (2M+Na+). $C_{25}H_{29}N_6O_7P$, требуемое: (M) 556,51. ^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD) δ 2,73.

^1H ЯМР (500 МГц, CH_3OD) δ 8,28 (с, 0,5H, H8), 8,25 (с, 0,5H, H8), 8,21 (с, 0,5H, H2), 8,19 (с, 0,5H, H2), 8,18-8,14 (м, 1H, Nap), 7,90-7,84 (м, 1H, Nap), 7,71-7,66 (м, 1H, Nap), 7,53-7,47 (м, 3H, Nap), 7,41-7,35 (м, 1H, Nap), 6,03 (д, J=2,l Гц, 0,5H, H1'), 5,99 (д, J=2,1 Гц, 0,5H, H1'), 4,76-4,67 (м, 2H, H2', H4'), 4,52-4,44 (м, 1H, H5'), 4,42-4,33 (м, 1H, H5'), 3,65 (с, 1,5H, OCH_3), 3,64 (с, 1,5H, OCH_3), 2,48-2,41 (м, 0,5H, H3'), 2,37-2,30 (м, 0,5H, H3'), 2,15-2,09 (м, 0,5H, H3'), 2,08-2,02 (м, 0,5H, H3'), 1,47-1,44 (м, 6H, CH_3).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD) δ 177,25 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 157,53 (C6), 157,51 (C6), 153,86 (C2), 150,28 (C4), 150,25 (C4), 148,06 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, 'ipso' Nap), 148,04 (д, $^3J_{C-P}$=7,5, 'ipso' Nap), 140,67 (C8), 140,60 (C8), 136,28 (C-Ar), 136,27 (C-Ar), 128,82 (CH-Ar), 128,80 (CH-Ar), 127,93 (д, $^2J_{C-P}$=6,25 Гц, C-Ar), 127,92 (д, $^2J_{C-P}$=6,25 Гц, C-Ar), 127,71 (CH-Ar), 127,69 (CH-Ar), 127,32 (CH-Ar), 126,44 (CH-Ar), 125,84 (CH-Ar), 122,93 (CH-Ar), 120,56 (C5), 120,50 (C5), 116,38 (д, $^3J_{C-P}$=3,75 Гц, CH-Ar), 116,36 (д, $^3J_{C-P}$=3,75 Гц, CH-Ar), 93,25 (C1'), 80,40 (д, $^3J_{C-P}$=8,0 Гц, C4'), 80,33 (д, $^3J_{C-P}$=8,0 Гц, C4'), 76,57 (C2'), 76,43 (C2'), 68,99 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C5'), 68,84 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C5'), 53,01 (OCH_3), 35,22 (C-3'), 34,90 (C3'), 27,85 (д, $^3J_{C-P}$=6, 0 Гц, CH_3), 27,80 (д, $^3J_{C-P}$=6,0, CH_3), 27,60 (д, $^3J_{C-P}$=6,0, CH_3), 27,56 (д, $^3J_{C-P}$=6,0, CH_3).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала два пика с tR 16,51 мин, tR 16,75 мин.

(2S)-Бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(2-(3-этокси-3-оксопропил)фенокси)фосфорил)амино)пропаноат F



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (32 мкл, 4,2 ммоль) и раствор (2S)-бензил 2-((хлор(2-(3-этокси-3-оксопропил)фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (1,14 г, 2,5 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл) добавляли по каплям к суспензии 3'-дезоксиаденозина (210 мг, 0,84 ммоль) в безводном ТГФ (10 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система $CH_3OH/CHCl_3$ от 0/100 до 8/92) и препаративной ТСХ (1000 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (123 мг, выход=22%).

МС (ES+) m/z: Найдено: 669,3 ($M+H^+$), 691,3 ($M+Na^+$), $C_{31}H_{37}N_6O_9P$, требуемое: (M) 668,63.

^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD): δP 3,95, 3,65.

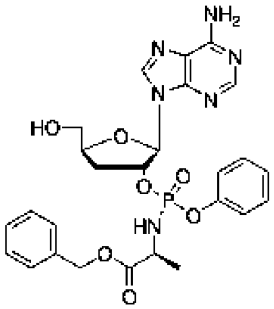
^1H ЯМР (500 МГц, CH_3OD): δH 8,25 (с, 0,5H, H8), 8,21 (с, 1H, H8, H2), 8,20 (с, 0,5H, H2), 7,35-7,29 (м, 6H, Ph), 7,25-7,21 (м, 1H, Ph), 7,16-7,07 (м, 2H, Ar), 6,00 (д, J=1,9 Гц, 0,5H, H1'), 5,98 (д, J=1,9 Гц, 0,5H, H1'), 5,17-5,05 (м, 2H, OCH_2Ph), 4,76-4,73 (м, 0,5H, H2'), 4,70-4,59 (м, 1,5H, H2', H4'), 4,45-4,34 (м, 1H, H5'), 4,30-4,22 (м, 1H, H5'), 4,08-3,96 (м, 3H, CH_2CH_3, CH ala), 2,98-2,92 (м, 2H, CH_2CH_2), 2,62-2,56 (м, 2H,

CH_2CH_2), 2,40-2,29 (м, 1H, H3'), 2,11-2,03 (м, 1H, H3'), 1,36 (д, J=6,9 Гц, 1,5 H, CH_3 ala), 1,33 (д, J=6,9 Гц, 1,5 H, CH_3 ala), 1,17 (t, J=7,0 Гц, 1,5 H, CH_2CH_3), 1,16 (t, J=7,0 Гц, 1,5 H, CH_2CH_3).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD): δC 174,82 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 174,62 (C=O), 174,58 (C=O), 174,55 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 157,34 (C6), 157,32 (C6), 153,86 (C2), 153,84 (C2), 150,48 (д, J_{C-P}=2,5 Гц, C-Ar), 150,44 (C4), 150,22 (д, J_{C-P}=2,5 Гц, C-Ar), 140,49 (C8), 137,29 (C-Ar), 137,21 (C-Ar), 133,09 (д, J=7,5 Гц, C-Ar), 132,94 (д, J=7,5 Гц, C-Ar), 131,62 (CH-Ar), 131,59 (CH-Ar), 129,58 (CH-Ar), 129,34 (CH-Ar), 129,31 (CH-Ar), 129,28 (CH-Ar), 128,70 (д, J=5,0 Гц, CH-Ar), 128,69 (д, J=5,0 Гц, CH-Ar), 126,18 (CH-Ar), 121,02 (д, J=2,5 Гц, CH-Ar), 120,49 (д, J=2,5 Гц, CH-Ar), 120,58 (C5), 93,28 (C1'), 93,24 (C1'), 80,32 (д, $^3J_{C-P}$=8,7 Гц, C4'), 76,57 (C2'), 68,86 (д, $^2J_{C-P}$=5,0 Гц, C5'), 68,53 (д, $^2J_{C-P}$=5,0 Гц, C5'), 67,98 (OCH_2Ph), 67,95 (OCH_2Ph), 61,57 (CH_2CH_3), 51,76 (CH ala), 51,65 (CH ala), 35,37 (CH_2CH_2), 35,30 (CH_2CH_2), 35,08 (C3'), 34,85 (C3'), 26,77 (CH_2CH_2), 26,72 (CH_2CH_2), 20,55 (д, $^3J_{C-P}$ =6,2 Гц, CH_3 ala), 20,33 (д, $^3J_{C-P}$=6,2 Гц, CH_3 ala), 14,53 (CH_2CH_3).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=245 нм, показывала один пик с tR 15,99 мин.

(2S)-Бензил 2-(((((2R,3R,5S)-2-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат G



Используя общий способ 3, описанный выше, 3'-дезоксиаденозин (50 мг, 0,20 ммоль) суспендировали в безводном ТГФ (5 мл) и добавляли по каплям при комнатной температуре трет-BuMgCl (1,0 M раствор в ТГФ, 0,22 мл, 0,22 ммоль). Добавляли по каплям раствор (2S)-бензил 2-((хлор(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (212 мг, 0,6 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 8/92) и препаративной ТСХ (500 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2=5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (6 мг, 5%).

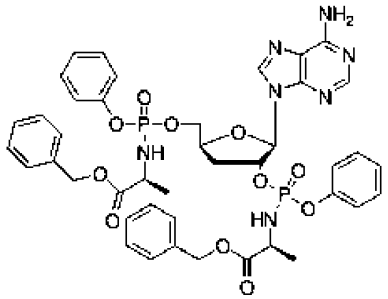
МС (ES+) m/z: Найдено: 569,2 ($M+H^+$), 591,2 ($M+Na^+$), 1159,4 (2M+Na+). $C_{26}H_{29}N_6O_7P$, требуемое: (M) 568,2.

^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD): δP 2,44 (c), 2,92 (c). ^{1}H ЯМР (500 МГц, CH_3OD): δH 8,41 (c, 0,5H, H8), 8,28 (c, 0,5 H, H8), 8,19 (c, 0,5H, H2), 8,18 (c, 0,5H, H2), 7,39-7,30 (м, 4H, Ar), 7,28-7,18 (м, 4H, Ar), 7,17-7,11 (м, 1H, Ar), 7,08-7,03 (м, 1H, Ar), 6,23 (д, J=2,0 Гц, 0,5H, H1'), 6,08 (д, J=3,4 Гц, 0,5H, H1'), 5,52-5,43 (м, 1H, C2'), 5,19-5,12 (м, 1H, CH_2Ph), 5,07-4,95 (м, 1H, CH_2Ph), 4,48-4,42 (м, 1H, H4'), 4,05-3,97 (м, 1H, CH ala), 3,95-3,87 (м, 1H, H5'), 3,69-3,61 (м, 1H, H5'), 2,59-2,45 (м, 1H, H3'), 2,31-2,23 (м, 1H, H3'), 1,36-1,27 (м, 3H, CH_3 ala).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OH): δC 174,76 (д, $^3J_{C-P}$=5,0 Гц, C=O), 174,52 (д, $^3J_{C-P}$=5,0 Гц, C=O), 157,44 (C6), 153,76 (C2), 151,93 (C4), 150,06 (C-Ar), 149,93 (C-Ar), 141,38 (C8), 141,18 (C8), 137,33 (C-Ar), 137,10 (C-Ar), 130,69 (CH-Ar), 130,79 (CH-Ar), 129,61 (CH-Ar), 129,51 (CH-Ar), 129,40 (CH-Ar), 129,30 (CH-Ar), 129,23 (CH-Ar), 126,33 (CH-Ar), 126,16 (CH-Ar), 121,53 (д, $^3J_{C-P}$=4,5 Гц, CH-Ar), 121,20 (д, $^3J_{C-P}$=4,5 H, CH-Ar), 120,76 (C5), 91,56 (д, $^3J_{C-P}$=7,7 Гц, C1'), 91,45 (д, $^3J_{C-P}$=7,7 Гц, C1'), 82,78 (C4'), 82,28 (C4'), 81,83 (д, $^2J_{C-P}$=4,7 Гц, C2'), 80,96 (2×d, $^2J_{C-P}$=4,7 Гц, C2'), 67,95 (OCH_2Ph), 67,92 (OCH_2Ph), 64,13 (C5'), 63,59 (C5'), 51,88 (CH ala), 51,75 (CH ala), 33,75 (д, $^3J_{C-P}$=3,0 Гц, C3'), 33,59 (д, $^3J_{C-P}$=3,0 Гц, C3'), 20,33 (д, $^3J_{C-P}$=7,1 CH_3 ala), 20,18 (д, $^3J_{C-P}$=7,1 CH_3 ala).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3OH от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 22,16 мин. и tR 22,43 мин.

Бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-((((1-(бензилокси)-1-оксопропан-2-ил)амино)(фенокси)фосфорил)окси)тетрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)-амино)пропаноат H



Используя общий способ 3, описанный выше, 3'-дезоксиаденозин (50 мг, 0,20 ммоль) суспендировали в безводном ТГФ (5 мл) и добавляли по каплям при комнатной температуре трет-BuMgCl (1,0 М раствор в ТГФ, 0,22 мл, 0,22 ммоль). Добавляли по каплям раствор (2S)-бензил 2-((хлор(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (212 мг, 0,6 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 8/92) и препаративной ТСХ (500 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (19 мг, выход=11%).

МС (ES+) m/z, Найдено: 886,3 ($M+H^+$), 1771,6 ($2M+H^+$), 751,2 (молекула без нуклеиновой основы М). $C_{42}H_{45}N_7O_{11}P_2$, требуемое: (М+) 885,3.

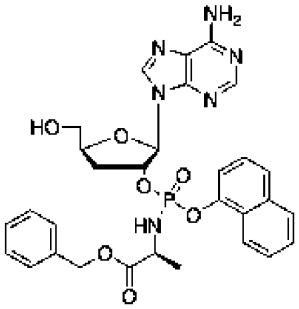
^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD): δP 3,98, 3,88, 3,59, 3,12, 3,05, 2,45, 2,32.

^{1}H ЯМР (500 МГц, CH_3OD): δH 8,24-8,13 (м, 2H, H8, H2), 7,39-7,08 (м, 20H, Ph), 6,27-6,23 (м, 0,5H, H1'), 6,16-6,13 (м, 0,5H, H1'), 5,61-5,48 (м, 1H, H2'), 5,17-4,91 (м, 4H, CH_2Ph), 4,57-4,49 (м, 1H, H4'), 4,41-4,29 (м, 1H, H5'), 4,25-4,15 (м, 1H, H5'), 4,10-4,01 (м, 1H, CH ala), 3,99-3,89 (м, 1H, CH ala), 2,57-2,41 (м, 1H, H3'), 2,28-2,17 (м, 1H, H3'), 1,38-1,23 (м, 6H, CH_3 ala).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD): δC 174,88 (C=O), 174,83 (C=O), 174,79 (C=O), 174,73 (C=O), 174,61 (C=O), 174,57 (C=O), 174,53 (C=O), 157,36 (C6), 157,34 (C6), 157,32(C6), 157,29 (C6), 154,04 (C2), 154,01 (C2), 153,97 (C2), 153,94 (C2), 152,09 (C4), 152,04 (C4), 152,02 (C4), 151,97 (C4), 150,31 (C-Ar), 150,29 (C-Ar), 150,16 (C-Ar), 140,98 (C8), 140,91 (C8), 140,81 (C8), 137,31 (C-Ar), 137,28 (C-Ar), 137,22 (C-Ar), 137,09 (C-Ar), 130,86 (CH-Ar), 130,78 (CH-Ar), 130,77 (CH-Ar), 129,65 (CH-Ar), 129,61 (CH-Ar), 129,58 (CH-Ar), 129,55 (CH-Ar), 129,44 (CH-Ar), 129,42 (CH-Ar), 129,38 (CH-Ar), 129,34 (CH-Ar), 129,32 (CH-Ar), 129,30 (CH-Ar), 129,28 (CH-Ar), 129,23 (CH-Ar), 129,21 (CH-Ar), 12,42 (CH-Ar), 126,23 (CH-Ar), 126,20 (CH-Ar), 126,17 (CH-Ar), 121,65 (CH-Ar), 121,63 (CH-Ar), 121,61 (CH-Ar), 121,59 (CH-Ar), 121,52 (CH-Ar), 121,50 (CH-Ar), 121,47 (CH-Ar), 121,46 (CH-Ar), 121,40 (CH-Ar), 121,39 (CH-Ar), 121,36 (CH-Ar), 121,35 (CH-Ar), 121,30 (CH-Ar), 121,28 (CH-Ar), 121,26 (CH-Ar), 121,24 (CH-Ar), 120,61 (C5), 120,57 (C5), 120,56 (C5), 120,54 (C5), 91,56 (C1'), 91,51 (C1'), 91,45 (C1'), 91,25 (C1'), 91,20 (C1'), 81,84 (C2'), 81,82 (C2'), 81,79 (C2'), 81,27 (C2'), 81,22 (C2'), 81,18 (C2'), 80,49 (C4'), 80,43 (C4'), 80,06 (C4'), 79,99 (C4'), 68,29 (C5', OCH_2Ph), 68,25 (C5', OCH_2Ph), 68,00 (C5', OCH_2Ph), 67,96 (C5', OCH_2Ph), 67,94 (C5', OCH_2Ph), 67,90 (C5', OCH_2Ph), 67,71 (C5', OCH_2Ph), 67,67 (C5', OCH_2Ph), 51,91 (CH ala), 51,74 (CH ala), 51,70 (CH ala), 51,59 (CH ala), 34,22 (C3'), 34,20 (C3'), 34,16 (C3'), 33,97 (C3'), 33,94 (C3'), 33,91 (C3'), 20,44 (CH_3 ala), 20,43 (CH_3 ala), 20,39 (CH_3 ala), 20,29 (CH_3 ala), 20,27 (CH_3 ala), 20,24 (CH_3 ala), 20,21 (CH_3 ala), 20,19 (CH_3 ala).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала один широкий пик с tR 15,97 мин.

(2S)-Бензил 2-(((((2R,3R,5S)-2-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ил)окси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноат I



Используя общий способ 3, описанный выше, 3'-дезоксиаденозин (50 мг, 0,20 ммоль) суспендировали в безводном ТГФ (5 мл) и при комнатной температуре добавляли по каплям трет-BuMgCl (1,0 М раствор в ТГФ, 0,3 мл, 0,3 ммоль). Добавляли по каплям раствор (2S)-бензил 2-((хлор(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноата (323 мг, 0,8 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии

(элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (500 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (14 мг, 11%).

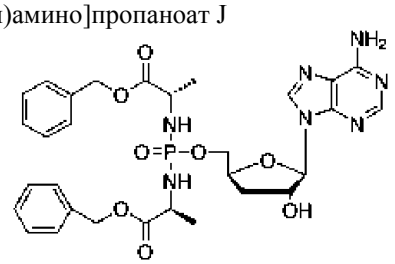
(ES+) m/z, Найдено: 619,2 (M+H+), 641,2 ($M+Na^+$), 1259,4 ($2M+Na^+$). $C_{30}H_{31}N_6O_7P$, требуемое: (M) 618,20.

^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD): δP 3,27 (с), 2,75 (с). ^1H ЯМР (500 МГц, CH_3OD): δH 8,37 (с, 1H, H8), 8,18 (с, 1H, H8), 8,14 (с, 1H, H2), 8,13-8,11 (м, 0,5 H, Nap) 8,11 (с, 1H, H2), 7,94-7,90 (м, 0,5 H, Ar), 7,90-7,87 (м, 0,5 H, Ar), 7,86-7,82 (м, 0,5 H, Ar), 7,74-7,70 (м, 0,5 H, Ar), 7,66-7,61 (м, 0,5 H, Ar), 7,57-7,47 (м, 1,5 H, Ar), 7,46-7,37 (м, 2,5 H, Ar), 7,34-7,27 (м, 4H, Ar), 7,25-7,17 (м, 1H, Ar), 6,19 (д, J=2,4 Гц, 0,5H, H1'), 6,04 (д, J=2,4 Гц, 0,5H, H1'), 5,60-5,54 (м, 0,5H, H2'), 5,50-5,42 (м, 0,5H, H2'), 5,16-4,99 (м, 2H, OCH_2Ph), 4,46-4,40 (м, 0,5H, H4'), 4,36-4,30 (м, 0,5H, H4'), 4,13-4,04 (м, 1H, CH ala), 3,90-3,83 (м, 1H, H5'), 3,64-3,56 (м, 1H, H5'), 2,61-2,54 (м, 0,5H, H3'), 2,49-2,41 (м, 0,5H, H3'), 2,35-2,27 (м, 0,5H, H3'), 2,22-2,16 (м, 0,5H, H3'), 1,35-1,24 (м, 3H, CH_3 ala).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OH): δC 174,52 (C=O), 174,49 (C=O), 157,27 (C6), 153,58 (C2), 149,97 (C4), 149,93 (C-4), 147,70 (д, $^3J_{C-P}$=7,5, 'ipso' Nap), 147,48 (д, $^3J_{C-P}$=7,5, 'ipso' Nap), 141,36 (C8), 141,19 (C8), 137,25 (C-Ar), 137,05 (C-Ar), 136,31 (C-Ar), 136,20 (C-Ar), 129,58 (CH-Ar), 129,48 (CH-Ar), 129,37 (CH-Ar), 129,26 (CH-Ar), 129,22 (CH-Ar), 128,88 (CH-Ar), 127,84 (CH-Ar), 127,75 (CH-Ar), 127,49 (CH-Ar), 127,44 (CH-Ar), 126,48 (CH-Ar), 126,39 (CH-Ar), 126,26 (CH-Ar), 126,05 (CH-Ar), 122,76 (CH-Ar), 122,38 (CH-Ar), 120,68 (C5), 120,61 (C5), 116,64 (д, $^3J_{C-P}$=3,75 Гц, CH-Ar), 116,13 (д, $^3J_{C-P}$=3,75, CH-Ar), 91,60 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, C1'), 91,43 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, C1'), 82,74 (C4'), 82,27 (C4'), 81,99 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C2'), 81,12 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C2'), 67,97 (OCH_2Ph), 67,94 (OCH_2Ph), 64,16 (C5'), 63,51 (C5'), 51,96 (CH ala), 51,89 (CH ala), 33,89 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, CH_3 ala), 33,63 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, CH_3 ala).

ВЭЖХ Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3OH от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=200 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 24,84 мин. и tR 25,43 мин.

Бензил 2-[({[5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксиоксолан-2-ил]метокси}({[1-(бензилокси)-1-оксопропан-2-ил]амино})фосфорил)амино]пропаноат J



Используя общий способ 2, описанный выше, 3'-дезоксиаденозин (2 00 мг, 0,80 ммоль) суспендировали в $(CH_3)_3PO_3$ (5 мл), и при температуре -5°C добавляли по каплям $POCl_3$ (75 мкл, 0,80 ммоль). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и оставляли перемешиваться в течение 4 ч. Добавляли раствор (S)-1-(бензилокси)-1-оксопропан-2-аминия 4-метилбензолсульфоната (1,4 г, 4,0 ммоль), растворенный в безводном CH_2Cl_2 (5 мл), затем диизопропилэтиламин (1,4 мл, 8,0 ммоль) при температуре -78°C. После перемешивания при комнатной температуре в течение 20 ч добавляли воду, и слои разделяли. Водную фазу экстрагировали дихлорметаном, и органическую фазу промывали насыщенным солевым раствором. Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (градиентное элюирование смесью CH_2Cl_2/MeOH= от 100/0 до 93/7) с получением белой пены (256 мг, 49%).

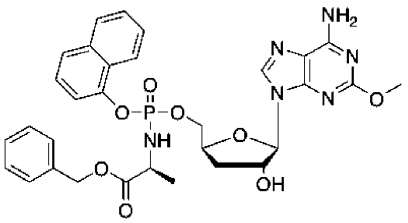
МС (ES+) m/z: Найдено: 654,2 ($M+H^+$), 676,2 ($M+Na^+$), 1329,5 (2M+Na+). $C_{30}H_{36}N_7O_8P$, требуемое: (M) 653,62. ^{31}P ЯМР (202 МГц, CH_3OD) δ 13,9.

^1H ЯМР (500 МГц, CH_3OD) δ 8,28 (с, 1H, H8), 8,22 (с, 1H, H2), 7,37-7,26 (м, 10H, Ph), 6,00 (д, J=1,9 Гц, 1H, H1'), 5,15-5,05 (м, 4H, OCH_2Ph), 4,74-4,70 (м, 1H, H2'), 4,63-4,56 (м, 1H, H4'), 4,24-4,18 (м, 1H, H5'), 4,11-4,05 (м, 1H, H5'), 3,97-3,87 (м, 1H, CH ala), 2,35-2,27 (м, 1H, H3'), 2,07-2,01 (м, 1H, H3'), 1,34-1,27 (м, 3H, CH_3 ala).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD) δ 175,40 (д, $^3J_{C-P}$=5,0 Гц, C=O), 175,36 (д, $^3J_{C-P}$=5,0 Гц, C=O), 157,36 (C6), 153,91 (C2), 150,25 (C4), 140,64 (C8), 137,33 (C-Ar), 137,29 (C-Ar), 129,58 (CH-Ar), 129,57 (CH-Ar), 129,33 (CH-Ar), 129,31 (CH-Ar), 129,29 (CH-Ar), 120,55 (C5), 93,18 (C1'), 80,67 (д, $^3J_{C-P}$=8,4 Гц, C4'), 76,59 (C2'), 67,90 (OCH_2Ph), 67,47 (д, $^2J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 51,14 (д, $^2J_{C-P}$=1,7 Гц, CH ala), 51,11 (д, $^2J_{C-P}$=1,7 Гц, CH ala), 35,08 (C3'), 20,77 (д, $^3J_{C-P}$=6,5 Гц, CH_3 ala), 20,59 (д, $^3J_{C-P}$=6,5 Гц, CH_3 ala).

ВЭЖХ Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала один пик с tR 13,87 мин.

(2S)-Бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-метокси-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксиетрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфориламино)пропаноат K



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (99 мкл, 1,24 ммоль) и раствор (2S)-бензил 2-((хлор(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноата (303 мг, 0,75 ммоль) в безводном ТГФ (5 мл) добавляли по каплям к суспензии 2-О-метил-3'-дезоксиаденозина (70 мг, 0,25 ммоль) в безводном ТГФ (10 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (96 мг, 60%).

МС (ES+) m/z: Найдено: 649,2 ($M+H^+$) $C_{31}H_{33}N_6O_8P$, требуемое: 648,21(M).

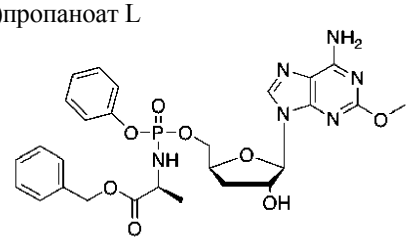
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 4,38 (с), 4,08 (с).

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,14-8,11 (д, J=8,0 Гц, 0,5H, Ar), 8,07 (д, J=8,0 Гц, 0,5H, Ar), 8,05 (с, 0,5H, H8), 8,02 (с, 0,5H, H8), 7,82-7,80 (м, 1H, Ar), 7,61 (д, J=7,0 Гц, Ar), 7,47-7,44 (м, 4H, Ar), 7,35-7,29 (м, 2H, Ar), 7,24-7,22 (м, 3H, Ar), 5,88 (с, 1H, H1'), 4,71-4,68 (м, 1H, H4'), 4,65-6,60 (м, 1H, H2'), 4,42-4,40 (м, 1H, H5'), 4,30-4,27 (м, 1H, H5'), 4,08-3,98 (м, 1H, CH ala) 3,88 (с, 1,5H, OCH_3), 3,86 (с, 1,5H, OCH_3), 2,37-2,33 (м, 1H, H3'), 2,04-2,01 (м, 1H, H3'), 1,27 (д, J=7,0 Гц, 1,5H, CH_3), 1,24 (д, J=7,0 Гц, 1,5H, CH_3).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CH_3OD): δC 174,83 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 174,60 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 163,70 (C-2), 158,10 (C6), 151,95 (C4), 147,95 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, 'ipso' Nap), 147,91, (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, 'ipso' Nap), 139,39 (C8), 139,37 (C8), 137,12, 137,17 (C-ipso CH_2Ph), 136,22 (C-Ar), 129,57, 129,54, 129,48, 129,32, 129,27, 129,12, 129,24 128,89, 128,83, (CH-Ar), 127,85 (д, $^2J_{C-P}$=6,25 Гц, C-Ar), 127,86, 127,76, 127,51, 127,48, 126,49, 126,00, 125,97, 122,73, 122,63 (CH-Ar), 116,86 (C5), 116,72 (C5), 116,29 (д, $^3J_{C-P}$=3,75 Гц, CH-Ar), 116,22 (д, $^3J_{C-P}$=3,75 Гц, CH-Ar), 93,33 (C1'), 93,31(C1'), 80,24 (д, $^3J_{C-P}$=2,75 Гц, C4'), 76,29 (C2'), 76,26 (C2'), 69,09 (д, $^2J_{C-P}$=5,0 Гц, C5'), 68,16 (д, $^2J_{C-P}$=8,2 Гц, C5'), 67,95 (OCH_2Ph), 55,28, 55,32 (OCH_3), 51,79 (CH ala), 51,71 (CH ala), 35,40 (C-3'), 35,12 (C3'), 20,49 (д, $^3J_{C-P}$=6,7 Гц, CH_3 ala), 20,35 (д, $^3J_{C-P}$=6,7, CH_3 ala).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=280 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 16,22 мин. и tR 16,48 мин.

(2S)-Бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-метокси-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксиетрагидрофуран-2-ил) метокси)(фенокси)фосфориламино)пропаноат L



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (99 мкл, 1,24 ммоль) и раствор (2S)-бензил 2-((хлор(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат (264 мг, 0,75 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл) добавляли по каплям к суспензии 2-О-метил-3'-дезоксиаденозина (70 мг, 0,25 ммоль) в безводном ТГФ, и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (13 мг, 10%).

(ES+) m/z, Найдено: 599,2 ($M+H^+$), $C_{27}H_{31}N_6O_8P$, требуемое: 598,19 (M).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD) δ 3,97, 3,64.

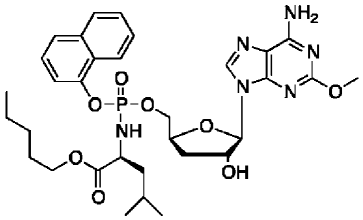
^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δ 8,06 (с, 0,5H, H8), 8,04 (с, 0,5H, H8), 7,33-7,28 (м, 7H, Ph), 7,20-7,14 (м, 3H, Ph), 5,92 (д, J=1,5 Гц, 0,5H, H1'), 5,90 (д, J=1,5 Гц, 0,5H, H1'), 5,14-5,04 (м, 2H, OCH_2Ph), 4,78-4,76 (м, 0,5H, H4'), 4,74-4,72 (м, 0,5H, H4'), 4,63-4,59 (м, 1H, H2'), 4,10-4,34 (м, 1H, H5'a), 4,25-4,20 (м, 1H, H5'b), 3,94, 3,95 (OCH_3), 3,99-3,90 (м, 1H, CH ala), 2,40-2,37 (м, 1H, H3'), 2,07-2,04 (м, 1H, H3'), 1,31 (д, J=7,0 Гц, CH_3), 1,26 (д, J=7,0 Гц, CH_3).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD) δ 174,82 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 174,62 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 163,80 (C-2), 158,16, 158,13 (C6), 152,15 (C4), 152,05 (д, $^3J_{C-P}$=4,8 Гц, C-ipso Ph), 152,00 (д, $^3J_{C-P}$=4,8 Гц, C-ipso Ph), 139,39 (C8), 137,30, 137,21 (C-ipso CH_2Ph), 130,72, 129,57, 129,31,129,27, 126,122 (CH-Ar), 121,42 (д, J_{C-P}=4,5 Гц, CH-Ar), 121,37 (д, J_{C-P}=4,5 Гц, CH-Ar), 116,72 (C5), 116,69 (C5), 93,33, 93,24 (C1'), 80,26 (д, $^3J_{C-P}$=8,87, C4'), 80,19 (д, $^3J_{C-P}$=8,87, C4'), 76,35 (C2'), 68,78 (д, $^2J_{C-P}$=5,0 Гц, C5'), 68,35 (д, $^2J_{C-P}$=5,0 Гц, C5'),

67,94 (OCH_2Ph), 67,92 (OCH_2Ph), 55,25, 55,28 (OCH_3), 51,69, 51,57 (CH ala), 35,23 (C3'), 34,96 (C3'), 20,38 (д, $^3J_{C-P}$=6,7, CH_3 ala), 20,26 (д, $^3J_{C-P}$=6,7, CH_3 ala).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=280 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 14,22 мин. и tR 14,51 мин.

2-O-Метил-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(1-пентилокси-L-лейцинил)]фосфат M



Соединение M получали в соответствии с общим способом 1, используя 2-O-метил-3'-дезоксиаденозин (70 мг, 0,25 ммоль), N-метилимидазол (99 мкл, 1,24 ммоль) и нафтил(пентилокси-L-лейцинил)фосфорохлоридат (330 мг, 0,75 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система с градиентом смеси CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (2000 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 7/93) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (50 мг, 30%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD) δP 4,53, 4,28.

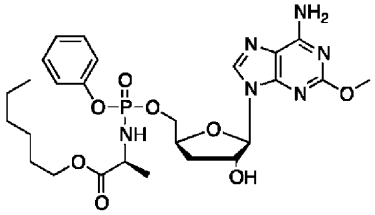
^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δH 8,04-7,96 (м, 1H, H8), 7,77-7,71 (м, 1H, Nap), 7,58-7,53 (м, 1H, Nap), 7,45-7,17 (м, 5H, Nap), 5,83-5,75 (м, 1H, H1'), 4,64-4,51 (м, 2H, H2', H4'), 4,40-4,16 (м, 2H, H5'), 3,88-3,75 (м, 6H, OCH_3, $O(CH_2)_4CH_3$, $CHCH_2CH(CH_3)_2$), 2,38-2,24 (м, 1H, H3'), 2,00-1,91 (м, 1H, H3'), 1,53-1,05 (м, 11H, $O(CH_2)_4CH_3$, $CHCH_2CH(CH_3)_2$), 0,77-0,55 (м, 9H, $O(CH_2)_4CH_3$, $CHCH_2CH(CH_3)_2$).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD) δC 175,02 (д, $^3J_{C-P}$=2,5 Гц, C=O), 174,78 (д, $^3J_{C-P}$=2,5 Гц, C=O), 163,76 (C2), 158,14 (C6), 151,03 (C4), 147,96 (д, $^3J_{C-P}$=7,2, 'ipso' Nap), 138,96 (C8), 136,30 (C-Ar), 136,28 (C-Ar), 136,22 (C-Ar), 128,93 (CH-Ar), 128,88 (CH-Ar), 128,81 (CH-Ar), 128,48 (CH-Ar), 127,77 (CH-Ar), 127,73 (CH-Ar), 127,44 (CH-Ar), 127,42 (CH-Ar), 127,06 (CH-Ar), 126,86 (CH-Ar), 126,45 (CH-Ar), 126,44 (CH-Ar), 126,31 (CH-Ar), 125,98 (CH-Ar), 125,88 (CH-Ar), 123,83 (CH-Ar), 123,43 (CH-Ar), 123,24 (CH-Ar), 122,81 (CH-Ar), 122,77 (CH-Ar), 122,69 (CH-Ar), 116,34 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, CH-Ar), 116,02 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, CH-Ar), 115,71 (C5), 93,42 (C1'), 93,32 (C1'), 80,22 (д, $^3J_{C-P}$=5,3 Гц, C4'), 80,15 (д, $^3J_{C-P}$=5,3 Гц, C4'), 76,29 (C2'), 76,27 (C2'), 69,22 (д, $^2J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 69,028 (д, $^2J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 66,31 (O $(CH_2)_4CH_3$), 66,30 ($O(CH_2)_4CH_3$), 55,29 (OCH_3), 55,24 (OCH_3), 54,79 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 54,68 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 44,20 (д, $^3J_{C-P}$=7,25 Гц, $CHCH_2CH(CH_3)_2$), 43,93 (д, $^3J_{C-P}$=7,25 Гц, $CHCH_2CH(CH_3)_2$), 35,49 (C3'), 35,17 (C3'), 29,31 ($O(CH_2)_4CH_3$), 29,11 ($O(CH_2)_4CH_3$), 25,67 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 25,44 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 23,30 ($O(CH_2)_4CH_3$), 23,10 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 23,00 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 22,94 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 22,81 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 14,27 (O $(CH_2)_4CH_3$).

(ES+) m/z, Найдено: 671,3 (M+H+), $C_{32}H_{43}N_6O_8P$, требуемое: 670,69 (M).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 20,83 мин. и tR 20,93 мин.

2-O-Метил-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[фенил (1-гексилокси-L-аланинил)]фосфат N



Соединение N получали в соответствии с общим способом 1, используя 2-O-метил-3'-дезоксиаденозин (70 мг, 0,25 ммоль), N-метилимидазол (99 мкл, 1,24 ммоль) и фенил(гексилокси-L-аланинил)фосфорохлоридат (261 мг, 0,75 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система с градиентом смеси CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (1000 мкМ, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 7/93) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (26 мг, 18%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD) δP 3,87, 3,65.

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δH 8,08 (с, 0,5H, H8), 8,07 (с, 0,5H, H8), 7,36-7,29 (м, 2H, Ph), 7,24-7,14 (м, 3H, Ph), 5,94 (д, J=2,0 Гц, 0,5H, H1'), 5,92 (д, J=2,0 Гц, 0,5H, H1'), 4,81-4,76 (м, 1H, H2'), 4,71-4,62 (м, 1H, H4'), 4,48-4,43 (м, 0,5H, H5'), 4,42-4,36 (м, 0,5H, H5'), 4,33-4,25 (м, 1H, H5'), 4,10-3,83 (м, 6H, OCH_3, $O(CH_2)_5CH_3$, $CHCH_3$), 2,48-2,40 (м, 1H, H3'), 2,13-2,07 (м, 1H, H3'), 1,61-1,51 (м, 2H, $O(CH_2)_5CH_3$), 1,33-1,24 (м, 9H, $O(CH_2)_5CH_3$, $CHCH_3$), 0,89 (м, 3H, $O(CH_2)_5CH_3$).

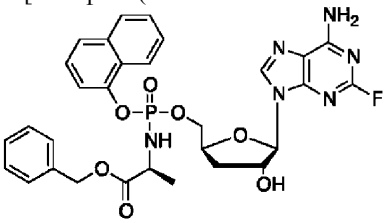
^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD) δC 175,13 (д, $^3J_{C-P}$=4,3 Гц, C=O), 174,94 (д, $^3J_{C-P}$=4,3 Гц, C=O), 163,80

(C2), 163,78 (C2), 158,17 (C6), 158,15 (C6), 152,17 (д, $^2J_{C-P}$=6,3 Гц, C-Ar), 152,15 (д, $^2J_{C-P}$=6,3 Гц, C-Ar), 152,03 (C4), 151,99 (C4), 139,42 (C8), 139,39 (C8), 130,75 (CH-Ar), 130,74 (CH-Ar), 126,13 (CH-Ar), 121,43 (CH-Ar), 121,41 (CH-Ar), 121,39 (CH-Ar), 121,37 (CH-Ar), 116,74 (C5), 116,69 (C5), 93,40 (C1'), 93,27 (C1'), 80,30 (C4'), 80,23 (C4'), 76,40 (C2'), 68,85 (д, $^2J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 68,42 (д, $^2J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 66,43 ($O(CH_2)_5CH_3$), 55,30 (OCH_3), 55,26 (OCH_3), 51,64 ($CHCH_3$), 51,54 ($CHCH_3$), 35,30 (C3'), 35,04 (C3'), 32,58 ($O(CH_2)_5CH_3$), 29,67 ($O(CH_2)_5CH_3$), 29,64 (O $(CH_2)_5CH_3$), 26,61 ($O(CH_2)_5CH_3$), 23,59 ($O(CH_2)_5CH_3$), 20,56 (д, $^3J_{C-P}$=6,4 Гц, $CHCH_3$), 20,41 (д, $^3J_{C-P}$=6,4 Гц, $CHCH_3$), 14,36 (O $(CH_2)_5CH_3$).

(ES+) m/z, Найдено: 593,3 ($M+H^+$), $C_{32}H_{43}N_6O_8P$, требуемое: 592,58 (M).

ВЭЖХ Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 17,02 мин. и tR 17,23 мин.

2-Фтор-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат O



Соединение O получали в соответствии с общим способом 1, используя 2-фтор-3'-дезоксиаденозин (50 мг, 0,18 ммоль), N-метилимидазол (74 мкл, 0,93 ммоль) и фенил(бензилокси-L-аланинил) фосфорохлоридат (196 мг, 0,56 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система с градиентом смеси CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (500 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (5 мг, 4%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD) δP 4,33, 4,08.

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δH 8,17 (c, 0,5H, H8), 8,14 (c, 0,5H, H8), 8,14-8,09 (м, 1H, Ar), 7,89-7,85 (м, 1H, Ar), 7,70-7,66 (м, 1H, Ar), 7,54-7,42 (м, 4H, Ar), 7,40-7,24 (м, 5H, Ar), 5,89 (д, J=2,3 Гц, 0,5H, H1'), 5,88 (д, J=2,3 Гц, 0,5H, H1'), 5,08-5,01 (м, 2H, OCH_2Ph), 4,70-4,60 (м, 2H, H2', C4'), 4,46-4,39 (м, 1H, C5'), 4,32-4,24 (м, 1H, C5'), 4,09-3,97 (м, 1H, $CHCH_3$), 2,36-2,25 (м, 1H, H3'), 2,06-1,98 (м, 1H, H3'), 1,32-1,25 (м, 3H, $CHCH_3$).

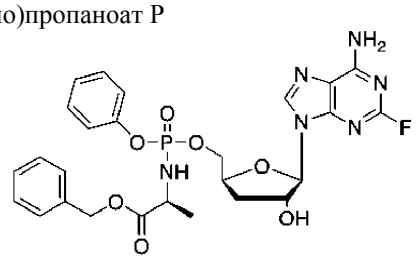
^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD) δC 175,54 (CO), 175,22 (CO), 161,02 (д, $^1J_{C-F}$=207,3 Гц, C2), 160,89 (д, $^1J_{C-F}$=207,3 Гц, C2), 158,45 (д, $^3J_{C-F}$=18,2 Гц, C6), 158,23 (д, $^3J_{C-F}$=18,2 Гц, C6), 150,63 (д, $^3J_{C-F}$=18,4 Гц, C4), 140,67 (C8), 136,26 (C-Ar), 131,62, 131,54, 129,56 (CH-Ar), 129,52 (CH-Ar), 129,37 (CH-Ar), 129,31 (CH-Ar), 129,26 (CH-Ar), 128,87 (CH-Ar), 128,81 (CH-Ar), 128,29 (CH-Ar), 128,02 (CH-Ar), 127,79 (CH-Ar), 127,76 (CH-Ar), 127,51 (CH-Ar), 127,49 (CH-Ar), 127,47 (CH-Ar), 126,47 (CH-Ar), 126,33 (C-Ar), 126,27 (C-Ar), 125,97 (CH-Ar), 122,78 (CH-Ar), 122,74 (CH-Ar), 122,64 (CH-Ar), 122,62 (CH-Ar), 116,35 (д, $^4J_{C-F}$=3,0 Гц, C5), 116,15 (д, $^4J_{C-F}$=3,0 Гц, C5), 93,25 (C1'), 93,20 (C1'), 80,41 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, C4'), 80,33 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, C4'), 76,43 (C2'), 76,35 (C2'), 68,84 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C5'), 68,45 (д, $^2J_{C-P}$=5,5 Гц, C5'), 67,92 (OCH_2Ph), 67,92 (OCH_2Ph), 51,75 ($CHCH_3$), 51,52 ($CHCH_3$), 34,97 (C3'), 34,74 (C3'), 20,42 (д, $^3J_{C-P}$=6,7 Гц, $CHCH_3$), 20,20 (д, $^3J_{C-P}$=6,7 Гц, $CHCH_3$).

^{19}F ЯМР (470 МГц, CD_3OD) δF -53,14, -53,22.

(ES+) m/z, Найдено: 637,2 ($M+H^+$), $C_{30}H_{30}FN_6O_7P$, требуемое: 636,57 (M).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 17,09 мин. и tR 17,34 мин.

(2S)-Бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителтрагидрофуран-2-ил) метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат P



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (74 мкл, 0,93 ммоль) и раствор (2S)-бензил 2-((хлор(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (196 мг, 0,56 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл) добавляли по каплям к суспензии 2-фтор-3'-дезоксиаденозина (50 мг, 0,18 ммоль) в безводном ТГФ (5 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (5 мг, 7%).

(ES+) m/z, Найдено: 587,1 ($M+H^+$), $C_{26}H_{28}FN_6O_7P$, требуемое: 586,17 (M).

^{19}F ЯМР (470 МГц, CD_3OD): δF -53,17, -53,23.

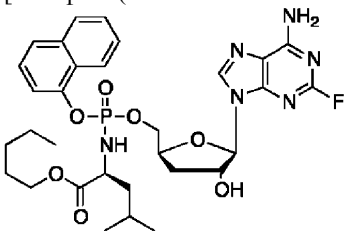
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 3,95 (с), 3,67 (с).

^{1}H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$): δH 8,19 (с, 0,5H, H8), 8,16 (с, 0,5H, H8), 7,36-7,27 (м, 7H, Ar), 7,22-7,13 (м, 3H, Ar), 5,91 (д, J=1,5 Гц, 0,5H, H1'), 5,89 (д, J=1,7 Гц, 0,5H, H1'), 5,15-5,06 (м, 2H, OCH_2Ph), 4,73-4,58 (м, 2H, H2', H4'), 4,42-4,34 (м, 1H, H5'), 4,02-3,90 (м, 1H, H5'), 3,27-3,24 (м, 1H, H3'), 2,08-2,00 (м, 1H, H3'), 1,33 (д, J=7,1 Гц, 1,5H, CH_3 ala), 1,29 (д, J=7,1 Гц, 1,5H, CH_3 ala).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 175,85 (д, $^{3}J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 174,63 (д, $^{3}J_{C-P}$=5,0 Гц, C=O), 160,58 (д, $^{1}J_{C-F}$=207,5 Гц, C2), 160,53 (д, $^{1}J_{C-F}$=207,5 Гц, C2), 159,06 (д, $^{3}J_{C-F}$=18,7 Гц, C6), 159,05 (д, $^{3}J_{C-F}$=17,5 Гц, C6), 152,11 (д, $^{2}J_{C-P}$=8,75 Гц, C-Ar), 152,08 (д, $^{2}J_{C-P}$=8,7 Гц, C-Ar), 151,58 (д, $^{3}J_{C-F}$=19,7 Гц, C4), 151,56 (д, $^{3}J_{C-F}$=19,5 Гц, C4), 140,63 (C8), 137,28 (C-Ar), 137,21 (C-Ar), 130,78 (CH-Ar), 130,75 (CH-Ar), 129,58 (CH-Ar), 129,38 (CH-Ar), 129,34 (CH-Ar), 129,32 (CH-Ar), 129,28 (CH-Ar), 128,3 (CH-Ar), 128,02 (CH-Ar), 121,16 (CH-Ar), 121,18 (CH-Ar), 121,47 (CH-Ar), 121,51 (CH-Ar), 121,42 (CH-Ar), 121,39 (CH-Ar), 121,36 (CH-Ar), 118,75 (д, $^{4}J_{C-F}$=3,7 Гц, C5), 118,72 (д, $^{4}J_{C-F}$=3,7 Гц, C5), 93,25 (C1'), 93,18 (C1'), 80,48 (д, $^{3}J_{C-P}$=8,3 Гц, C4'), 80,46 (д, $^{3}J_{C-P}$=8,1 Гц, C4'), 76,51 (C2'), 76,49 (C2'), 68,54 (д, $^{2}J_{C-P}$=5,2 Гц, C5'), 68,18 (д, $^{2}J_{C-P}$=5,6 Гц, C5'), 67,94 (CH_2 Bn), 67,91 (CH_2 Bn), 51,71 (CH ala), 51,56 (CH ala), 34,85 (C3'), 34,64 (C3'), 20,42 (д, $^{3}J_{C-P}$=7,1 Гц, CH_3 ala), 20,25 (д, $^{3}J_{C-P}$=7,5 Гц, CH_3 ala).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=280 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 14,98 мин. и tR 15,12 мин.

2-Фтор-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(1-пентилокси-L-лейцинил)]фосфат Q



Соединение Q получали в соответствии с общим способом 1, используя 2-Фтор-3'-дезоксиаденозин (50 мг, 0,18 ммоль), N-метилимидазол (74 мкл, 0,93 ммоль) и нафтил(пентилокси-L-лейцинил) фосфорохлоридат (24 6 мг, 0,56 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система $CH_3OH/CHCl_3$ от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (1000 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (65 мг, 53%). ^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): 4,60, 4,35.

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,23 (с, 0,5H, H8), 8,20 (с, 0,5H, H8), 8,18-8,12 (м, 1H, Ar), 7,92-7,86 (м, 1H, Ar), 7,73-7,68 (м, 1H, Ar), 7,57-7,46 (м, 3H, Ar), 7,42-7,36 (м, 1H, Ar), 5,93-5,91 (м, 1H, H1'), 4,74-4,62 (м, 2H, H2', H4'), 4,55-4,50 (м, 0,5H, H5'), 4,49-4,44 (м, 0,5H, H5'), 4,43-4,37 (м, 0,5H, H5'), 4,36-4,31 (м, 0,5H, H5'), 4,02-3,86 (м, 3H, $CHCH_2CH(CH_3)_2$, $O(CH_2)_4CH_3$), 2,43-2,29 (м, 1H, H3'), 2,12-2,04 (м, 1H, H3'), 1,67-1,20 (м, 11H,$O(CH_2)_4CH_3$, $CHCH_2CH(CH_3)_2$), 0,89-0,67 (м, 9H, $O(CH_2)_4CH_3$, $CHCH_2CH(CH_3)_2$).

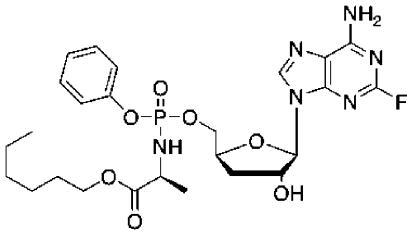
^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 175,03 (д, $^{3}J_{C-P}$=2,5 Гц, C=O), 174,93 (д, $^{3}J_{C-P}$=2,5 Гц, C=O), 161,45 (д, $^{1}J_{C-F}$=205,5 Гц, C2), 160,39 (д, $^{1}J_{C-F}$=205,5 Гц, C2), 158,33 (C6), 151,60 (C4), 147,92 (C-Ar), 140,69 (C8), 136,30 (C-Ar), 128,88 (CH-Ar), 128,83 (CH-Ar), 127,80 (CH-Ar), 127,76 (CH-Ar), 127,49 (CH-Ar), 127,46 (CH-Ar), 126,48 (CH-Ar), 126,45 (CH-Ar), 126,02 (CH-Ar), 125,91 (CH-Ar), 123,03 (C-Ar), 122,81 (CH-Ar), 122,69 (CH-Ar), 116,39 (д, $^{3}J_{C}$-p=2,9 Гц, CH-Ar), 116,28 (C5), 116,26 (C5), 115,97 (д, $^{3}J_{C-P}$=2,9 Гц, CH-Ar), 93,29 (C1'), 93,23 (C1'), 80,45 (д, $^{3}J_{C-P}$=6,0 Гц, C4'), 80,38 (д, $^{3}J_{C-P}$=6,0 Гц, C4'), 76,45 (C2'), 76,41 (C2'), 68,99 (д, $^{2}J_{C-P}$=5,4 Гц, C5'), 68,78 (д, $^{2}J_{C-P}$=5,4 Гц, C5'), 66,31 ($O(CH_2)_4CH_3$), 66,29 ($O(CH_2)_4CH_3$), 54,78 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 54,66 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 44,16 (д, $^{3}J_{C-P}$=7,25 Гц, $CHCH_2CH(CH_3)_2$), 43,84 (д, $^{3}J_{C-P}$=7,3 Гц, $CHCH_2CH(CH_3)_2$), 35,09 (C3'), 34,79 (C3'), 29,31 ($O(CH_2)_4CH_3$), 29,12 ($O(CH_2)_4CH_3$), 25,65 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 25,41 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 23,33 ($O(CH_2)_4CH_3$), 23,11 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 23,00 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 21,95 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 21,68 ($CHCH_2CH(CH_3)_2$), 14,29 ($O(CH_2)_4CH_3$).

^{19}F ЯМР (470 МГц, CD_3OD): δF -53,15, -53,20.

(ES+) m/z, Найдено: 659,3 ($M+H^+$), $C_{31}H_{40}FN_6O_7P$, требуемое: 658, 66 (M).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=254 нм, показывала один пик перекрывающихся диастереоизомеров с tR 21,95 мин.

(2S)-Гексил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил) метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат R



Используя общий способ 1, описанный выше, N-метилимидазол (74 мкм, 0,93 ммоль) и раствор (2S)-гексил 2-((хлор(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (196 мг, 0,56 ммоль) в безводном ТГФ (2 мл) добавляли по каплям к суспензии 2-фтор-3'-дезоксиаденозина (50 мг, 0,18 ммоль) в безводном ТГФ (5 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (5 мг, 7%).

(ES+) m/z, Найдено: 587,1 (M+H+), $C_{26}H_{28}FN_6O_7P$, требуемое: 586,17 (M).

^{19}F ЯМР (470 МГц, CD_3OD): δF -53,15, -53,20.

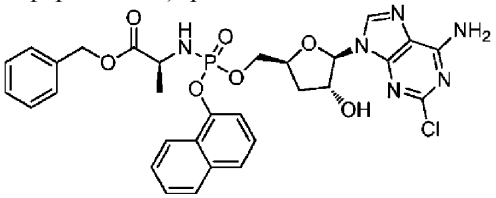
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): 3,91 (с), 3,73 (с).

^1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$): δH 8,21 (с, 0,5H, H8), 8,20 (с, 0,5H, H8), 7,37-7,29 (м, 7H, Ar), 7,26-7,13 (м, 3H, Ar), 5,94-5,91 (м, 1H, H1'), 4,76-4,64 (м, 2H, H2', H4'), 4,49-4,44 (м, 0,5H, H5'), 4,43-4,37 (м, 0,5H, H5'), 4,33-4,26 (м, 1H, H5'), 4,11-3,99 (м, 2H, CH_2 Hex), 3,97-3,83 (м, 1H, CH ala), 2,41-2,32 (м, 1H, H3'), 2,13-2,06 (м, 1H, H3'), 1,62-1,52 (м, 2H, CH_2 Hex), 1,37-1,23 (м, 9H, CH_3 ala, CH_2 Hex), 0,92-0,85 (м, 3H, CH_3 Hex).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 175,15 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C=O), 174,96 (д, $^3J_{C-P}$=5,0 Гц, C=O), 160,59 (д, $^1J_{C-F}$=207,5 Гц, C2), 160,56 (д, $^1J_{C-F}$=207,5 Гц, C2), 159,09 (д, $^3J_{C-F}$=21,2 Гц, C6), 159,08 (д, $^3J_{C-F}$=20,0 Гц, C6), 152,16 (д, $^2J_{C-P}$=7,5 Гц, C-Ar), 152,14 (д, $^2J_{C-P}$=6,3 Гц, C-Ar), 151,71 (д, $^3J_{C-F}$=20,0 Гц, C4), 151,67 (д, $^3J_{C-F}$=20,0 Гц, C4), 140,70 (д, $^5J_{C-F}$=2,5 Гц, C8), 140,68 (д, $^5J_{C-F}$=2,5 Гц, C8), 130,77 (CH-Ar), 130,74 (CH-Ar), 126,16 (CH-Ar), 126,24 (CH-Ar), 121,48 (CH-Ar), 121,44 (CH-Ar), 121,41 (CH-Ar), 121,37 (CH-Ar), 118,80 (д, $^4J_{C-F}$=3,1 Гц, C5), 118,77 (д, $^4J_{C-F}$ =3,7 Гц, C5), 93,37 (C1'), 93,25 (C1'), 80,52 (д, $^3J_{C-P}$=3,7 Гц, C4'), 80,45 (д, $^3J_{C-P}$=4,1 Гц, C4'), 76,52 (C2'), 76,49 (C2'), 68,69 (д, $^2J_{C-P}$=5,4 Гц, C5'), 68,30 (д, $^2J_{C-P}$=4,9 Гц, C5'), 66,46 (CH_2 Hex), 51,68 (CH ala), 51,57 (CH ala), 35,02 (C3'), 34,80 (C3'), 32,58 (CH_2 Hex), 29,65 (CH_2 Hex), 26,61 (CH_2 Hex), 23,59 (CH_2 Hex), 20,60 (д, $^3J_{C-P}$=7,1 Гц, CH_3 ala), 20,43 (д, $^3J_{C-P}$=7,5 Гц, CH_3 ala), 14,35 (CH_3 Hex).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, 1 мл/мин, l=280 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 17,83 мин. и tR 18,02 мин.

(2R)-Бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил) метокси)(нафталин-1-илокси)фосфориламино)пропаноат S



В перемешиваемый раствор 2-хлор-3'-дезоксиаденозина (100 мг, 1,0 моль/экв.) в 10 мл безводного ТГФ добавляли по каплям 424 мг (2S)-бензил 2-(хлор(нафталин-1-илокси)фосфориламино)пропаноата (3,0 экв/моль), растворенный в 10 мл безводного ТГФ. В эту реакционную смесь при комнатной температуре в атмосфере аргона добавляли по каплям 0,14 мл NMI (5 моль/экв.). Реакционную смесь перемешивали в течение 88 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии с градиентом элюента (CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 5/95) с получением желаемого продукта в виде твердого вещества желтого цвета. (7 мг, выход=3%).

МС (ES+) m/z: Найдено: 653 ($M+H^+$), 675 ($M+Na^+$) $C_{30}H_{30}ClN_6O_7P$, требуемое: 652,16 (M);

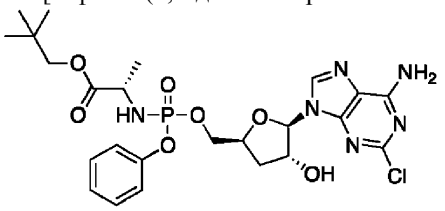
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 4,39 (с), 4,12 (с); ^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,10 (с, 0,5H, H8), 8,07 (с, 0,5H, H8), 8,02-7,97 (м, 3H, CH_2Ph и Naph), 7,43-7,14 (м, 9H, CH_2Ph и Naph), 5,80-5,81 (м, 1H, H1'), 4,89-4,97 (м, 2H, CH_2Ph) 4,49-4,53 (м, 2H, H4' и H2'), 4,30-4,35 (м, 1H, H5'), 4,15-4,21 (м, 1H, H5'), 3,87-3,95 (м, 1H, $CHCH_3$), 2,12-2,23 (м, 1H, H3'), 1,86-1,93 (м, 1H, H3'), 1,14-1,17 (м, 3H, $CHCH_3$);

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 174,85 (д, J_{CP}=4,0 Гц, C=O), 174,55 (д, J_{CP}=4,3 Гц, C=O), 158,07, 158,04 (C6), 155,31, 155,28 (C2), 151,34, 151,31 (C4), 149,69 (C-Ar), 147,96 (д, $^3J_{CP}$=7,25 Гц, C-ipso Naph), 147,90 (д, $^3J_{CP}$=7,0 Гц, C-ipso Naph), 140,70 (C8), 137,21, 137,16 (C-ipso CH_2Ph), 136,26 (C-Ar), 130,92, 130,80, 129,56, 129,53, 129,31, 129,27, 129,25, 128,88, 128,81 (CH-Ar), 127,78 (д, J_{CP}=4,7 Гц, CH-Ar), 127,50 (д, J_{CP}=6,2 Гц, CH-Ar), 126,48, 126,02, 125,97 (CH-Ar), 119,46, 119,42 (C5), 116,33 (д, J_{CP}=3,0, CH-Ar), 116,16 (д, J_{CP}=3,4, CH-Ar), 93,30, 93,27 (C1'), 80,56 (д, J=8,3 Гц, C4'), 80,51 (д, J=8,4 Гц, C4'), 76,61, 76,54

(C2'), 68,74 (д, J_{CP}=5,3 Гц, C5'), 68,54 (д, J_{CP}=5,1 Гц, C5'), 67,93, 67,90 (CH_2Ph), 51,81, 51,70 ($CHCH_3$), 34,79, 34,53 (C3'), 20,42 (д, J_{CP}=6,5 Гц, $CHCH_3$), 20,23 (д, J_{CP}=7,7 Гц, $CHCH_3$).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, l=254 нм, tR 18,03 мин.

2-Хлор-3'дезоксиаденозин 5'-O-[1-фенил(2,2-диметилпропокси-L-аланин)]фосфат T



Соединение T получали в соответствии с общим способом 1, используя 2-хлор-3'-дезоксиаденозин (350 мг, 1,25 ммоль), N-метилимидазол (490 мкл, 6,15 ммоль) и фенил(2,2-диметилпропокси-L-аланинил) фосфорохлоридат (1231 мг, 3,69 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 5/95) и препаративной ТСХ (1000 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 4/96) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (181 мг, 25%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 3,93, 3,72.

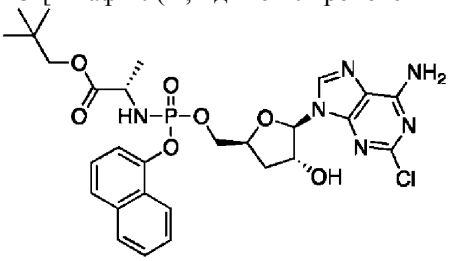
^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,12 (с, 0,5H, H8), 8,10 (с, 0,5H, H8), 7,19-7,23 (м, 2H, Ph), 7,03-7,12 (м, 3H, Ph), 5,84 (д, J=2, 0,5H, H1'), 5,83 (д, J=2, 0,5H, H1'), 4,54-4,60 (м, 2H, H4'and H2'), 4,34-4,38 (м, 0,5H, H5'), 4,27-4,31 (м, 0,5H, H5'), 4,16-4,23 (м, 1H, H5'), 3,80-3,90 (м, 1H, $CHCH_3$), 3,57-3,73 (м, 2H $OCH_2C(CH_3)_3$), 2,18-2,28 (м, 1H, H3'), 1,94-1,99 (м, 1H, H3'), 1,20-1,24 (м, 3H, $CHCH_3$), 0,81 (с, 4,5H $OCH_2(CH_3)_3$), 0,79 (с, 4,5 H $OCH_2C(CH_3)_3$).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 175,09 (д, $^{3}J_{CP}$=4,75 Гц, C=O), 174,90 (д, $^{3}J_{CP}$=5,37 Гц, C=O), 158,10, (C6), 155,31, 155,28 (C2), 152,14 (д, $^{2}J_{CP}$=6,37 Гц, C-ipso Ph), 152,13 (д, $^{2}J_{CP}$=6,25 Гц, C-ipso Ph), 151,33, 151,30 (C4), 140,87, 140,76 (C8), 130,78, 130,77 (CH-Ar), 126,17, 126,42 (CH-Ar), 121,45 (д, $^{3}J_{CP}$=11,75 Гц, CH-Ar), 121,41 (д, $^{3}J_{CP}$=11,75 Гц, CH-Ar), 119,52, 119,48 (C5), 93,49, 93,35 (C1'), 80,67 (д, ^{3}J=8,62 Гц, C4'), 80,65 (д, ^{3}J=8,25 Гц, C4'), 76,70, 76,67 (C2'), 75,43, ($OCH_2C(CH_3)_3$), 68,68 (д, $^{2}J_{CP}$=5,12 Гц, C5'), 68,42 (д, $^{2}J_{CP}$=5,12 Гц, C5'), 51,77, 51,60 ($CHCH_3$), 34,94, 34,67 (C3'), 32,36, 32,32 ($OCH_2C(CH_3)_3$), 26,78, 26,76 ($OCH_2C(CH_3)_3$), 20,83 (д, J_{CP}=6,25 Гц, $CHCH_3$), 20,61 (д, J_{CP}=7,12 Гц, $CHCH_3$).

МС (ES+) m/z: Найдено: 583 ($M+H^+$), 605 ($M+Na^+$) $C_{24}H_{32}ClN_6O_7P$, требуемое: 582,18 (M).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, l=254 нм, tR 16,37, 16,55 мин.

2-Хлор-3'дезоксиаденозин 5'-O-[1-нафтил(2 ,2-диметилпропокси-L-аланин)]фосфат U



Соединение U получали в соответствии с общим способом 1, используя 2-хлор-3'-дезоксиаденозин (350 мг, 1,25 ммоль), N-метилимидазол (4 90 мкм, 6,15 ммоль) и нафтил(2,2-диметилпропокси-L-аланинил)фосфорохлоридат (1416 мг, 3,69 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 5/95) и препаративной ТСХ (1000 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 4/96) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (264 мг, 34%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 4,35, 4,20.

^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,23 (с, 0,5H, H8), 8,21 (с, 0,5H, H8), 8,11-8,16 (м, 1H, Naph), 7,86-7,89 (м, 1H, Naph), 7,69-7,70 (м, 1H, Naph), 7,54-7,46 (м, 3H, Naph), 7,37-7,41 (м, 1H, Naph), 5,95 (д, J=2, 0,5H, H1'), 5,94 (д, J=1,5, 0,5H, H1'), 4,67-4,73 (м, 2 H, H4'and H2'), 4,34-4,55 (м, 2H, H5'), 4,00-4,08 (м, 1H, $CHCH_3$), 3,66-3,81 (м, 2H $OCH_2C(CH_3)_3$), 2,28-2,41 (м, 1H, H3'), 2,03-2,10 (м, 1H, H3'), 1,31-1,34 (м, 3H, $CHCH_3$), 0,90 (с, 4,5H $OCH_2C(CH_3)_3$), 0,89 (с, 4,5H $CH_2(CH_3)_3$).

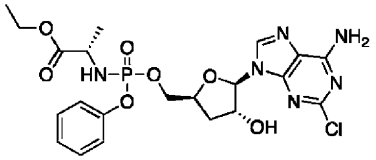
^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 175,11 (д, J_{CP}=4,1 Гц, C=O), 174,85 (д, J_{CP}=5,0 Гц, C=O), 158,10, 158,04 (C6), 155,32, 155,30 (C2), 151,33 (C4), 147,96 (д, $^{2}J_{CP}$=7,25 Гц, C-ipso Naph), 147,93 (д, $^{2}J_{CP}$=7,25 Гц, C-ipso Naph), 140,84, 140,76 (C8), 136,29 (C-Ar), 128,87, 128,82 (CH-Ar), 127,85 (C-Ar), 127,77, 127,74, 127,48, 127,45, 126,47, 125,99, 125,96, 122,74, 122,66 (CH-Ar), 119,47 (C5), 116,29 (д, $^{3}J_{CP}$=3,4 Гц, CH-Ar), 116,17 (д, $^{3}J_{CP}$=2,9 Гц, CH-Ar), 93,42, 93,34 (C1'), 80,57 (д, $^{3}J_{CP}$=8,1 Гц, C4'), 80,53 (д, $^{3}J_{CP}$=5,1 Гц, C4'), 76,61, 76,53 (C2'), 75,41, 75,38 ($OCH_2C(CH_3)_3$), 68,95 (д, $^{2}J_{CP}$=5,3 Гц, C5'), 68,82 (д, $^{2}J_{CP}$=5,2 Гц, C5'), 51,84,

51,73 ($CHCH_3$), 35,04, 34,75 (C3'), 32,29 ($OCH_2C(CH_3)_3$), 26,70 ($OCH_2C(CH_3)_3$), 20,76 (д, $^3J_{CP}$=6,4 Гц, $CHCH_3$), 20,55 (д, $^3J_{CP}$=7,2 Гц, $CHCH_3$).

МС (ES+) m/z: Найдено: 633 ($M+H^+$), 655 ($M+Na^+$) $C_{28}H_{34}ClN_6O_7P$, требуемое: 652,16 (M).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, l=254 нм, tR 19,16 мин.

2-Хлор-3'дезоксиаденозин 5'-O- [1-фенил (этокси-L-аланин)]фосфат V



Соединение V получали в соответствии с общим способом 4, используя 2-хлор-3'-дезоксиаденозин (343 мг, 0,66 ммоль), трет-бутилдиметилсилил хлорид (328 мг, 2,18 ммоль), имидазол (297 мг, 4,36 ммоль). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 12/88) давала промежуточное соединение 1 с количественным выходом. Далее, промежуточное соединение 1 (970 мг, 1,89 ммоль) подвергали взаимодействию с 12 мл раствора ТГФ/H_2O/ТФУ 4/1/1. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 12/88) давала промежуточное соединение 2 (544 мг, 72%). Затем промежуточное соединение 2 (204 мг, 0,51 ммоль) подвергали взаимодействию с трет-бутилмагний хлоридом и раствором фенил(этилокси-L-аланинил) фосфорохлоридата (348,56 мг, 1,02 ммоль) в безводном ТГФ (5 мл). Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 8/92) давала промежуточное соединение 3 (93 мг, 28%). В конце промежуточное соединение 3 (93 мг, 0,14 ммоль) подвергали взаимодействию с раствором ТГФ/ТФУ/H_2O 1/1/1 (3 мл). Очистка с помощью препаративной ТСХ (2000 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 4/96) давала указанное в заголовке соединение в виде твердого вещества белого цвета (50 мг, 66%). (Общий выход 13%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 3,93, 3,72.

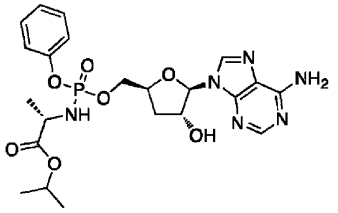
^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,12 (с, 0,5H, H8), 8,11 (с, 0,5H, H8), 7,18-7,23 (м, 2H, Ph), 7,03-7,12 (м, 3H, Ph), 5,85 (д, J=1,5, 0,5H, H1'), 5,84 (д, J=2, 0,5H, H1'), 4,55-4,62 (м, 2H, H4'and H2'), 4,34-4,38 (м, 0,5H, H5'), 4,28-4,32 (м, 0,5H, H5'), 4,16-4,22 (м, 1H, H5'), 3,93-4,03 (м, 2H, OCH_2CH_3), 3,70-3,84 (м, 1H, $CHCH_3$), 2,20-2,28 (м, 1H, H3'), 1,95-1,99 (м, 1H, H3'), 1,15-1,21 (м, 3H, $CHCH_3$), 1,06-1,11 (м, 3H, OCH_2CH_3).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δC 173,66 (д, $^3J_{CP}$=4,5 Гц, C=O), 173,65 (д, $^3J_{CP}$=5,3 Гц, C=O), 156,68, 156,70 (C6), 153,93, 153,88 (C2), 150,72 (д, $^2J_{CP}$=6,7 Гц, C-ipso Ph), 150,71 (д, $^2J_{CP}$=6,5 Гц, C-ipso Ph), 149,89, 149,94 (C4), 139,41, 139,35 (C8), 129,33 (CH-Ar), 124,74, 124,73 (CH-Ar), 120,03 (д, $^3J_{CP}$=4,75 Гц, CH-Ar), 119,97 (д, $^3J_{CP}$=4,87 Гц, CH-Ar), 118,07, 118,03 (C5), 92,02, 91,88 (C1'), 79,26, 79,19 (C4'), 75,26, 75,24 (C2'), 67,18 (д, $^2J_{CP}$=5,25 Гц, C5'), 66,81 (д, $^2J_{CP}$=5, 12 Гц, C5'), 60,96 (OCH_2CH_3), 50,23, 50,12 ($CHCH_3$), 33,46, 33,21 (C3'), 19,16 (д, $^3J_{CP}$=6,3 Гц, $CHCH_3$), 18,97 (д, $^3J_{CP}$=7,2 Гц, $CHCH_3$), 13,10, 13,07 (OCH_2CH_3).

МС (ES+) m/z: Найдено: 541 ($M+H^+$), 563 ($M+Na^+$), $C_{21}H_{26}ClN_6O_7P$, требуемое: 540 (M).

ВЭЖХ. Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, l=254 нм, tR 12,41, 12,83 мин.

(2S)-Изопропил-2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино) пропаноат W



N-Метилимидазол (240 мкм, 5 ммоль) и раствор (2S)-изопропил 2-((хлор(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (546 мг, 3 ммоль) в безводном ТГФ (5 мл) добавляли по каплям к суспензии (2R,3R,5S)-2-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-ола (150 мг, 0,6 ммоль) в безводном ТГФ (3 мл), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Очистка с помощью колоночной хроматографии (элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 от 0/100 до 6/94) и препаративной ТСХ (2000 мкм, элюентная система CH_3OH/CH_2Cl_2 5/95) давала желаемое соединение в виде твердого вещества белого цвета (40 мг, 13%).

МС (ES+) m/z: Найдено: 521,2 ($M+H^+$), 543,3 ($M+Na^+$), 1063,4 (2M+Na+). $C_{31}H_{33}N_6O_8P$, требуемое: 520,18(M).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δP 3,99 (с), 3,82 (с). ^{1}H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δH 8,16 (с, 0,5H, H8), 8,15 (с, 0,5H, H8), 8,11 (с, 1H, H-2) 7,23-7,20 (м, 2H, Ph), 7,11-7,03 (м, 3H, Ph), 5,91 (д, J=2,0 Гц, 0,5H, H1'),

5,90 (д, J=2,0 Гц, 0,5H, H1'), 4,85-4,79 (м, 1H, $CH(CH_3)_2$, 4,64-4,63 (м, 1H, H4'), 4,60-6,57 (м, 1H, H2'), 4,37-4,33 (м, 1H, H5'), 4,31-4,28 (м, 1H, H5'), 3,74-4,22-4,17 (м, 1H, H5'), 3,70 (м, 1H, CH ala), 2,02-1,97 (м, 1H, H3'), 2,04-2,01 (м, 1H, H3'), 1,18-1,14 (м, 3H, CH_3), 1,24 (м, 6H, $CH(CH_3)_2$) ВЭЖХ Обращенно-фазовая ВЭЖХ с элюированием смесью H_2O/CH_3CN от 100/10 до 0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=200 нм, показывала два пика диастереоизомеров с tR 11,58 мин. и tR 11,92 мин.

Растворители и реагенты. Следующие безводном растворители были приобретены у компании Sigma-Aldrich: дихлорметан (CH_2Cl_2), триметилфосфат ($(CH_3O)_3PO$). Коммерчески доступные сложные эфиры аминокислот были приобретены у компании Sigma-Aldrich. Все коммерчески доступные реагенты были использованы без дополнительной очистки.

Тонкослойная хроматография (ТСХ). Предварительно покрытые пластины с алюминиевой подложкой (60 F254, толщина 0,2 мм, Merck) визуализировали как в коротком, так и в длинноволновом ультрафиолетовом свете (254 и 366 нм) или путем сжигания, используя следующие индикаторы ТСХ: i) молибдат аммония церий сульфат; (Ii) раствор перманганата калия. Препаративные пластины ТСХ (20×20 см, 500-2000 мкм) были приобретены у компании Merck.

Колоночная флэш-хроматография. Колоночную флэш-хроматографию осуществляли, используя силикагель, поставляемый компанией Fisher (60A, 35-70 мкм). Стеклянные колонки набивали взвесью, используя соответствующий элюент с загрузкой образца в виде концентрированного раствора в том же элюенте или предварительно адсорбированный на силикагеле. Фракции, содержащие продукт, идентифицировали с помощью ТСХ и объединяли, и растворитель удаляли в вакууме.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Чистота целевых соединений по результатам анализа ВЭЖХ была установлена как составляющая >95%, используя либо I) ThermoSCIENTIFIC, SPECTRA SYSTEM P4000, детектор SPECTRA SYSTEM UV2000, Varian Pursuit XRs 5 C18, 150×4,6 мм (в качестве аналитической колонки), либо II) Varian Prostar (детектор LC Workstation-Varian Prostar 335 LC), Thermo SCIENTIFIC Hypersil Gold C18, 5 мк, 150×4,6 мм (в качестве аналитической колонки). Способ элюирования см. в экспериментальной части.

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР). ^{1}H ЯМР (500 МГц), ^{13}C ЯМР (125 МГц), ^{31}P ЯМР (202 МГц) и ^{19}F ЯМР (470 МГц) регистрировали на спектрометре Bruker Avance 500 МГц при 25°C. Химические сдвиги (δ) приведены в миллионных долях (м.д.) относительно внутреннего стандарта MeOH-d_4 (δ 3,34 ^{1}H-ЯМР, δ 49,86 ^{13}C-ЯМР) и $CHCl_3$-d_4 (δ 7,26 ^{1}H ЯМР, δ 77,36 ^{13}C ЯМР) или внешнего стандарта 85% H_3PO_4 (δ 0,00 ^{31}P ЯМР). Константы связывание (J) измеряются в герцах. При отнесении сигналов ЯМР используются следующие сокращения: с (синглет), д (дублет), т (триплет), кв (квартет), м (мультиплет), шир. с (широкий синглет), дд (дублет дублета) дт (дублет триплета), каж. (кажущийся). Отнесение сигналов в ^{1}H ЯМР и ^{13}C ЯМР было выполнено на основе анализа констант связываний и дополнительных двумерных экспериментов (COSY, HSQC, HMBC, PENDANT).

Масс-спектрометрия (МС). Масс-спектры с низким разрешением регистрировали на Bruker Daltonics microTof-LC (ионизация при атмосферном давлении, масс-спектрометрия с электронным распылением) в положительном или отрицательном режимах.

Чистота конечных соединений. Чистота ≥95% всех конечных соединений была подтверждена с помощью ВЭЖХ-анализа.

Пример 2. Цитотоксичность.

Соединения, выступающие в качестве примеров по настоящему изобретению, оценивали на их противораковую активность следующими способами.

Анализы жизнеспособности in vitro проводили для оценки эффектов соединений на жизнеспособность клеток в 7 выбранных клеточных линиях в течение 72 ч, используя анализ CellTiterGlo (CTG, Promega-G7573). Испытания проводили в повторе, обрабатывая соединениями в 9 точках, 3,16 кратное титрование в 96-луночных планшетах в течение ~72 ч. Начальные концентрации соединений составляли 198 мМ. Осуществляли анализ жизнеспособности клеток, используя CellTiterGlo в 96-луночном планшете. Обработку соединением проводили 72 ч в стандартных условиях роста и при дублировании. Соединения растворяли до 40 мМ с оттаиванием 100%. Соединения серийно разводили в 3,16 раз оттаявшим ДМСО, и нагревали до 37°C прежде чем растворять в среде (2+200 мкл). Затем соединения растворяли в среде (среду также нагревали до 37°C). Среду, содержащую соединения, нагревали до 37°C в инкубаторе и затем добавляли соединения в среде в клеточные планшеты (50 мкл+50 мкл), дублируя. Конечные концентрации соединений были от 198 М до 19,9 нМ. Растворимость всех соединений проверяли и снова записывали, затем планшеты сразу переносили на CO_2 инкубатор для тканевой культуры и инкубировали в течение 3 дней. Конечная концентрация ДМСО составляла 0,5%.

Результаты первичного скрининга представлены в табл. II. A представляет собой относительную IC_{50} от 0,1 до 5 мкМ, B представляет собой относительную IC_{50} свыше 5 мкМ и вплоть до 15 мкМ, C представляет собой относительную IC_{50} свыше 15 мкМ и вплоть до 100 мкМ; и D представляет собой относительную IC_{50} свыше 100 мкМ.

Таблица II

Соед.	MOLT-4[a]		KG-1[b]		HL-60[c]		CCRF-CEM[d]		K562[e]	
	IC_{50}[f]	M.I.%[g]	IC_{50}	M.I.%	IC_{50}	M.I.%	IC_{50}	M.I.%	IC_{50}	M.I.%
кордицепин	C	52	C	78	C	88	C	12	C	88
A	A	98	B	92	B	97	A	100	A	92
B	A	100	B	100	B	100	A	100	A	97
C	A	93	D	65	C	82	B	94	B	92
D	A	100	B	100	B	100	B	100	B	99
G	C	75	C	63	C	57	C	65	C	78
H	C	100	C	69	C	80	C	100	C	89
I	C	100	C	93	C	99	C	99	C	87
E	B	97	C	69	C	74	C	90	D	81
J	A	100	C	29	C	98	C	100	C	97
F	A	100	C	98	C	100	S	99	C	91

[a]**MOLT-4**: острый лимфобластный лейкоз; [b]**KG-1**: острый миелогенный лейкоз; [c]**HL-60**: острый промиелоцитраный лейкоз; [d]**CCRF-CEM**: острый лимфобластный лейкоз; [e]**K562**: [хроническая миелобластная лейкемия. [f]IC_{50} мкМ: относительная IC_{50}; [g]**M.I.%**: максимальное процентное ингибирование жизнеспособности клеток.

Таблица II (продолжение)

Соединение	MCF-7[h]		HepG2[i]	
	IC_50	M.I.%	IC_{50}	M.I.%
кордицепин	C	78	C	66
A	A	94	B	76
B	A	99	B	95
C	B	87	C	59
D	A	100	B	99
G	B	97	C	67
H	A	94	B	55
I	B	99	C	90
E	C	78	C	59
J	C	97	C	55
F	B	99	C	84

[h] MCF-7: аденокарцинома молочной железы;
[i] HepG2: гепатоцеллюлярная карцинома.

Часть соединений по изобретению была затем проанализирована на их цитотоксическую активность в более широком множестве различных солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований, используя следующий анализ.

Анализ солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований.

Анализ жизнеспособности in vitro проводили для оценки эффектов соединений на жизнеспособность клеток в выбранных клеточных линиях в течение 72 ч, используя анализ CellTiterGlo (CTG, Promega-G7573). Испытания проводили в повторе, обрабатывая соединениями в 9 точках, 3,16 кратное титрование в 96-луночных планшетах в течение ~72 ч. Начальные концентрации соединений составляли 198 мМ. Осуществляли анализ жизнеспособности клеток, используя CellTiterGlo в 96-луночном планшете. Обработку соединением проводили 72 ч в стандартных условиях роста, дублируя. Соединения растворяли до 40 мМ оттаявшим 100%. Соединения серийно разводили в 3,16 раз оттаявшим ДМСО, и нагревали до 37°С прежде чем растворять в среде (2+200 мкл). После растворения соединений в среде среду, содержащую соединения, нагревали до 37°С в инкубаторе и затем добавляли соединения в среде в клеточные планшеты (50+50 мкл), дублируя. Конечные концентрации соединений были от 198 М до 19,9 нМ. Растворимость всех соединений проверяли и снова записывали, затем планшеты сразу переносили на CO_2 инкубатор для тканевой культуры и инкубировали в течение 3 дней. Конечная концентрация ДМСО составляла 0,5%.

Следующие клеточные линии были исследованы и данные приведены в табл. IV далее.

Таблица III

Культура клеток	Злокачественная опухоль	Культура клеток	Злокачественная опухоль
MOLT-4	Острый лимфобластный лейкоз	HEL92.1.7	Эритролейкоз
CCRFCEM	Острый лимфобластный лейкоз	HL-60	Промиелоцитарный лейкоз
RL	Неходжкинская лимфома	MV4-11	Бифенотипический В-клеточный миеломоноцитарный лейкоз
HS445	Лимфома Ходжкина	HepG2	Гепатоцеллюлярная карцинома
RPMI8226	множественная миелома человека	HT29	Аденокарцинома толстой кишки
K562	Хронический миелогенный лейкоз	BxPC-3	Рак поджелудочной железы
KG-1	Острый миелогенный лейкоз	MCF-7	Аденокарцинома молочной железы
THP-1	Острый моноцитарный лейкоз	MiaPaCa2	Аденокарцинома молочной железы
Z-138	лимфома из клеток мантийной зоны	SW620	Аденокарцинома толстой кишки
NCI-H929	Плазмацитома	Юрката	острый Т-клеточный лейкоз

Результаты дополнительного скрининга представлены в табл. IV-VII. Для табл. IV-VI: A представляет собой абсолютную IC_{50} от 0,1 до 5 мкМ, B представляет собой абсолютную IC_{50} свыше 5 мкМ и до 15 мкМ, C представляет собой абсолютную IC_{50} свыше 15 мкМ и до 100 мкМ; и D представляет собой абсолютную IC_{50} свыше 100 мкМ. Для табл. VII: A представляет собой абсолютную EC_{50} от 0,1 до 5 мкМ, B представляет собой абсолютную EC_{50} свыше 5 и до 15 мкМ, C представляет собой абсолютную EC_{50} свыше 15 и до 100 мкМ; и D представляет собой абсолютную EC_{50} свыше 100 мкМ.

Таблица IV

	CCRFCEM		MOLT-4		KG-1		Jurkat	
Соед.	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%
Кордицепин	D	41	D	46	D	69	D	20
A	A	100	A	90	C	100	A	100
B	A	100	A	98	B	97	A	100
C	B	100	A	92	C	102	B	100
F	A	101	A	98	C	95	A	100
E	A	100	A	98	C	100	B	95

	THP-1		RL		HS445		NCI-H929	
Соед.	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%
Кордицепин	D	-3	D	17	D	2	D	24
A	C	74	A	93	C	98	B	100
B	C	99	A	96	B	96	A	99
C	C	99	B	100	C	102	B	104
F	C	100	B	90	C	92	B	100
E	D	43	B	88	C	85	C	98

	RPMI-8226		MV4-11		HEL92,1,7		K562	
Соед.	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%	IC_{50}	MI%
Кордицепин	D	1	D	1	C	88	C	78

A		B	96		A	99		B	100		A	96
B		B	102		A	99		A	98		A	99
C		C	103		B	106		A	99		B	100
F		C	106		A	100		B	99		A	93
E		C	89		B	101		C	101		B	90

	HL-60			Z138			BxPC-3			HepG2		
Соед.		IC_{50}	MI%		IC_{50}	MI%		IC_{50}	MI%		IC_{50}	MI%
Кордицепин		D	61		B	95		D	22		D	13
A		B	99		C	95		C	81		C	75
B		A	99		B	100		B	90		B	98
C		B	100		B	100		C	99		C	99
F		B	96		C	76		C	78		C	79
E		B	95		C	93		C	71		C	67

	HT29			MCF7			MiaPaCa-2			SW620		
Соед.		IC_{50}	MI%		IC_{50}	MI%		IC_{50}	MI%		IC_{50}	MI%
Кордицепин		D	44		D	77		D	35		D	10
A		B	93		A	99		B	96		C	85
B		B	98		A	96		A	98		B	93
C		C	99		A	102		B	106		C	100
F		C	89		B	103		B	101		C	90
E		C	76		B	89		C	91		C	74

Таблица V

	CCRFCEM			KG-1			K562			MOLT-4		
Соед.		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%
2-OMe-Кордицепин		D	-4		D	1		D	40		D	1
L		C	100		D	92		C	104		C	101
K		B	102		C	99		C	100		C	104
M		B	100		C	102		B	100		B	101
N		C	93		C	96		C	78		C	97

	HT29			MCF7			NCI-H929			RL		
Соед.		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%
2-OMe-Кордицепин		D	19		D	8		D	51		D	0
L		C	81		C	90		C	104		C	97
K		C	98		B	99		B	102		C	104
M		C	100		C	100		B	99		B	100
N		C	69		C	73		C	99		C	88

Таблица VI

	HepG2			HL-60			HT29		
Соед.		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%
2-F-Кордицепин		C	82		B	96		C	73
O		B	83		A	101		C	84
P		B	74		A	100		B	87
Q		A	94		A	99		C	88
R		B	82		A	100		C	92

	CCRFCEM			HEL92,1,7			KG-1		
Соед.		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%
2-F-Кордицепин		C	101		B	99		B	99
O		A	99		A	100		B	99
P		A	99		A	99		A	97
Q		A	101		A	99		B	103
R		A	100		A	99		A	96

	MiaPaCa-2			MCF7			K562		
Соед.		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%		IC_{50}	M.I.%
2-F-Кордицепин		C	100		C	97		C	97
O		A	100		A	95		A	99
P		A	98		A	95		A	97
Q		A	100		A	99		A	100
R		B	98		A	87		B	96

Таблица VII

		BxPC-3-Luc	CCRF-CEM	HEL,92,1,7	HepG2	HL-60	HS445	HT29	K562	KG-1
2-Cl-кордицепин	EC_{50}	D	C	B	D	C	D	D	D	D
	MI%	-1,3	98,1	94,3	31,1	84,4	-1,9	4,4	37,6	4,3
Соед. S	EC_{50}	C	B	B	C	B	C	C	C	C
	MI%	82,6	100	100,4	84,6	101,9	105,9	88,1	101,4	99

		MCF-7	Mia-Pa-Ca-2	MOLT-4	MV4-11	NCI-H929	RL	RPMI-8226	SW620	THP-1	Z-138
2-Cl-кордицепин	EC_{50}	D	D	D	C	B	C	D	D	D	C
	MI%	-0,9	17,7	80,4	100,2	93,6	84,1	29	36,3	24,1	99,5
Соед. S	EC_{50}	C	C	B	B	B	B	C	C	C	C
	MI%	100,9	98,2	100,1	100,9	102,3	100,2	99,6	92,1	97	90,2

Все исследуемые соединения проявляли цитотоксическую активность против тестируемых клеточных линий. В большинстве случаев соединения по изобретению были более сильными, чем исходный нуклеозид, против всех клеточных линий.

Пример 3. Оценка цитотоксичности и активности раковых стволовых клеток.

Проводили дополнительный сравнительный анализ токсичности соединений в линии KG1a клеток острого миелоидного лейкоза (AML) в расширенном диапазоне доз и оценивали относительный эффект соединений на компартмент стволовых клеток лейкоза (LSC) в клеточной линии KG1a во всем диапазоне доз.

Материалы и методы.

Условия для культуры клеток KG1a.

Клеточную линию KG1a поддерживали в среде RPMI (Invitrogen, Paisley, UK), дополненной 100 единиц/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 20% эмбриональной бычьей сыворотки. Затем брали аликвоты клеток (10^5 клеток/100 мкл) в 96-луночных планшетах и инкубировали при 37°C в увлажненной атмосфере с 5% углекислого газа в течение 72 ч в присутствии нуклеозидных аналогов и их соответствующих proTides в концентрациях, которые были определены экспериментально для каждой серии соединений. Кроме того, проводили контрольные культуры, к которым не добавляли никакого лекарственного средства. Затем клетки собирали центрифугированием и анализировали с помощью проточной цитометрии, используя анализ с аннексином V.

Измерение апоптоза in vitro.

Культивированные клетки собирали центрифугированием и затем повторно суспендировали в 195 мкл буфера, богатого кальцием. Затем в суспензию клеток добавляли 5 мкл Аннексина V (Caltag Medsystems, Botolph Claydon, UK), и клетки инкубировали в темноте в течение 10 мин перед промывкой. Клетки, наконец, вновь суспендировали в 190 мкл буфера, богатого кальцием, вместе с 10 мкл пропидия йодида. Апоптоз оценивали двухцветной иммунофлуоресцентной проточной цитометрией, как описано выше. Затем для каждого нуклеозидного аналога и ProTide вычисляли значения LD_{50} (доза, необходимая, для уничтожения 50% клеток в культуре).

Идентификация компартмента стволовых лейкозных клеток иммунофенотипированием.

Клетки KG1a культивировали в течение 72 ч в присутствии широкого диапазона концентраций каждого анализируемого соединения. Затем клетки собирали и метили коктейлем из линии анти-антител (PE-cy7), анти-CD34 (FITC), анти-CD38 (PE) и анти-CD123 (PerCP Cy5). Субпопуляцию, экспрессирующую фенотип LSC, затем идентифицированы и выражали как процент от общего числа жизнеспособных клеток, оставшихся в культуре. Процентное содержание оставшихся стволовых клеток затем наносили на график доза-ответ, и эффекты соединений сравнивали друг с другом, а также с родительским нуклеозидом.

Статистический анализ.

Данные, полученные в этих экспериментах, оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа. Все данные подтверждали как Гауссовые или приближение по Гауссу, используя омнибусный тест K2. Значения LD_{50} рассчитывали, исходя из нелинейной регрессии и анализа с оптимизацией сигмоидальных кривых доза-ответ. Все статистические анализы проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

Результаты.

Чувствительность лекарственного средства in vitro измеряли, используя анализ с Аннексином V/пропидий йодид. Соединение A показало повышенную активность in vitro по сравнению с кордицепином ($P<0,0001$). 2-F-кордицепин был значительно более мощным, чем кордицепин ($P<0,0001$), и все тестированные ProTides показали повышенную активность по сравнению с родительским нуклеозидом (фиг. 1).

Эти эксперименты подтвердили, что соединение A обладает повышенной активностью в отношении компартмента стволовых клеток при концентрациях выше 1 мМ. Как можно видеть на фиг. 2, соединение A продемонстрировало способность не только уменьшать число стволовых раковых клеток в общей

сложности, но и сокращать число таких клеток по отношению к общему числу злокачественных клеток, присутствующих в культуре. Это указывает на способность соединения A главным образом таргетировать раковые стволовые клетки. При более высоких исследуемых концентрациях (1 мМ и выше) способность соединения A предпочтительно таргетировать LSCS была значительно выше, чем у родительского соединения.

2-F-кордицепиновые соединения proTidesP, Q и R также показали преимущественное таргетирование LSCS, что было значительно выше по сравнению с исходным нуклеозидом. Напротив, в то время как соединение O было способно уменьшить долю LSCS, присутствующих в обработанных клеточных популяциях (что указывает на способность таргетировать LSCS), его активность существенно не отличалась от 2-F-кордицепина в любом исследовании концентраций. На фиг. 3 показано сравнение 2-F-кордицепина и всех тестированных proTides, в то время как отдельные сравнения показаны на изображениях фиг. 4.

Пример 4. Дополнительная оценка цитотоксичности и исследование ингибирования.

Некоторые соединения по изобретению подвергали дальнейшими исследованиям, чтобы проверить цитотоксическую активность некоторых соединений по изобретению, а также для оценки их активности в отношении 4 линий гематологических злокачественных клеток.

TdT положительные CEM (ALL человека),

TdT отрицательная K562 (CML человека),

TdT отрицательная HL-60 (ANLL человека),

RL (CRL-2261) не-HD лимфома.

Также в этих клеточных линиях измеряли концентрации активного метаболита dATP (кордицепин трифосфат).

Также изучали цитотоксическую активность и внутриклеточные концентрации 3'-dATP в присутствии hENT1, аденозинкиназы (AK) и аденозиндезаминазы, которые являются фармакологическими ингибиторами линиях раковых клеток CEM и RL. Указанные ингибиторы имитируют известные механизмы резистентности злокачественных новообразований.

Способы.

Культура клеток.

Линии клеток лейкоза HL-60 (ATCC® CCL-240™), K562 (ATCC® CCL-243™), CCRF-CEM (ATCC® CRM-CCL-119™) и RL (ATCC® CRL-2261™), полученные из американской коллекции типовых культур (ATCC), Middlesex. Клеточные линии HL-60 и K562 являются дезоксинуклеотидтрансфераза-отрицательными (TdT-ve), в то время как клеточная линия KBOP-CEM является TdT+ve.

Клеточная линия HL-60 является клеточной линией острого промиелоцитарного лейкоза; K562 является клеточной линией CML, клеточная линия CCRF-CEM является клеточной линий острого лимфобластного лейкоза (ALL); а RL является клеточной линией неходжкинской лимфомы.

Поддержание клеточных линий.

Клеточные линии HL-60, K562, CCRF-CEM и RL культивировали в среде RPMI-1640 (Sigma Aldrich, UK), которая была дополнена 10% фетальной бычьей сывороткой (FBS) (PAA Laboratories), 1% амфотерицином B (5,5 мл) и 1% пенициллин/стрептомицин (5,5 мл) (PAA Laboratories), и выращивали в колбах при 37°C в инкубаторе с 5% CO_2.

Анализ аденозин 5'-трифосфата (ATP).

Количество АТФ использовали в качестве меры числа клеток и клеточной жизнеспособности. Аналитический набор ATP ViaLight™ plus (Lonza, USA: серийный номер LT07-121) для обнаружения ATP в клетках, обработанных в совместимых с люминесценцией 96-луночных планшетах (начальная концентрация клеток составляла 1×104 клеток/лунка) вместе с кордицепином и ProTides при концентрациях: 0, 0,1, 0,5, 1,5 и 10 мкМ, а затем инкубирование в течение 72 ч при 37°C в инкубаторе с 5% CO_2. Для исследований ингибиторов добавляли 10 мкМ NbTi или 1 мкМ EHNA или A-134974 и оставляли на 5 мин перед добавлением лекарственного средства (см. раздел 5 для более подробной информации об ингибиторах).

После инкубации в 96-луночные планшеты добавляли 50 мкл реагента для лизиса клеток для высвобождения внутриклеточного ATP, а затем 100 мкл реагента контроля ATP (AMR). Значения люминесценции в каждой лунке определяли, используя микропланшет-ридер FLUOstar OPTIMA (BMG Labtech), который преобразует ATP в свет с помощью фермента люциферазы. Таким образом, количество продуцируемой люминесценции было прямо пропорционально количеству ATP.

Обработка клеток и извлечение образцов для анализа внутриклеточного трифосфата.

Использовали клеточные линии 5×10^6 клетка/мл. Клетки обрабатывали 1 мкл 50 мкМ каждого из кордицепина и соединений A, B, D, E и F, и инкубировали в течение 2 ч при 37°C с 5% CO_2. После инкубации клетки центрифугировали (температура окружающей среды, 1200 оборотов в минуту, 5 мин), супернатанты культуральной среды удаляли, и клеточные осадки промывали 1 мл PBS и центрифугировали (температура окружающей среды, 1200 оборотов в минуту, 5 мин). Супернатанты удаляли; гранулы восстанавливали в 100 мкл PBS и 100 мкл 0,8М перхлорной кислоты и смешивали на Vortex и хранили на

льду в течение 30 мин. Затем центрифугировали (температура окружающей среды, 1200 оборотов в минуту, 5 мин) и 180 мкл супернатанта переносили в новые пробирки и хранили при -80°C перед анализом.

Во время анализа 90 мкл экстракта переносили в свежие пробирки. К экстракту добавляли 25 мкл 1M ацетата аммония, а затем нейтрализовали, добавляя 10 мкл 10% аммония и 5 мкл деионизированной воды, затем переносили во флаконы ЖХ-МС и 10 мкл вводили в систему СЭЖХ-МС/МС.

Исследования ингибитора.

Клеточные линии обрабатывали таким же образом, как описано выше, но перед началом обработки лекарственными средствами, добавляли несколько ингибиторов:

1) нитробензилтиоинозин (NbTi) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, серийный номер N2255) блокирует переносчики нуклеотидов,

2) EHNA гидрохлорид (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, серийный номер E114) блокирует аденозиндезаминазу,

3) ингибитор аденозинкиназы A-134974 дигидрохлорид гидрат (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, серийный номер A2846): блокирует аденозинкиназу.

Клетки обрабатывали 10 мкМ NbTi или 1 мкМ EHNA или A-134974 и оставляли на 5 мин перед добавлением лекарственного средства. Затем клетки инкубировали в течение 2 ч при температуре 37°C с 5% CO_2.

Анализ ЖХ-МС/МС.

Аналиты растворяли, используя систему сверхэффективной жидкостной хроматографии (Accela СЭЖХ, Thermo Scientific, UK), оснащенной Biobasic A×5 мкм, колонкой 50×2,1 мм (Thermo Electron Corporation, Murrieta, CA, USA) и мобильную фазу, состоящую из смеси 10 мМ NH_4Ac в ACN/H_2O (30:70 об./об.), pH 6,0 (A) и 1 мМ NH_4Ac в ACN/H_2O (30:70 об./об.), pH 10,5 (B). Использовали мобильную фазу с градиентом, содержащую: буфер A=95% при 0-0,5 мин, от 95 до 0% в течение 1,25 мин, поддерживали при 0% в течение 1,75 мин, от 0 до 95% в течение 0,1 мин, заканчивая 95% в течение 2,9 мин, и все это при скорости потока 500 мкл/мин.

Элюированные соединения, представляющие интерес, детектировали, используя систему тройного квадрупольного масс-спектрометра Vantage (Thermo Scientific, UK), оснащенного источником ионов с электрораспылением. Образцы анализировали, проводя мониторинг множественных реакций, отрицательные режимы ионов при напряжении распыления 3000В. Азот использовали в качестве оболочки и вспомогательного газа при скорости потока 50 и 20 условных единиц соответственно. Аргон использовали в качестве газа для соударений при давлении 1,5 мТорр. Оптимальные массы переходных дочерних ионов и энергия для соударений каждого аналита были следующими: 3'ATP 490,1→392,1 (энергия для соударения 19В) и внутренний стандарт ChloroATP 539,9→442,2 (энергия для соударения 24В).

Статистический анализ.

Определяли кривые доза-ответ цитотоксичности лекарственных средств, используя нелинейный анализ регрессии процента жизнеспособности клеток в зависимости от концентрации, и получали значения EC_{50}. Внутриклеточный анализ проводили в пяти повторах для каждого условия. Оценивали внутриклеточный анализ, используя двойной t-тест (двусторонний) анализа 3'ATP/концентрация ATP и получали p-значения. Во всех анализах для построения результатов использовалось программное обеспечение Prism (GraphPad Software) и Microsoft Powerpoint® 2013.

Результаты.

Сводная таблица IC_{50} (мкМ)

	Кордицепин	A (FD)	B (FD)	D (FD)	E (FD)	F (FD)
CEM (TdT^{+ve})	19,5	0,87 (22)	0,13 (150)	6,1 (3)	10,0 (2)	4,3 (5)
K562	10,9	2,4 (5)	0,21 (52)	4,2 (3)	13,9 (1)	6,3 (2)
HL-60	11,4	4,6 (3)	2,6 (4)	5,4 (2)	10,2 (1)	8,3 (1)
CRL	24,5	2,1 (12)	0,4 (61)	4,8 (5)	11,0 (2)	3,4 (7)

(FD)=кратное отличие по сравнению с кордицепином=кордицепин IC_{50}/ProTide $_{IC50}$.

Сводные средние уровни внутриклеточного 3'-dATP (мкг/мл)

	Кордицепин	A (FD)	B (FD)	D (FD)	E (FD)	F (FD)
CEM	0,2	3,7 (19)	11,5 (58)	2,9 (15)	0,2 (1)	1,1 (6)
K562	1,7	2,6 (13)	6,2 (4)	0,9 (0,5)	0,2 (0,1)	1,3 (0,8)
HL-60	1,7	3,2 (16)	5,1 (3)	0,7 (0,4)	0,2 (0,1)	1,2 (0,7)
CRL	0,8	6,6 (33)	10,8 (14)	1,7 (2)	1 (1)	3,4 (4)

(FD)=кратное отличие по сравнению с кордицепином=Protide внутриклеточный TP/кордицепин внутриклеточный TP.

Соединения A и B были лучшими вариантами с IC_{50} от 3 до 150 раз лучше, чем кордицепин. Соединения A и B давали внутриклеточные концентрации 3'-dATP от 3 до 56 раз лучше, чем кордицепин.

Сводная таблица IC_{50} (все в мкМ)

		CEM (FD)	CRL (FD)
Кордицепин	Контроль	11,5	7,3
	NBTI	57,7 (5)	17,9 (2)
	EHNA	0,7 (-16)	13,2 (2)
	AK	29,2 (3)	28,6 (4)
A	Контроль	1,4	3,6
	NBTI	2,0 (1)	2,6 (1)
	EHNA	3,1 (2,2)	2,9 (1)
	AK	3,6 (3)	10,2 (3)
B	Контроль	0,9	3,1
	NBTI	1,4 (1)	2,6 (1)
	EHNA	1,3 (1)	5,2 (2)
	AK	1,3 (1)	2,8 (1)
E	Контроль	9,9	8,2
	NBTI	17,1 (2)	8,2 (1)
	EHNA	13,4 (1)	5,9 (1)
	AK	10,3 (1)	7,1 (1)

(FD)=кратное отличие по сравнению с контролем.

Сводные средние уровни внутриклеточного 3'-dATP (мкг/мл)

		CEM (FD)	CRL (FD)
Кордицепин	Контроль	0,24	0,10
	NBTI	0,14 (1)	0,06 (1)
	EHNA	9,01 (38)	1,85 (19)
	AK	0,31 (1)	0,16 (1)
A	Контроль	1,30	0,31
	NBTI	0,99 (1)	0,32 (1)
	EHNA	1,35 (1)	0,27 (1)
	AK	1,20 (1)	0,30 (1)
B	Контроль	4,07	0,59
	NBTI	3,14 (1)	0,68 (1)
	EHNA	3,62 (1)	0,67 (1)
	AK	2,99 (1)	0,77 (1)
E	Контроль	0,32	0,08
	NBTI	0,17 (1)	0,12 (1)
	EHNA	0,21 (1)	0,07 (1)
	AK	0,19 (1)	0,06 (1)

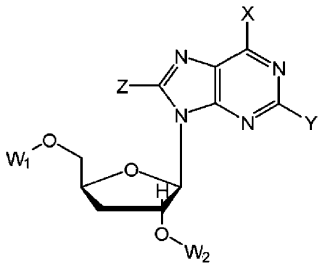
(FD)=кратное отличие по сравнению с контролем.

NbTi, AK и EHNA не влияют на внутриклеточный 3'-dATP, генерированный тремя исследованными соединениями по изобретению, что указывало на то, что эти ингибиторы не влияют на метаболизм, с помощью которых соединение по изобретению генерирует активный агент 3'-dATP в пределах клеточ-

ных линий гематологического злокачественного новообразования, используемых в данном исследовании. Поскольку эти ингибиторы имитируют известные механизмы резистентности злокачественного новообразования, то эти результаты указывают на то, что соединения по настоящему изобретению будут менее чувствительны к механизмам резистентности злокачественного новообразования, чем кордицепин.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (Ib)



(Ib)

где W_1 представляет собой -P(=O)(U)(V), где U представляет собой -OAr и V представляет собой $-NR_4-CR_1R_2-C(=O)OR_3$;

W_2 представляет собой H;

X представляет собой NH_2;

Z представляет собой H;

Y выбран из группы, состоящей из H, F, Cl и $-OCH_3$;

R_1 и R_2 независимо выбраны из группы, состоящей из H, $-CH_3$ и $-CH_2CH(CH_3)_2$;

R_3 выбран из группы, состоящей из C_{6-30}арилC_{1-6}алкила и незамещенного C_{1-20}алкила;

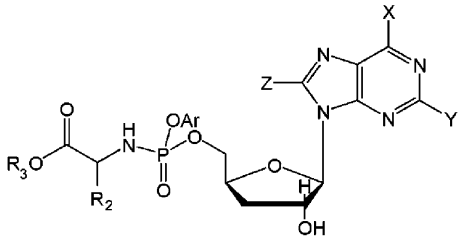
R_4 представляет собой H; и

Ar выбран из группы, состоящей из фенила и нафтила, каждый из которых необязательно замещен,

где когда Ar замещен, заместители независимо выбраны из $R_{18}C(=O)-O-R_{19}$, где R_{18} представляет собой C_{1-4}алкил и R_{19} представляет собой C_{1-5}алкил, или

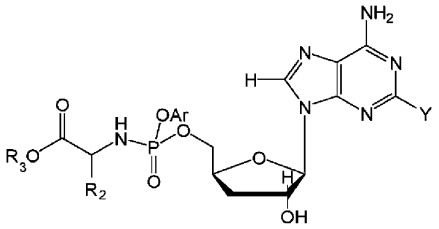
фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (Ib).

2. Соединение по п.1, где соединение формулы (Ib) представляет собой соединение формулы (II)



(II)

3. Соединение по п.1, где соединение формулы (Ib) представляет собой соединение формулы (III)



(III)

4. Соединение по любому из пп.1-3, где Ar выбран из фенила и нафтила.

5. Соединение по любому из пп.1-4, где R_2 представляет собой метил.

6. Соединение по п.5, где атом C, несущий R_1 и R_2, имеет ту же абсолютную конфигурацию, что и L-аланин.

7. Соединение по любому из пп.1-6, где R_3 выбран из группы, включающей бензил и незамещенный C_{1-20}алкил.

8. Соединение по п.7, где R_3 выбран из группы, состоящей из бензила, незамещенного метила и незамещенного н-пентила.

9. Соединение по п.8, где R_3 представляет собой бензил.

10. Соединение по любому из пп.1-9, где Y представляет собой H.

11. Соединение по любому из пп.1-9, где Y представляет собой F.

12. Соединение по любому из пп.1-9, где Y представляет собой Cl.

13. Соединение по любому из пп.1-9, где Y представляет собой OMe.

14. Соединение по п.1, где соединение формулы (Ib) выбрано из:

(2S)-бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноата;

бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)ацетата;

(2S)-пентил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-4-метилпентаноата;

метил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)-2-метилпропаноата;

(2S)-бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(2-(3-этокси-3-оксопропил)фенокси)фосфорил)амино)пропаноата;

(2S)-бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-метокси-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфориламино)пропаноата;

(2S)-бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-метокси-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфориламино)пропаноата;

(2S)-бензил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата;

(2S)-гексил 2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата;

(2R)-бензил 2-((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(нафталин-1-илокси)фосфориламино)пропаноата;

2-O-метил-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(1-пентилокси-L-лейцинил)]фосфата;

2-O-метил-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[фенил (1-гексилокси-L-аланинил)]фосфата;

2-фтор-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(бензилокси-L-аланинил)]фосфата;

2-фтор-3'-дезоксиаденозин-5'-O-[1-нафтил(1-пентилокси-L-лейцинил)]фосфата;

2-хлор-3'-дезоксиаденозин 5'-O-[1-фенил(2,2-диметилпропокси-L-аланин)]фосфата;

2-хлор-3'-дезоксиаденозин 5'-O-[1-нафтил(2,2-диметилпропокси-L-аланин)]фосфата;

2-хлор-3'-дезоксиаденозин 5'-O-[1-фенил (этокси-L-аланин)]фосфата; и

(2S)-изопропил-2-(((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидроксителрагидрофуран-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата.

15. Соединение по п.1, где соединение формулы (Ib) представляет собой (S_p)-3'-деоксиаденозин-5'-O-[фенил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат.

16. Соединение по п.1, где соединение формулы (Ib) представляет собой (R_p)-3'-деоксиаденозин-5'-O-[фенил(бензилокси-L-аланинил)]фосфат.

17. Применение соединения по любому из пп.1-16 для профилактики или лечения рака.

18. Применение по п.17, где рак выбран из группы, состоящей из: лейкемии, лимфомы, множественной миеломы, рака легких (включая немелкоклеточный рак легких и мелкоклеточный рак легких), рака печени, рака молочной железы, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака головы и шеи, нейробластомы, саркомы (включая саркому Юинга), рака щитовидной железы, рака кожи (включая меланому), плоскоклеточной карциномы полости рта, рака мочевого пузыря, опухоли из клеток Лейдига, рака желчного пузыря, такого как холангиокарцинома или рак желчных протоков, рака поджелудочной железы, рака кишечника, колоректального рака и гинекологических раковых заболеваний, включая рак яичников, эндометриальный рак.

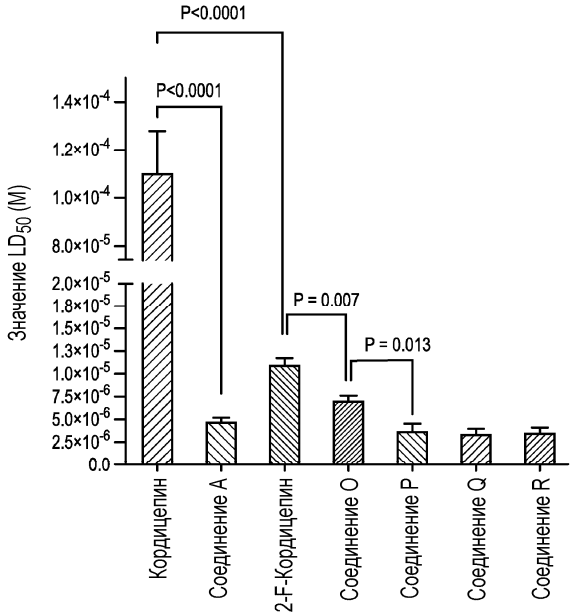
19. Применение по п.18, где раком является лейкемия или лимфома.

20. Применение по п.19, где лейкемия выбрана из группы, включающей острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, монобластный лейкоз, волосатоклеточную лейкемию, лимфому Ходжкина и неходжкинскую лимфому.

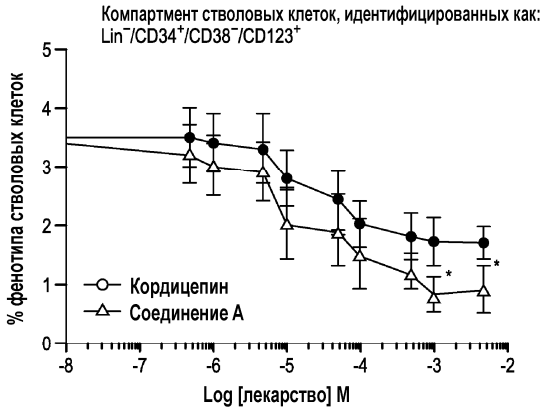
21. Применение по п.20, где лейкемия представляет собой острый лимфобластный лейкоз.

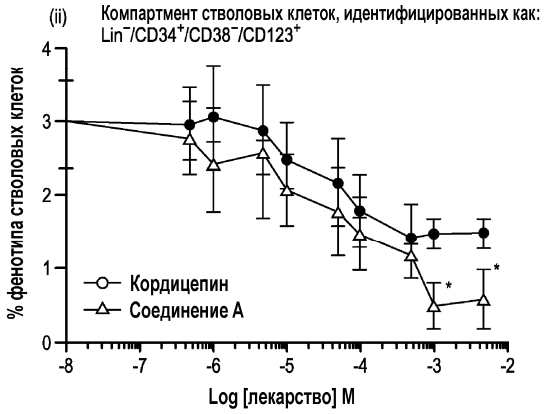
22. Способ профилактики или лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, эффективной дозы соединения в соответствии с одним из пп.1-16.

23. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-16 в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или вспомогательным веществом.

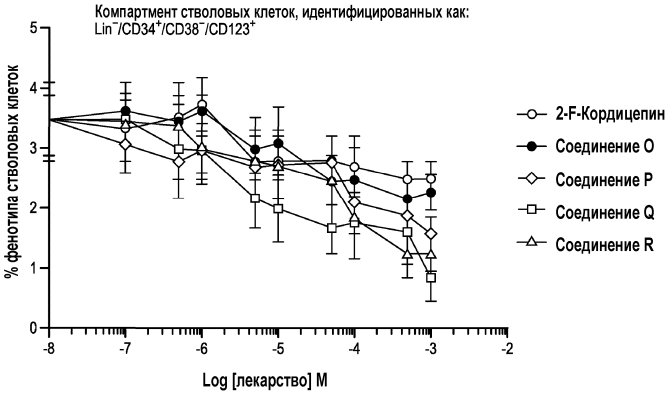

P<0.0001
P<0.0001
P = 0.007
P = 0.013
Значение LD_{50} (M)
1.4×10^{-4}
1.2×10^{-4}
1.0×10^{-4}
8.0×10^{-5}
2.0×10^{-5}
1.8×10^{-5}
1.5×10^{-5}
1.3×10^{-5}
1.0×10^{-5}
7.5×10^{-6}
5.0×10^{-6}
2.5×10^{-6}
0.0
Кордицепин
Соединение A
2-F-Кордицепин
Соединение O
Соединение P
Соединение Q
Соединение R

Фиг. 1

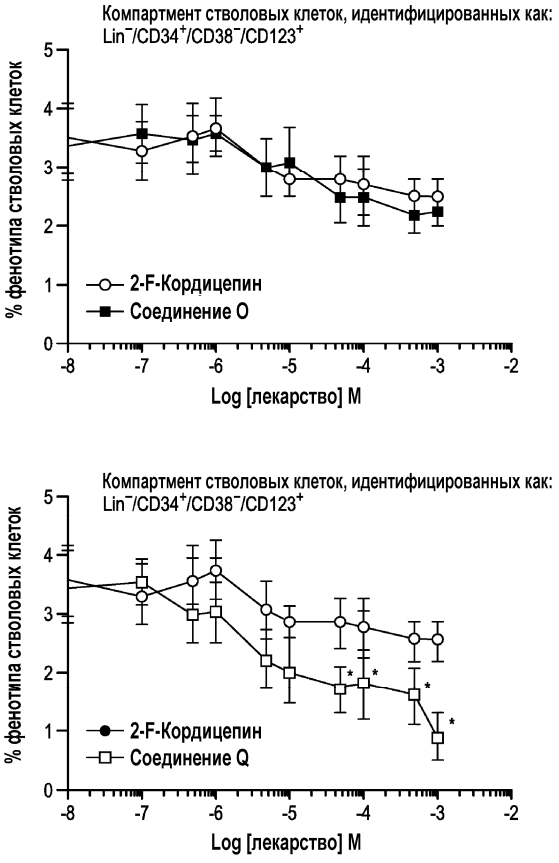

Компартмент стволовых клеток, идентифицированных как:
$Lin^-/CD34^+/CD38^-/CD123^+$
% фенотипа стволовых клеток
Кордицепин
Соединение A
Log [лекарство] M


(ii)
Компартмент стволовых клеток, идентифицированных как:
$Lin^-/CD34^+/CD38^-/CD123^+$
% фенотипа стволовых клеток
Кордицепин
Соединение A
Log [лекарство] M

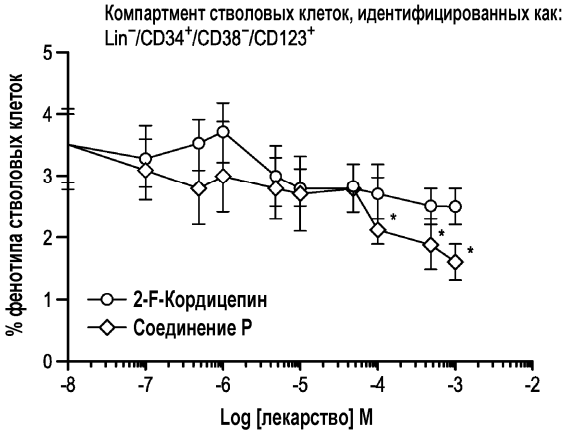
Фиг. 2

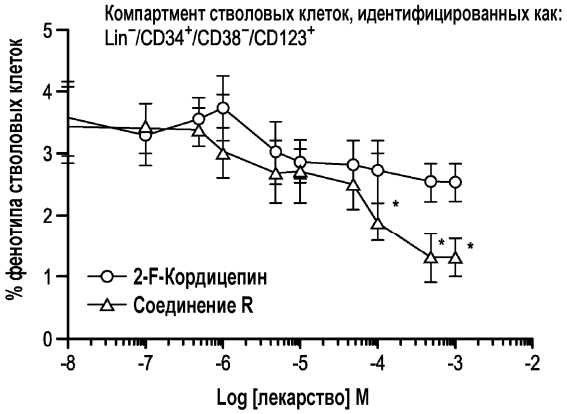

Компартмент стволовых клеток, идентифицированных как:
Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺
% фенотипа стволовых клеток
Log [лекарство] M
2-F-Кордицепин
Соединение O
Соединение P
Соединение Q
Соединение R

Фиг. 3


Компартмент стволовых клеток, идентифицированных как:
Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺
% фенотипа стволовых клеток
Log [лекарство] M
2-F-Кордицепин
Соединение O
Компартмент стволовых клеток, идентифицированных как:
Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺
% фенотипа стволовых клеток
Log [лекарство] M
2-F-Кордицепин
Соединение Q

Фиг. 4





Фиг. 4 (продолжение)