

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202192660 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.14

(22) Дата подачи заявки
2020.04.01

(51) Int. Cl. C07H 19/10 (2006.01)
C07H 19/20 (2006.01)
A61K 31/7052 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ПРОТИВОРАКОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

(31) 1904544.2

(32) 2019.04.01

(33) GB

(86) PCT/GB2020/050871

(87) WO 2020/201751 2020.10.08

(71) Заявитель:
НУКАНА ПиЭлСи (GB)

(72) Изобретатель:

Гриффит Хью, Серпи Микаэла,
Пертусати Фабрицио, Слюсарчик
Магдалена, Ди Чано Самуэле (GB)

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

(57) Настоящее изобретение относится к солям фосфорамидатов трифосфатов, которые являются пригодными в лечении рака.

202192660

A1

A1

202192660

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-570798EA/019

ПРОТИВОРАКОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

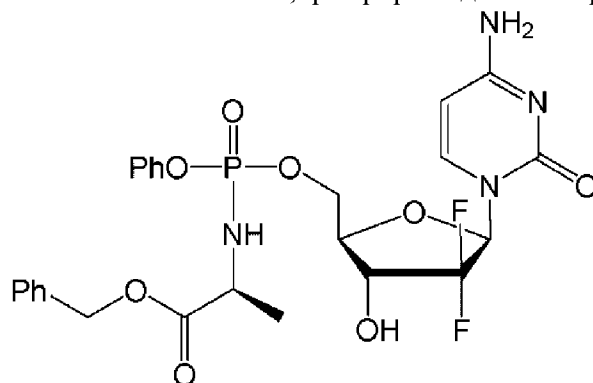
[0001] Настоящее изобретение относится к соединениям, пригодным в лечении рака, например, лейкемии. Соединения включают соль фосфорамидата трифосфата. Настоящее изобретение также относится к составам указанных соединений и применению указанных соединений.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Лекарственные средства на основе нуклеозидов стали мощным инструментом в лечении болезней человека. В лечении рака, в частности, широко распространено применение нуклеозидных лекарственных средств, таких как гемцитабин, клофарабин, цитарабин, кладрибин и флударабин.

[0003] Однако эффективность всех нуклеозидных лекарственных средств может быть ограничена как внутренними, так и приобретенными механизмами устойчивости.

[0004] Одним из способов, которым можно повысить эффективность нуклеозидных лекарственных средств, является введение в виде фосфорамидата монофосфата. Фосфорамидаты монофосфата являются пролекарствами монофосфорилированных нуклеотидов, и было показано, что они являются особенно эффективными терапевтическими агентами, как в области противовирусных препаратов, так и в онкологии. Данные соединения, по-видимому, избегают многих механизмов резистентности, которые ограничивают применимость исходных нуклеозидов (смотри, например, '*Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) в Clinical Development*', Slusarczyk et al; *J. Med. Chem.*; **2014**, 57, 1531–1542; McGuigan et al.; *Phosphoramidate ProTides of the anticancer agent FUDR successfully deliver the preformed bioactive monophosphate in cells and confer advantage over the parent nucleoside*; *J. Med. Chem.*; **2011**, 54, 7247–7258; и Vande Voorde et al.; *The cytostatic activity of NUC-3073, a phosphoramidate prodrug of 5-fluoro-2'-deoxyuridine, is independent of activation by thymidine kinase and insensitive to degradation by phosphorolytic enzymes*; *Biochem. Pharmacol.*; **2011**, 82, 441–452; WO2005/012327; WO2006/100439; WO2012/117246 and WO2016/083830). Примером фосфорамидата монофосфата является NUC-1031, фосфорамидат монофосфата гемцитабина:



NUC-1031.

[0005] В то время как стратегия фосфорамидатов монофосфата оказалась очень эффективной для определенных нуклеозидов, она не так эффективна с другими нуклеозидными лекарственными средствами. Следовательно, существует необходимость в поиске дополнительных способов усиления молекул нуклеозидных лекарственных средств.

[0006] Фосфорамидаты монофосфатов могут также быть плохо растворимыми в водных растворителях, и это может делать введение затруднительным.

[0007] Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в обеспечении терапевтического агента, который при применении обладает терапевтической эффективностью при профилактике или лечении рака.

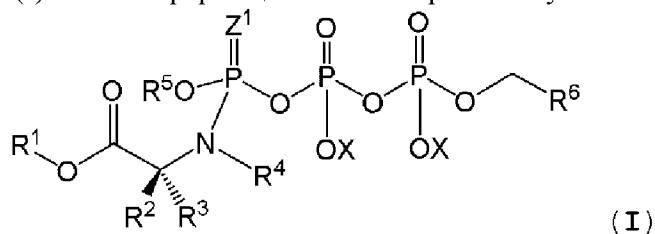
[0008] Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в обеспечении терапевтического агента, который при применении обладает большей терапевтической эффективностью при профилактике или лечении рака, чем исходный нуклеозид или соответствующий фосфорамидат монофосфата.

[0009] Цель некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в обеспечении терапевтического агента, который более удобно вводить, чем соответствующий фосфорамидат монофосфата.

[0010] Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения решают некоторые или все из вышеуказанных проблем.

СУЩНОСТЬ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0011] В первом аспекте настоящего изобретения обеспечивают соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль:



В которой

R^1 независимо при каждом появлении выбран из: C_1 - C_{24} -алкила, C_3 - C_{24} -алкенила, C_3 - C_{24} -алкинила, C_0 - C_4 -алкилен- C_3 - C_8 -циклоалкила и C_0 - C_4 -алкиленарила;

каждый R^2 и R^3 независимо при каждом появлении выбран из H, C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_3 -алкилен- R^7 ; или R^2 и R^3 , вместе с атомом, с которым они соединены, образуют 3-6-членную циклоалкильную или гетероциклоалкильную группу;

R^4 независимо при каждом появлении представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил;

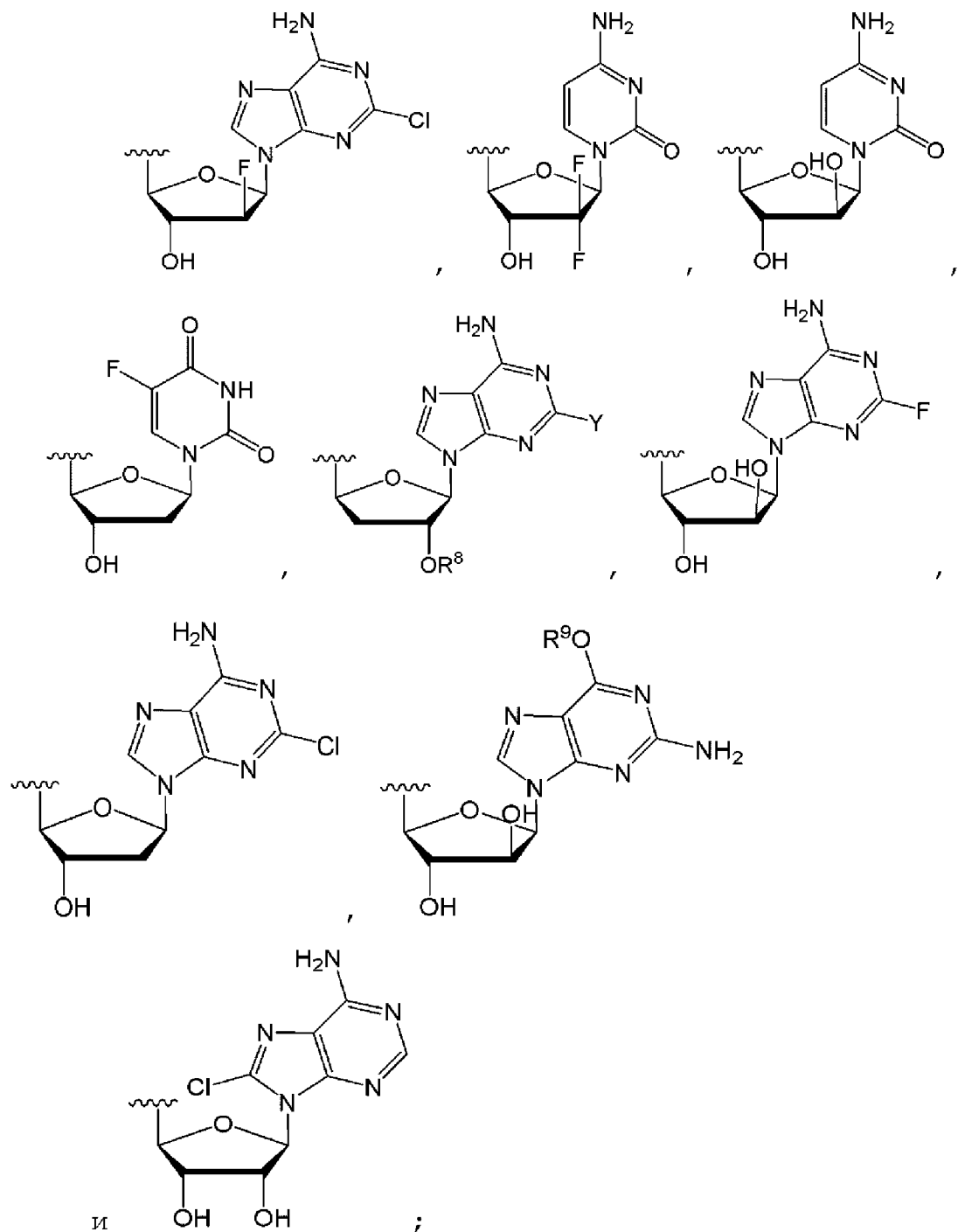
или R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 и атомы, с которыми они соединены, могут образовывать 3-6-членную гетероциклоалкильную группу;

R^5 независимо при каждом появлении выбран из арила, 5-, 6-, 9- или 10-членного гетероарила, C_3 - C_8 -циклоалкила, 3-7-членного гетероциклоалкила, C_1 - C_3 -алкилен- R^{5a} и C_1 - C_8 -алкил; причем указанный арил необязательно конденсирован с C_6 - C_8 -циклоалкилом;

R^{5a} независимо при каждом появлении выбран из арила, 5-, 6-, 9- или 10-членного

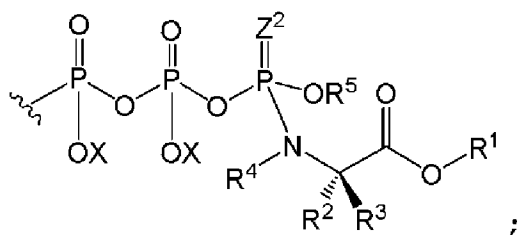
гетероарила, C₃-C₈-циклоалкила, 3-7-членного гетероциклоалкила, причем указанный арил необязательно конденсирован с C₆-C₈-циклоалкил;

R⁶ независимо выбран из:



R⁷ независимо при каждом появлении выбран из арила, имидазола, индола, SR^a, OR^a, CO₂R^a, CO₂NR^aR^a, NR^aR^b и NH(=NH)NH₂;

R⁸ независимо выбран из H и



R^9 независимо выбран из H и Me;

каждый Z^1 и Z^2 независимо выбран из O и S;

Y независимо выбран из H, F, Cl и OMe;

X при каждом появлении выбран из H и фармацевтически приемлемого катиона; при условии, что, по меньшей мере, при одном появлении X представляет собой фармацевтически приемлемый катион;

Где любая арильная группа представляет собой или фенил или нафтил;

Где когда любой из R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 или R^7 представляет собой алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил, то алкильная, циклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группа необязательно замещена 1-4 заместителями, выбранными из: галогена, нитро, циано, NR^aR^a , $NR^aS(O)_2R^a$, $NR^aC(O)R^a$, $NR^aCONR^aR^a$, $NR^aCO_2R^a$, OR^a , SR^a , SOR^a , SO_3R^a , SO_2R^a , $SO_2NR^aR^a$, CO_2R^a , $C(O)R^a$, $CONR^aR^a$, $CR^aR^aNR^aR^a$, C_1 - C_4 -алкила, C_2 - C_4 -алкенила, C_2 - C_4 -алкинила и C_1 - C_4 -галогеналкила;

где R^a независимо при каждом появлении выбран из: H и C_1 - C_4 -алкила; и R^b независимо при каждом появлении выбран из: H, C_1 - C_4 -алкила и $C(O)$ - C_1 - C_4 -алкила.

[0012] Изобретатели обнаружили, что фосфорамидаты трифосфатов формулы (I) обладают хорошей активностью против ряда линий раковых клеток, включая клеточные линии солидных опухолей и гематологических опухолей. В некоторых случаях трифосфаты формулы (I) являются более активными, чем соответствующий фосфорамидат монофосфата.

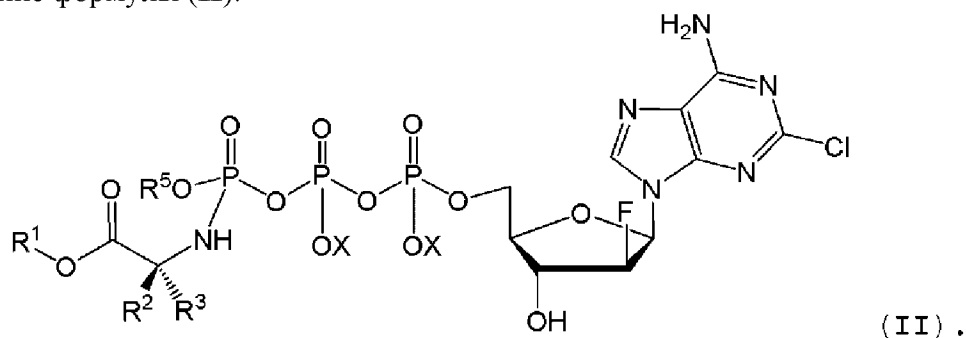
[0013] Для того чтобы избежать неясности, когда X представляет собой фармацевтически приемлемый катион; кислород, с которым он ассоциирован, будет депротонирован, т.е., он будет представлять собой анион, обладающий единичным отрицательным зарядом.

[0014] Изобретатели обнаружили, что депротонирование, по меньшей мере, одной фосфатной группы фосфорамидата трифосфата обеспечивает высокую стабильность. Ионные свойства соединений настоящего изобретения также обозначают то, что они являются более растворимыми в воде, чем соответствующий фосфорамидат монофосфата.

[0015] Для превращения фосфорамидата монофосфата в соответствующий монофосфатный нуклеотид необходим ряд ферментативных процессов, включая расщепление сложного эфира карбоксилэстеразами и отщепление полученной в результате аминокислоты от нуклеотидмонофосфата ферментами фосфорамидазного типа. Фосфорамидаты трифосфатов настоящего изобретения являются более крупными

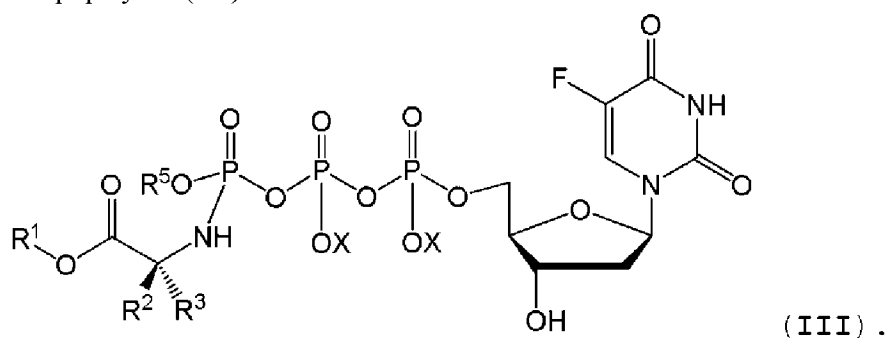
молекулами, имеющими другую форму, и они являются ионными, что ставит под сомнение, будут ли они взаимодействовать с соответствующими ферментами таким же образом, как фосфорамидаты монофосфатов для превращения в нуклеотидтрифосфат. Тем не менее, фосфорамидаты трифосфатов формулы (I) по-прежнему активны в клетках.

[0016] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (II):

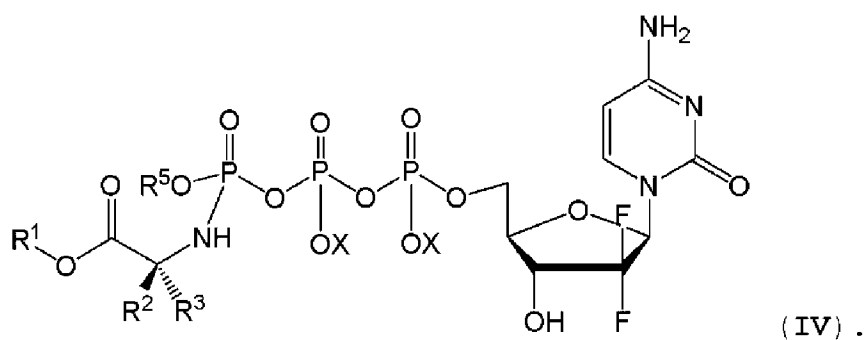


[0017] Фосфорамидаты трифосфатов клофарабина, такие как Фосфорамидаты трифосфатов формулы (II), были более активными, чем соответствующий фосфорамидат монофосфата против ряда линий раковых клеток, включая клеточные линии гематологических опухолей.

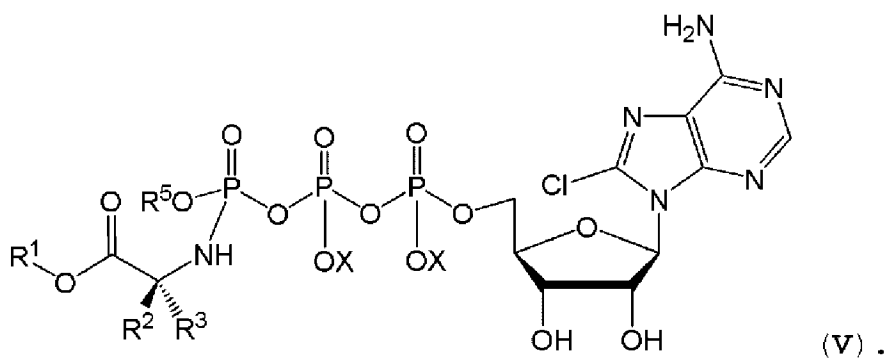
[0018] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (III):



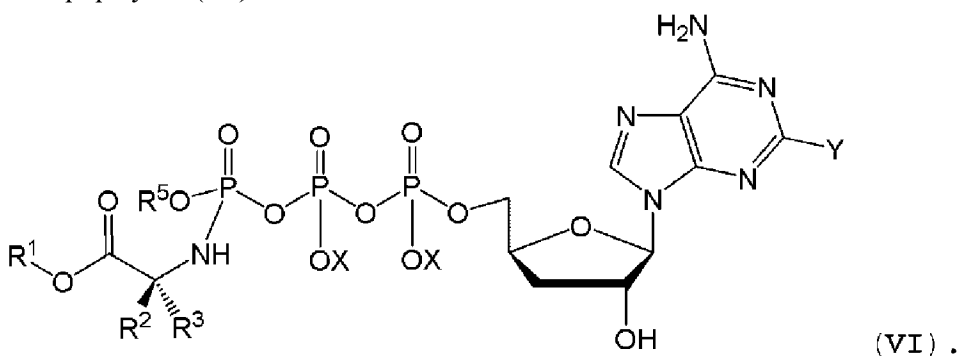
[0019] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (IV):



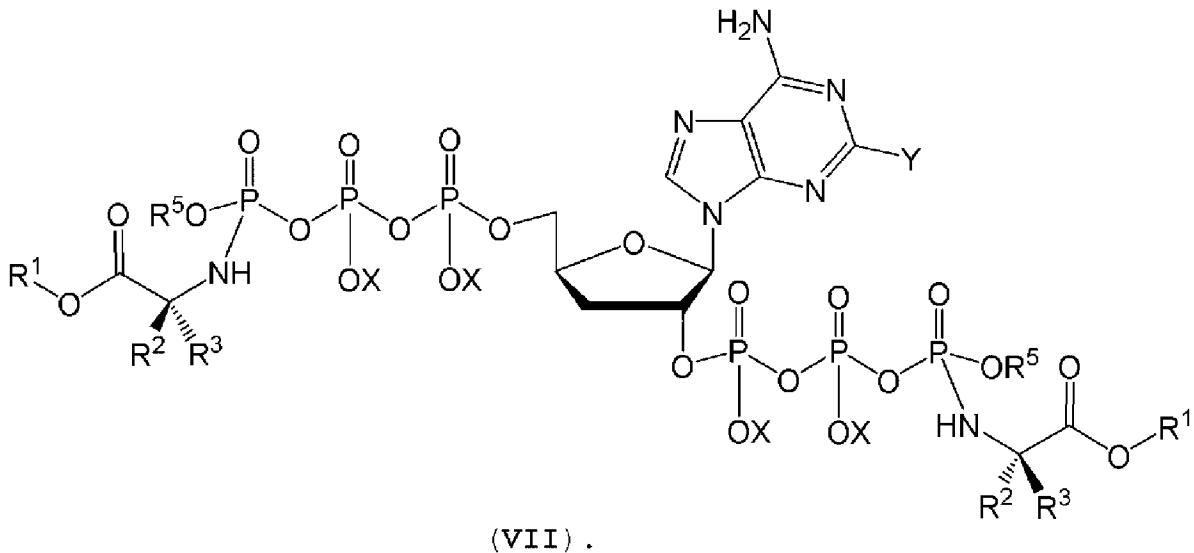
[0020] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (V):



[0021] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (VI):

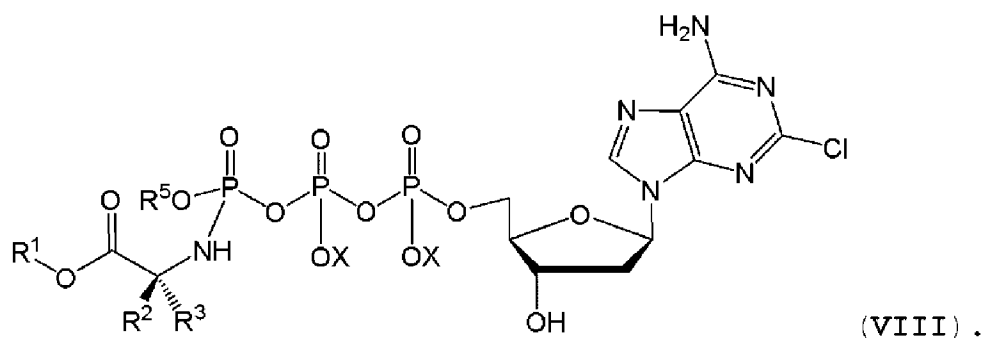


[0022] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (VII):

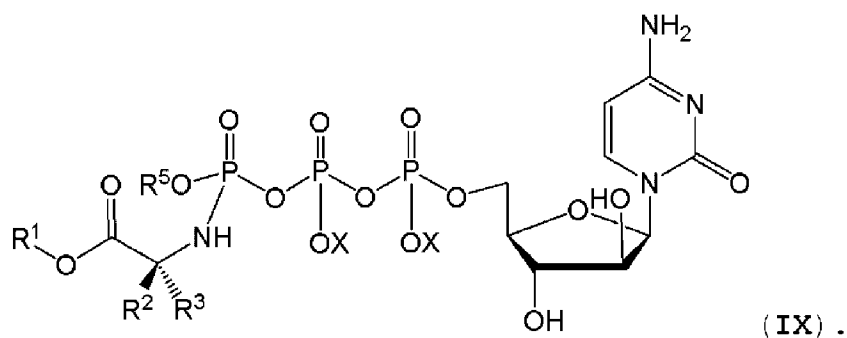


В данных вариантах осуществления, может быть так, что R^1 , R^2 , R^3 , R^5 и X являются одинаковыми при обоих появлениях.

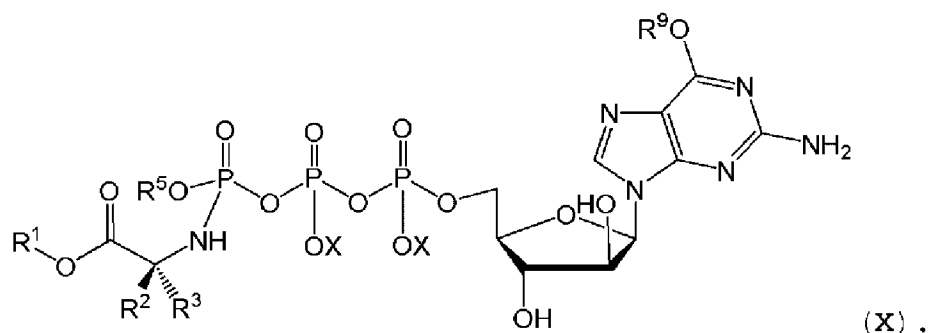
[0023] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (VIII):



[0024] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (IX):



[0025] В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (X):



[0026] Следующие ниже утверждения применимы к соединениям любой из формулы (I)-(X). Данные утверждения являются независимыми и взаимозаменяемыми. Другими словами, любые признаки, описанные в любом из следующих утверждений, можно (если это химически допустимо) комбинировать с признаками, описанными в одном или нескольких других утверждениях ниже. В частности, если соединение приведено в качестве примера или проиллюстрировано в данном описании, любые два или более из приведенных ниже утверждений, которые описывают признак данного соединения, выраженные на любом уровне общности, можно комбинировать таким образом, чтобы представлять собой предмет, рассматриваемый как составляющий часть раскрытия настоящего изобретения в данном описании.

[0027] R^1 можно независимо при каждом появлении выбрать из: C_1 - C_{24} -алкила, C_3 - C_{24} -алкенила, C_3 - C_{24} -алкинила, C_0 - C_4 -алкилен- C_3 - C_6 -циклоалкила и C_0 - C_4 -алкиленарила.

[0028] R^1 можно независимо при каждом появлении выбрать из: C_1 - C_{24} -алкила, C_0 -

C_4 -алкилен- C_3 - C_8 -циклоалкила и CH_2 -арила. R^1 можно независимо при каждом появлении выбрать из: C_1 - C_{10} -алкила, C_4 - C_6 -циклоалкила и бензила. R^1 можно независимо при каждом появлении выбрать из: C_1 - C_8 -алкила, C_6 -циклоалкила и бензила.

[0029] R^1 может представлять собой C_1 - C_8 алкил.

[0030] R^1 можно выбрать так, чтобы он содержал три или более атомов углерода. R^1 можно выбрать так, чтобы он содержал пять или более атомов углерода. Следовательно, R^1 можно выбрать так, чтобы он содержал шесть или более атомов углерода. R^1 предпочтительно выбирают так, чтобы он содержал только атомы углерода и водорода. R^1 можно выбрать из C_5 - C_7 -циклоалкила, C_5 - C_8 -алкила и бензила, необязательно, где указанные группы являются незамещенными. R^1 может представлять собой незамещенный бензил. R^1 может представлять собой неопентил. R^1 может представлять собой этил.

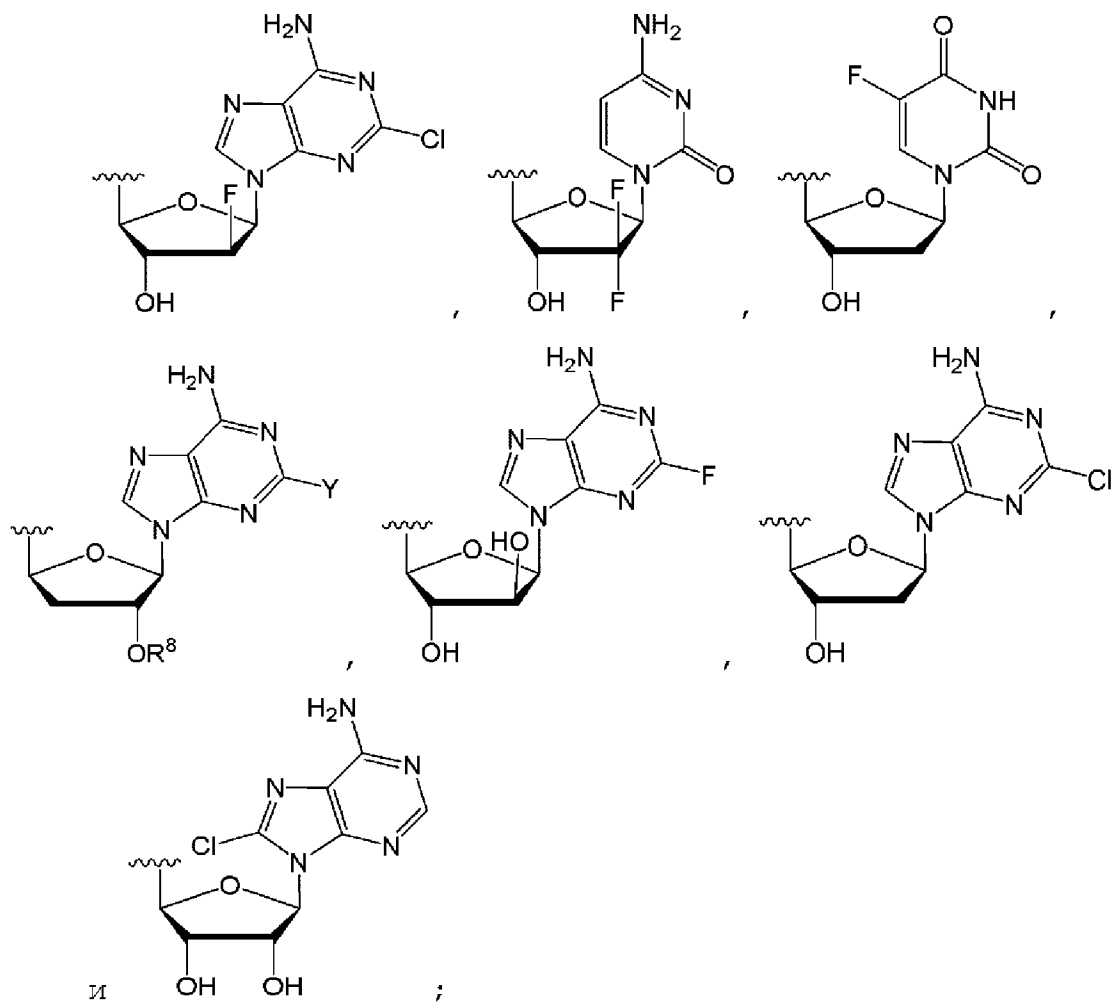
[0031] Может быть так, что R^3 представляет собой H. Может быть так, что R^3 представляет собой C_1 - C_4 -алкил. Может быть так, что R^3 представляет собой метил. Может быть так, что R^2 выбран из C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_3 -алкилен- R^7 . Может быть так, что R^2 представляет собой C_1 - C_3 -алкилен- R^7 , R^7 представляет собой SR^a , и R^a представляет собой C_1 -алкил. Может быть так, что R^2 представляет собой C_1 - C_4 -алкил. Может быть так, что R^2 выбран из метила и изопропила. R^2 может представлять собой метил. R^2 может представлять собой H.

[0032] R^4 предпочтительно представляет собой H.

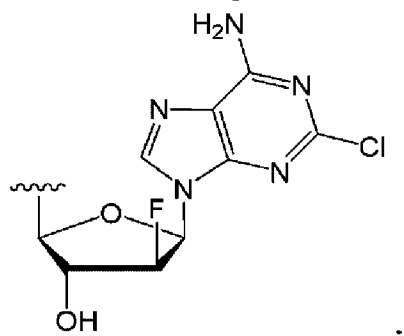
[0033] Может быть так, что R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 , и атомы, с которыми они соединены, образуют 3-6-членную гетероциклоалкильную группу. Может быть так, что R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 , и атомы, с которыми они соединены, не образуют 3-6-членную гетероциклоалкильную группу. Может быть так, что каждый R^2 и R^3 независимо при каждом появлении выбран из H, C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_3 -алкилен- R^7 ; или R^2 и R^3 , вместе с атомом, с которым они соединены, образуют 3-6-членную гетероциклоалкильную группу; и R^4 независимо при каждом появлении представляет собой H или C_1 - C_4 -алкил.

[0034] Может быть так, что R^5 представляет собой замещенный или незамещенный фенил, который может быть необязательно конденсирован с C_6 - C_8 -циклоалкильным кольцом, например, циклогексановым кольцом. Может быть так, что R^5 представляет собой замещенный или незамещенный фенил. Может быть так, что R^5 представляет собой замещенный или незамещенный нафтил (например, 1-нафтил). Предпочтительно, R^5 выбран из незамещенного фенила или незамещенного нафтила (например, 1-нафтила). Таким образом, R^5 может представлять собой незамещенный фенил. Альтернативно, R^5 может представлять собой незамещенный нафтил (например, 1-нафтил). R^5 может представлять собой C_1 - C_6 -алкил, например, этил.

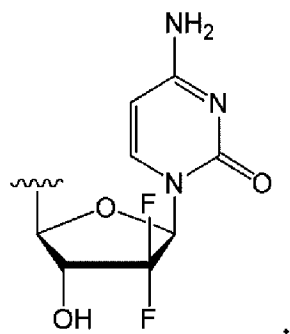
[0035] R^6 можно независимо выбрать из:



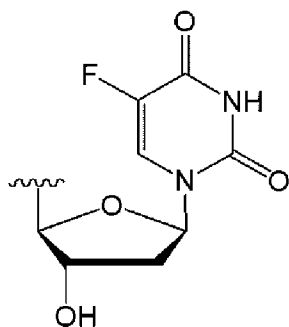
[0036] R⁶ может представлять собой



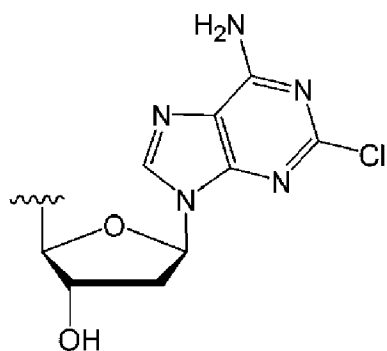
[0037] R⁶ может представлять собой



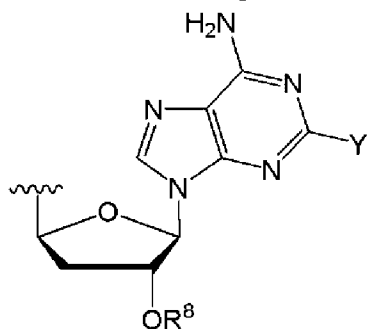
[0038] R^6 может представлять собой



[0039] R^6 может представлять собой

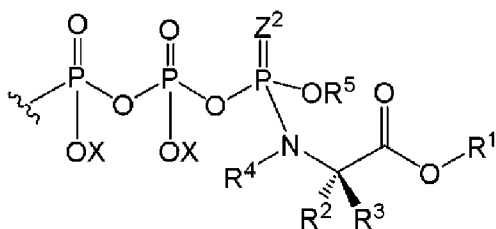


[0040] R^6 может представлять собой



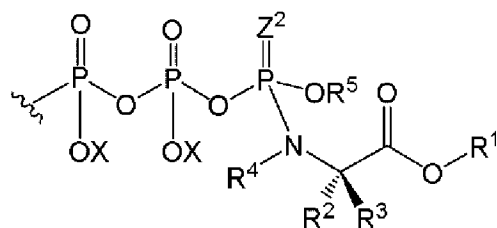
. Y может представлять собой H. Y может представлять собой F. Y может представлять собой Cl. Y может представлять собой OMe.

[0041] R^8 может представлять собой H. R^8 может представлять собой

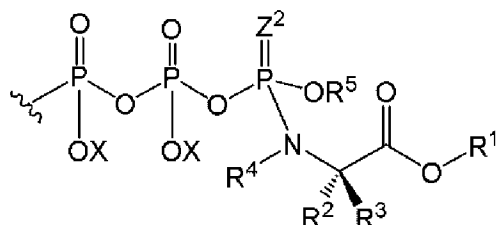


и

. Z^2 может представлять собой S. Z^2 может представлять собой O.

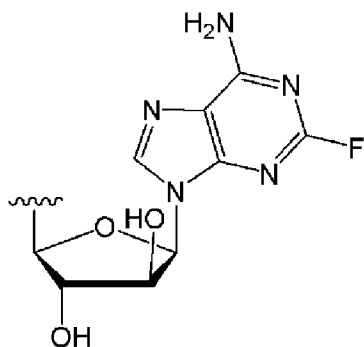


[0042] где R^8 представляет собой , может быть так, что R^1 , R^2 , R^3 , R^5 , X и Z^2 являются одинаковыми при обоих появлениях.

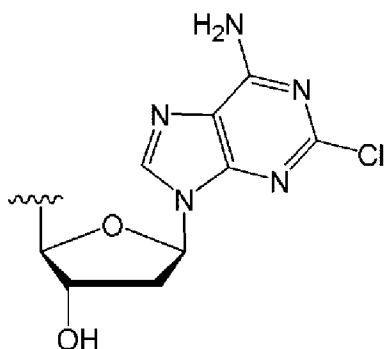


[0043] когда R^8 представляет собой , X будет при двух различных появлениях представлять собой фармацевтически приемлемый катион. Таким образом, есть, по меньшей мере, один депротонированный кислород при каждой трифосфатной группе.

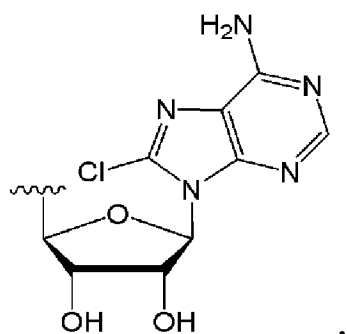
[0044] R^6 может представлять собой



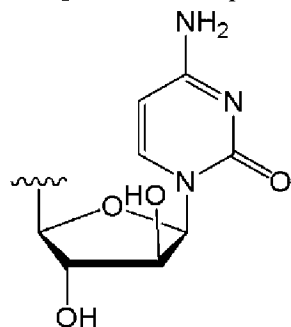
[0045] R^6 может представлять собой



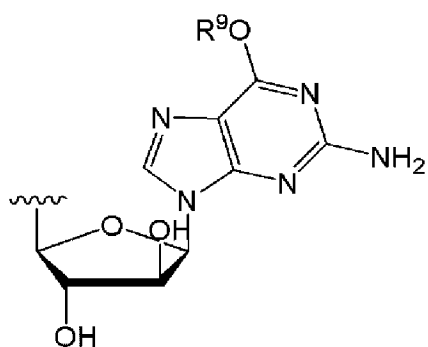
[0046] R^6 может представлять собой



[0047] R⁶ может представлять собой

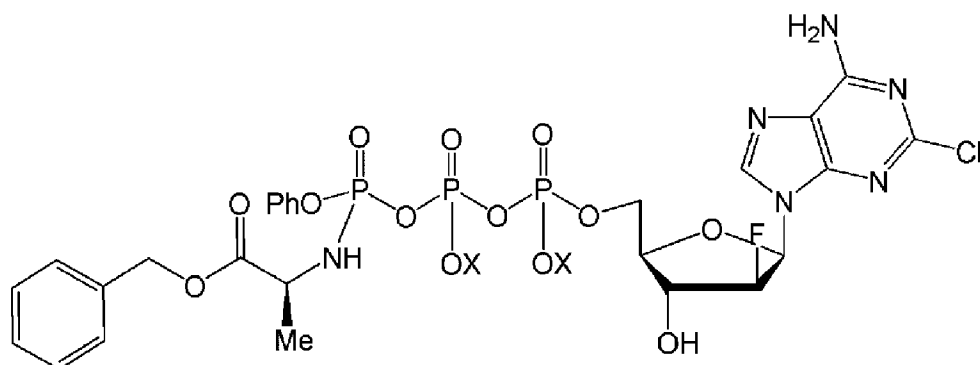


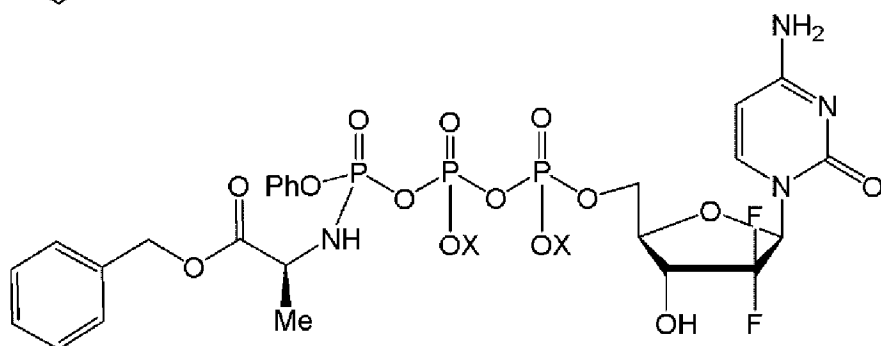
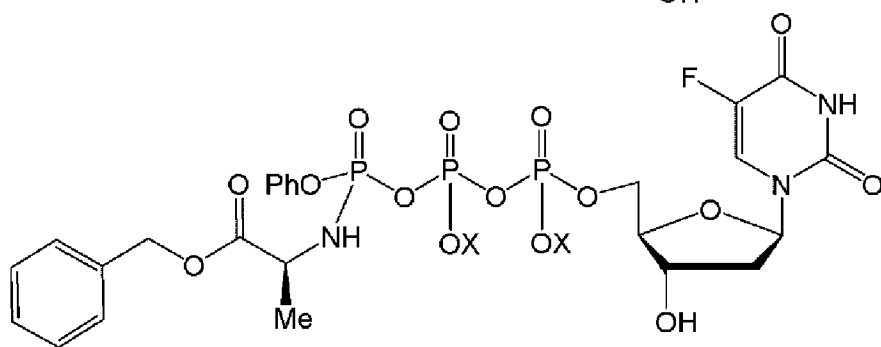
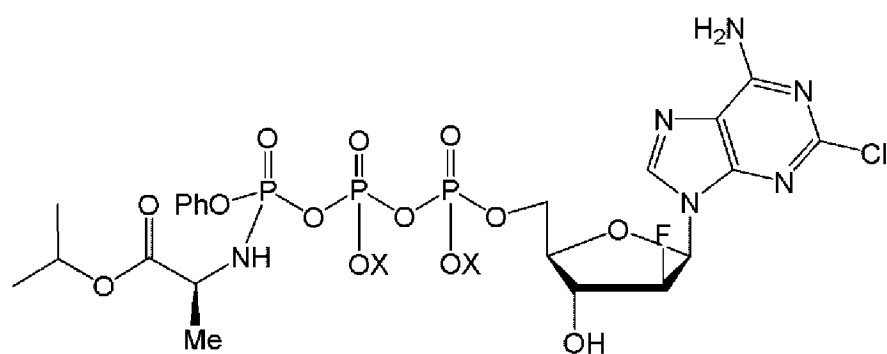
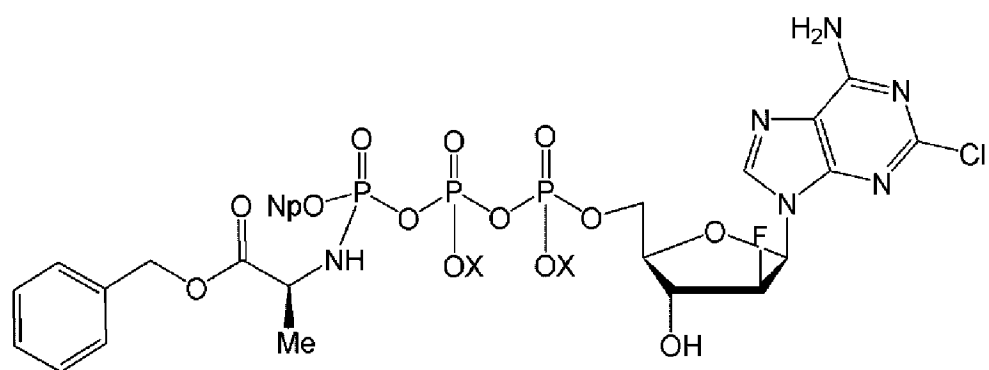
[0048] R⁶ может представлять собой

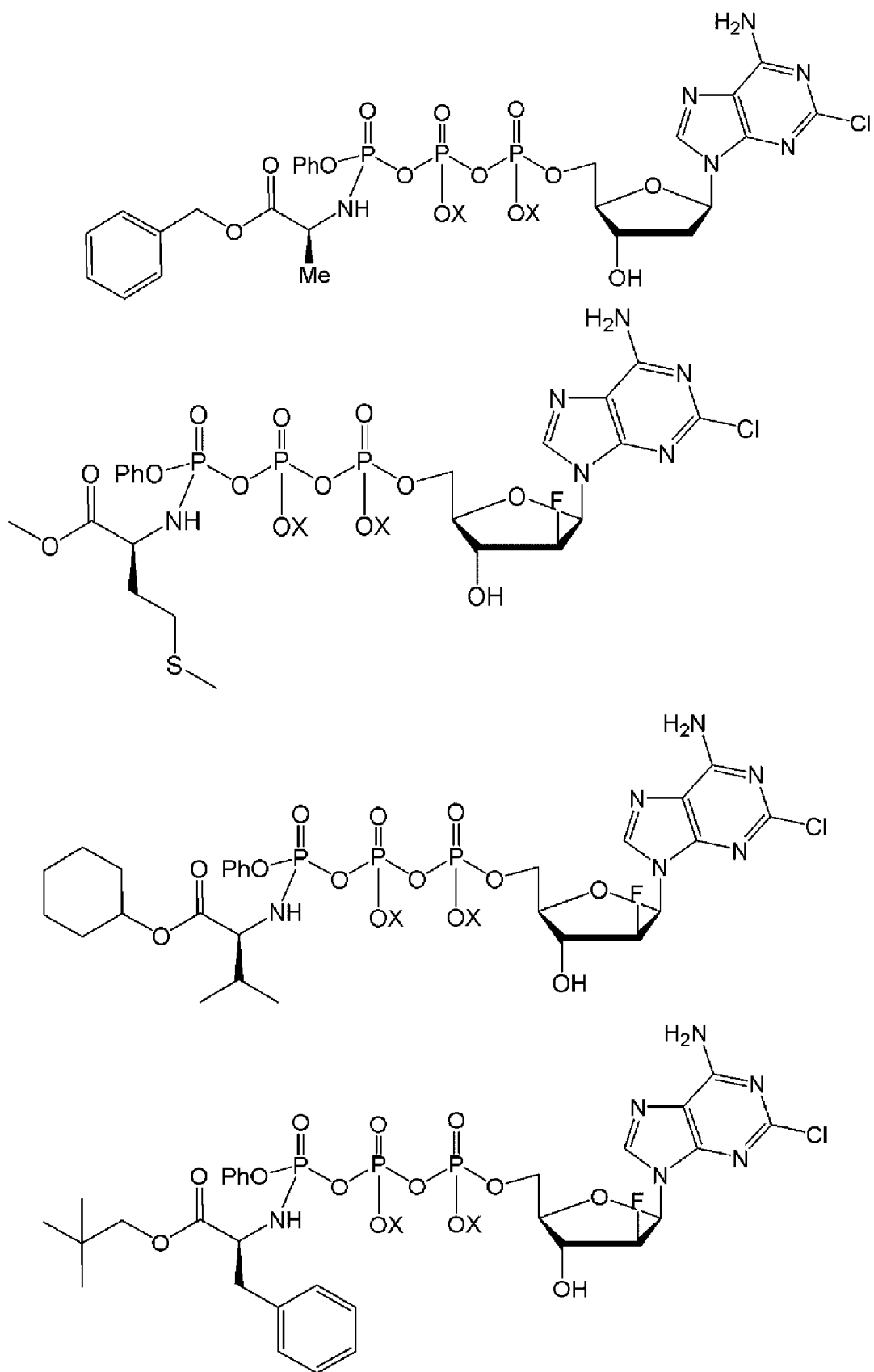


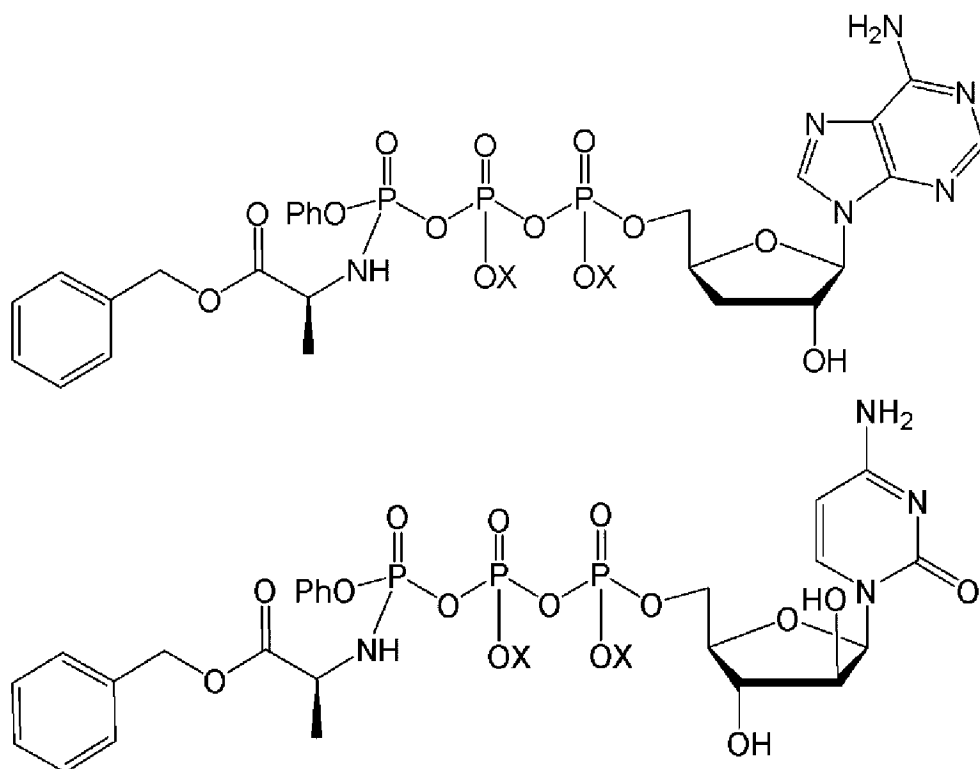
• R⁹ может представлять собой H. R⁹ может представлять собой Me.

[0049] Соединение формулы (I) можно выбрать из:









[0050] Может быть так, что X при каждом появлении представляет собой фармацевтически приемлемый катион. Может быть так, что X при каждом появлении представляет собой тот же самый фармацевтически приемлемый катион.

[0051] Может быть так, что X при одном появлении представляет собой H и при одном появлении фармацевтически приемлемый катион. Когда соединение содержит две трифосфатные группы, может быть так, что каждая трифосфатная группа содержит один X, который представляет собой H, и один X, который представляет собой фармацевтически приемлемый катион.

[0052] X может представлять собой катион металла, или он может представлять собой катион аммония. X может представлять собой катион металла, например, катион щелочного или щелочноземельного металла. X может представлять собой катион аммония, например, триалкилкаммониевый катион или аммониевый катион азотного гетероцикла. Иллюстративные катионы включают катионы, полученные из катионов алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглума, оламина, калия, натрия, триметамина, триэтиламина и цинка. X может представлять собой триэтиламинный катион.

[0053] Соединения настоящего изобретения содержат хиральный центр по атому фосфора (γ -фосфору), который соединен с OR^5 . Соединение может присутствовать в виде смеси фосфатных диастереоизомеров, в виде (S)-эпимера по атому фосфора в по существу диастереомерно чистой форме или в виде (R)-эпимера по атому фосфора в по существу диастереомерно чистой форме. «По существу диастереомерно чистый» определяют для целей настоящего изобретения как диастереомерная чистота более чем приблизительно 90%. Если оно присутствует в виде по существу диастереоизомерно чистой формы,

соединение может иметь диастереоизомерную чистоту более 95%, 98%, 99% или даже 99,5%. Альтернативно соединение может присутствовать в виде смеси фосфатных диастереоизомеров.

[0054] (R)- и/или (S)-эпимеры соединения можно получить в основном в диастереомерно чистой форме хроматографией, например, ВЭЖХ, необязательно применяя хиральную колонку. Альтернативно, (R)- и/или (S)-эпимеры соединения можно получить практически в диастереомерно чистой форме кристаллизацией из подходящего растворителя или системы растворителей.

[0055] Согласно второму аспекту настоящего изобретения, обеспечивают соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, для применения в способе лечения.

[0056] Согласно третьему аспекту настоящего изобретения, обеспечивают соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль для применения в профилактике или лечении рака.

[0057] Согласно четвертому аспекту настоящего изобретения обеспечивают применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли в получении лекарственного средства для профилактики или лечения рака.

[0058] Согласно пятому аспекту настоящего изобретения обеспечивают способ профилактики или лечения рака, включающий введение нуждающемуся в данном лечении пациенту эффективной дозы соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли.

[0059] Относительно каждого из третьего, четвертого и пятого аспектов настоящего изобретения, варианты осуществления настоящего изобретения включают рак, выбранный из, но не ограниченный, группы, состоящей из: рака поджелудочной железы, рака мочевого пузыря, других видов рака уротелия (например, рака мочеочника и почечной лоханки), рака желудочно-кишечного тракта (также известного как рак пищеварительного тракта, включая: рак пищевода, рак желудка, рак кишечника, рак тонкой кишки, рак толстой кишки, колоректального рака, муцинозного аппендикса, бокаловидноклеточного карциноида, рака печени, рака желчных путей, рака желчного пузыря, рака анального канала и рака прямой кишки), рака легких, рака почек), рака желчных путей, рака предстательной железы, холангиокарциномы, нейроэндокринного рака, саркомы, лимфомы, рака тимуса, мультиформной глиобластомы, рака неизвестного первичного происхождения, мезотелиомы, рака надпочечников, рака яичек, рака центральной нервной системы, базальноклеточного рака, болезни Боуэнса, других видов рака кожи (включая злокачественную меланому, опухоль клеток Меркеля и редкие опухоли придатков), плоскоклеточной неоплазии глазной поверхности, опухоли половых клеток, лейкемии, множественной миеломы, рака легких, рака печени, рака груди, рака головы и шеи, нейробластомы, рака щитовидной железы, плоскоклеточного рака полости рта, рака мочевого пузыря, опухоли клеток Лейдига и гинекологических раковых заболеваний (включая рак яичников, рак маточной трубы, рак брюшины, рак эндометрия, рак матки и

рак шейки матки, включая рак эпителия шейки матки).

[0060] В некоторых вариантах осуществления, рак представляет собой лейкемию или лимфому.

[0061] Рак может представлять собой лейкемию.

[0062] Существует четыре основных типа лейкемии в зависимости от того, являются ли они хроническими или острыми, миелоидными или лимфоидными по происхождению. Есть: острая миелоцитарная лейкемия (AML), острая лимфобластная лейкемия (ALL), хроническая миелоцитарная лейкемия (CML) и хроническая лимфоцитарная лейкемия (CLL).

[0063] Смесь данных типов также является известной; например, острой бифенотипической лейкемии (BAL; которая представляет собой смесь AML и ALL).

[0064] В конкретных вариантах осуществления, лейкемия выбрана из группы, состоящей из: острой миелоцитарной лейкемии (AML), острой лимфобластной лейкемии (ALL), хронической миелоцитарной лейкемии (CML), хронической лимфоцитарной лейкемии (CLL) и острой бифенотипической лейкемии (BAL; которая представляет собой смесь AML и ALL).

[0065] Хроническая лимфоцитарная лейкемия (CLL) включает подтипы: В-клеточная CLL (B-CLL), В-клеточная пролимфоцитарная лейкемия (PLL) и Т-клеточная хроническая пролимфоцитарная лейкемия (T-PLL) и несколько подтипов, которые различаются на генетическом уровне.

[0066] Острая лимфобластная лейкемия (ALL) включает подтипы: ALL предшественников В-клеток (B-ALL), ALL предшественников Т-клеток (T-ALL), ALL типа Беркитта и положительная по филадельфийской хромосоме (BCR-ABL фьюжн) ALL.

[0067] Острая миелоцитарная лейкемия (AML) включает подтипы: миелоидная лейкемия, моноцитарная лейкемия и острая промиелоцитарная лейкемия (APL).

[0068] Хронической миелоцитарной лейкемии (CML) включает подтипы: хроническая гранулоцитарная лейкемия (CGL) (CGL), ювенильная CML (JCML), хроническая нейтрофильная лейкемия (CNL), хроническая миеломоноцитарная лейкемия (CMML) и атипичная CML (aCML).

[0069] В конкретных вариантах осуществления, любой из подтипов CLL, ALL, AML и CML выше является подходящим для лечения соединениями настоящего изобретения или содержащими их фармацевтическими композициями.

[0070] Другие формы лейкемии, которые можно рассматривать как находящиеся за пределами данных четырех основных групп, включают: эритролейкоз, возникающий из предшественников красных кровяных телец; и лимфому, которая попала в кровь.

[0071] Рак может представлять собой лимфому, например, солидную лимфому.

[0072] Есть два основных типа лимфом: лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома. В каждом из данных типов есть различные подтипы.

[0073] В конкретных вариантах осуществления, лимфома выбрана из группы, состоящей из: лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы.

[0074] В конкретных вариантах осуществления, лимфома выбрана из группы, состоящей из: лимфомы Беркитта (BL), мантийно-клеточной лимфомы (MCL), фолликулярной лимфомы (FL), малой лимфоцитарной лимфомы (SLL), медленно растущей В-клеточной неходжкинской лимфомы, гистиоцитарной лимфомы (также известной как иммунобластная лимфома; IBL) и диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), включая активированную клеточную диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL-ABC) и зародышевый центр диффузную В-крупноклеточную В-клеточную лимфому В-клеток зародышевого центра (DLBCL-GCB).

[0075] В некоторых вариантах осуществления, рак представляет собой рак желудочно-кишечного тракта и может быть выбран из группы, состоящей из: рака пищевода, рака желудка, рака кишечника, рака тонкой кишки, рака толстой кишки, колоректального рака, слизистого аппендикса, карциноида бокаловидных клеток, рака печени, рака желчных путей, рака желчного пузыря, рака анального канала и рака прямой кишки.

[0076] В некоторых вариантах осуществления, рак имеет гинекологическое происхождение и может быть выбран из группы, состоящей из: рака матки, рака маточной трубы, рака эндометрия, рака яичника, рака брюшины и рака шейки матки). Подходяще рак яичников может быть эпителиальным раком яичников. Подходяще рак брюшины может быть первичным раком брюшины.

[0077] В частности, рак можно выбрать из, но не ограничиваясь, рака поджелудочной железы, рака легких, рака мочевого пузыря, рака груди, рака желчных путей, лимфомы, лейкемии, рака желудочно-кишечного тракта и гинекологического рака.

[0078] Обнаружено, что соединения настоящего изобретения сохраняют активность даже в условиях гипоксии. Раком, в частности связанным с гипоксией, является рак поджелудочной железы и почек.

[0079] Рак может рецидивировать. Рак может быть метастатическим. Рак может не лечиться ранее.

[0080] Рак может быть рефрактерным раком, который ранее лечился, но оказался невосприимчивым к предыдущему лечению. Альтернативно, у пациента с раком может быть непереносимость предыдущей терапии, например, могут развиваться побочные эффекты, которые делают пациента непереносимым к дальнейшему лечению вводимым агентом.

[0081] Согласно шестому аспекту настоящего изобретения, обеспечивают фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, и, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Фармацевтическая композиция может быть для применения в профилактике или лечении рака, например, рака или группы видов рака, приведенных выше.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0082] Предполагается, что термин 'соляной раствор' относится к водному раствору

хлорида натрия. Соляные растворы настоящего изобретения будут обычно стерильными и будут обычно при концентрации, подходящей для применения в виде парентерального введения. Подходящие концентрации составляют вплоть до 2 вес/об% или вплоть до 1 вес/об%. Для оптимизации осмолярности можно применять различные концентрации в составах настоящего изобретения, например, 0,9% или 0,45%.

[0083] Составы настоящего изобретения можно применять в лечении ела человека. Их можно применять в лечении тела животного.

[0084] Соединения в составах настоящего изобретения можно получить, хранить и/или вводить в виде фармацевтически приемлемой соли. Подходящий фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются, соли фармацевтически приемлемых неорганических кислот, таких как хлористоводородная, серная, фосфорная, азотная, угольная, борная, сульфаминовая и бромистоводородная кислоты, или соли фармацевтически приемлемых органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, масляная, винная, малеиновая, гидроксималеиновая, фумаровая, яблочная, лимонная, молочная, слизевая, глюконовая, бензойная, янтарная, щавелевая, фенилуксусная, метансульфоновая, толуолсульфоновая, бензолсульфоновая, салициловая, сульфаниловая, аспарагиновая, глутаминовая, этилендиаминтетрауксусная, стеариновая, пальмитиновая, олеиновая, лауриновая, пантотеновая, дубильная, аскорбиновая и валерьяновая кислоты. Подходящие основные соли получают из оснований, которые образуют нетоксичные соли. Примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамина и цинка. Также можно получить гемисоли кислот и оснований, например, гемисульфатную, гемиоксалатную соль и соль гемикальция.

[0085] Для приведенных выше составов настоящего изобретения вводимая дозировка, конечно, будет зависеть от применяемого соединения, точного способа введения, желаемого лечения и указанного заболевания. Ожидается, что уровни доз, частота приема и продолжительность лечения соединениями настоящего изобретения будут различаться в зависимости от состава и клинического показания, возраста и сопутствующих заболеваний пациента. Размер дозы для терапевтических целей соединений настоящего изобретения, естественно, будет варьироваться в зависимости от природы и тяжести заболеваний, возраста и пола животного или пациента и пути введения в соответствии с хорошо известными принципами медицины.

[0086] Фармацевтический состав обычно находится в виде композиции, в которой активные соединения или их фармацевтически приемлемые соли, находятся в сочетании с фармацевтически приемлемыми адъювантом, разбавителем или носителем. Один данный фармацевтически приемлемый адъювант, разбавитель или носитель в составах настоящего изобретения представляет собой полярный апротонный растворитель. Общеизвестные способы отбора и получения подходящих фармацевтических составов описаны, например, в "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

[0087] Составы может быть подходящим для местного нанесения (например, на кожу или мочевого пузыря), для перорального введения или для парентерального (например, внутривенного введения).

[0088] Любые растворители, применяемые в фармацевтических составах настоящего изобретения, должны быть фармацевтического качества, под этим подразумевается, что они имеют профиль примесей, который делает их подходящими для введения (например, внутривенного введения) людям.

[0089] Для перорального введения составы настоящего изобретения могут содержать активное соединение, смешанное с адъювантом или носителем, например, лактозой, сахарозой, сорбитом, маннитолом; крахмалом, например, картофельным крахмалом, кукурузным крахмалом или амилопектином; производным целлюлозы; связующим, например, желатином или поливинилпирролидоном; и/или смазывающим агентом, например, стеаратом магния, стеаратом кальция, полиэтиленгликолем, воском, парафином и подобными, и затем их прессуют в таблетки. Если требуются таблетки с покрытием, ядра, полученные, как описано выше, могут быть покрыты концентрированным раствором сахара, который может содержать, например, аравийскую камедь, желатин, тальк и диоксид титана. Альтернативно, таблетку можно покрывать подходящим полимером, растворенным в легко летучем органическом растворителе.

[0090] Для получения мягких желатиновых капсул активные соединения можно смешивать, например, с растительным маслом или полиэтиленгликолем. Твердые желатиновые капсулы могут содержать гранулы соединения, применяя любое из вышеупомянутых вспомогательных веществ для таблеток. Также жидкие или полутвердые составы активных соединений можно заполнять в твердые желатиновые капсулы.

[0091] Жидкие препараты для перорального применения могут быть в форме сиропов или суспензий, например, растворов, содержащих соединение настоящего изобретения, где остальное составляет сахар и смесь этанола, воды, глицерина и пропиленгликоля. Необязательно, данные жидкие препараты могут содержать красители, ароматизаторы, подсластители (такие как сахарин), консерванты и/или карбоксиметилцеллюлозу в качестве загустителя или другие вспомогательные вещества, известные специалистам в данной области техники.

[0092] Составы могут быть для парентерального (например, внутривенного) введения. Для парентерального (например, внутривенного) введения активные соединения можно вводить в виде стерильного водного или масляного раствора. Предпочтительно, активные соединения вводят в виде стерильного водного раствора. Водный раствор может дополнительно содержать, по меньшей мере, одно поверхностно-активное вещество и/или органический растворитель. Иллюстративные органические растворители включают диметилацетамид, этанол, этиленгликоль, N-метилпирролидион, диметилсульфоксид, диметилформамид и изопропанол. Иллюстративные поверхностно-активные вещества включают полиэтоксилированные жирные кислоты и эфиры жирных кислот и их смеси. Подходящие поверхностно-активные вещества включают полиэтоксилированное

касторовое масло (например, которое продается под торговым названием Kolliphor® ELP); или полиэтоксилированную стеариновую кислоту (например, которая продается под торговыми названиями Solutol® или Kolliphor® HS15); или полиэтоксилированный (например, полиоксиэтилен (20)) сорбитанмоноолеат (например, который продается под торговыми названиями Polysorbate 80 или Tween® 80).

[0093] Фармацевтическая композиция настоящего изобретения будет предпочтительно содержать 0,05-99% по весу (процентов по весу) соединения настоящего изобретения, более предпочтительно 0,05-80% по весу соединения настоящего изобретения, еще более предпочтительно 0,10-70% по весу соединения настоящего изобретения, и даже еще более предпочтительно 0,10-50% по весу соединения настоящего изобретения, причем все проценты по весу приводятся относительно всей композиции.

[0094] Было показано, что циклодекстрины находят широкое применение при доставке лекарственных средств (Rasheed *et al*, *Sci. Pharm.*, **2008**, 76, 567-598). Циклодекстрины представляют собой семейство циклических олигосахаридов. Они действуют как «молекулярная клетка», которая инкапсулирует молекулы лекарственного средства и изменяет свойства данных молекул лекарственного средства, такие как растворимость. Циклодекстрины содержат (α -1,4)-соединенные α -D-глюкопиранозные звенья. Циклодекстрины могут содержать 6, 7 или 8 звеньев глюкопиранозы (обозначенные α -, β - и γ -циклодекстринами, соответственно). Циклодекстрины, применяемые в фармацевтических составах, часто представляют собой β -циклодекстрины. Боковые гидроксильные группы могут быть алкилированы C₁-C₆ замещенными или незамещенными алкильными группами. Примерами циклодекстринов являются α -циклодекстрин, β -циклодекстрин, γ -циклодекстрин, 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин (HP- β -CD), натриевая соль сульфобутилового эфира β -циклодекстрина, частично метилированный β -циклодекстрин. Составы настоящего изобретения могут также содержать, по меньшей мере, один циклодекстрин.

[0095] Термин C_m-C_n относится к группе с m-n атомами углерода.

[0096] Термин “алкил” относится к линейной или разветвленной углеводородной группе. Алкильная группа является моновалентной. Например, C₁-C₆-алкил может относиться к метилу, этилу, *n*-пропилу, изопропилу, *n*-бутилу, *втор*-бутилу, *трет*-бутилу, *n*-пентилу и *n*-гексилу. Алкильные группы предпочтительно являются незамещенными.

[0097] Термин “алкилен” относится к линейной углеводородной цепи. Алкиленовая группа является двухвалентной group. Например, C₁-алкилен может относиться к CH₂ группе. C₂-алкилен может относиться к -CH₂CH₂- группе. Алкиленовые группы являются предпочтительно незамещенными.

[0098] Термин “галогеналкил” относится к углеводородной цепи, замещенной, по меньшей мере, одним атомом галогена, независимо выбранным при каждом появлении из: фтора, хлора, брома и йода. Атом галогена может присутствовать по любому положению в углеводородной цепи. Например, C₁-C₄-галогеналкил может относиться к хлорметилу, фторметилу, трифторметилу, хлорэтилу, например, 1-хлорметилу и 2-хлорэтилу,

трихлорэтилу, например, 1,2,2-трихлорэтилу, 2,2,2-трихлорэтилу, фторэтилу, например, 1-фторметилу и 2-фторэтилу, трифторэтилу, например, 1,2,2-трифторэтилу и 2,2,2-трифторэтилу, хлорпропилу, трихлорпропилу, фторпропилу, трифторпропилу. Галогеналкильная группа может представлять собой фторалкильную группу, т.е., углеводородную цепь, замещенную, по меньшей мере, одним атомом фтора.

[00099] Термин “алкенил” относится к разветвленной или линейной углеводородной цепи, содержащей, по меньшей мере, одну углерод-углеродную двойную связь. Двойная связь (связи) могут присутствовать в виде *E* или *Z* изомера. Двойная связь может находиться любому возможному положению углеводородной цепи. Например, “C₂-C₄-алкенил” может относиться к этенилу, аллилу и бутенилу. Алкенильные группы предпочтительно являются незамещенными.

[00100] Термин “алкинил” относится к разветвленной или линейной углеводородной цепи, содержащей, по меньшей мере, одну углерод-углеродную тройную связь. Тройная связь может находиться любому возможному положению углеводородной цепи. Например, “C₂-C₆-алкинил” может относиться к этинилу, пропинилу, бутинилу. Алкинильные группы предпочтительно являются незамещенными.

[00101] Термин “циклоалкил” относится к насыщенной углеводородной кольцевой системе, содержащей 3, 4, 5 или 6 атомов углерода. Например, “3-6-членный циклоалкил” может относиться к циклопропилу, циклобутилу, цикlopентилу, циклогексилу. Циклоалкильные группы предпочтительно являются незамещенными.

[00102] Термин “гетероциклоалкил” может относиться к насыщенной или частично насыщенной моноциклической группе, содержащей 1 или 2 гетероатома, независимо выбранные из O, S и N в кольцевой системе (другими словами, 1 или 2 атома, образующие кольцевую систему, выбраны из O, S и N). Примеры гетероциклоалкильных групп включают; пиперидин, пиперазин, морфолин, тиоморфолин, пирролидин, тетрагидрофуран, тетрагидротиофен, тетрагидропиран, дигидропиран, диоксан, азепин. Гетероциклоалкильные группы являются предпочтительно незамещенными или замещенными.

[00103] Настоящее изобретение включает таутомеры, когда возможна таутомерия, соединений формул (I)-(X).

[00104] Настоящее изобретение также включает составы всех фармацевтически приемлемых изотопно-меченных форм соединения, в которых один или несколько атомов заменены атомами, имеющими тот же атомный номер, но атомную массу или массовое число, отличное от атомной массы или массового числа преобладающего изотопа, обычно встречающегося в природе.

[00105] Примеры изотопов, подходящих для включения в соединения настоящего изобретения, включают изотопы водорода, такие как ²H и ³H, углерода, такие как ¹¹C, ¹³C и ¹⁴C, хлора, такие как ³⁶Cl, фтора, такие как ¹⁸F, йода, такие как ¹²³I и ¹²⁵I, азота, такие как ¹³N и ¹⁵N, кислорода, такие как ¹⁵O, ¹⁷O и ¹⁸O, фосфора, такие как ³²P, и серы, такие как ³⁵S.

[00106] Некоторые изотопно-меченые соединения, например, соединения,

содержащие радиоактивный изотоп, являются пригодными в исследованиях распределения лекарственных средств и/или субстратов в тканях. Радиоактивные изотопы тритий, т.е. ^3H , и углерод-14, т.е. ^{14}C , и ^{18}F , являются особенно пригодными для данной цели ввиду простоты их включения и готовых способов обнаружения.

[00107] Замена более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, т.е. ^2H , может дать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличенным периодом полувыведения *in vivo* или уменьшенными требованиями к дозировке, и, следовательно, может быть предпочтительной в некоторых обстоятельствах.

[00108] Изотопно-меченые соединения можно, как правило, получить обычными способами, известными специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными способам, описанным, применяя подходящие изотопно-меченые реагенты вместо ранее применяемого немеченого реагента.

[00109] Способ лечения или состав для применения в лечении рака, включая лимфому или лейкемию, может включать, помимо составов настоящего изобретения, обычную хирургическую операцию или лучевую терапию или химиотерапию. Данная химиотерапия может включать введение одного или нескольких других активных агентов.

[00110] Когда дополнительный активный агент вводят как часть способа лечения настоящего изобретения, данное комбинированное лечение может быть достигнуто путем одновременного, последовательного или раздельного дозирования отдельных компонентов лечения. В данных комбинированных продуктах применяют соединения настоящего изобретения в пределах терапевтически эффективного диапазона доз, описанного в настоящем изобретении ранее, и один или несколько других фармацевтически активных агентов в пределах его утвержденного диапазона доз.

[00111] Таким образом, фармацевтические составы настоящего изобретения могут содержать другой активный агент.

[00112] Один или более других активных агентов могут представлять собой один или более из следующих категорий противоопухолевых агентов:

(i) антипролиферативные/противоопухолевые лекарственные средства и их комбинации, такие как алкилирующие агенты (например, циклофосфамид, азотистый иприт, бендамустин, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, темозоламид и нитрозомочевина); антиметаболиты (например, гемцитабин и антифолаты, такие как фторпиримидины, такие как 5-фторурацил и тегафур, ралтитрексед, метотрексат, пеметрексед, цитозинарабинозид и гидроксимочевина); антибиотики (например, антрациклины, такие как адриамицин, блеомицин, доксорубицин, дауномицин, эпирубицин, идарубицин, митомицин-С, дактиномицин и митрамицин); антимитотические агенты (например, алкалоиды барвинка, такие как винкристин, винбластин, виндезин и винорелбин, и таксоиды, такие как таксол, таксотер и ингибиторы полокиназы); ингибиторы протеасом, например, карфилзомиб и бортезомиб; интерфероновая терапия; и ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподофиллотоксины, такие как этопозид и

тенипозид, амсакрин, топотекан, митоксантрон и камптотецин);

(ii) цитостатические агенты, такие как антиэстрогены (например, тамоксифен, фулвестрант, торемифен, ралоксифен, дролоксифен и йодоксифен), антиандрогены (например, бикалутамид, флутамид, нилутамид и ацетат ципротерона), антагонисты LHRH или агонисты LHRH (например, гозерелин, лейпрорелин и бусерелин), прогестагены (например, мегестролацетат), ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, летрозол, воразол и экземестан) и ингибиторы 5 α -редуктазы, такие как финастерид;

(iii) антиинвазивные агенты, например, дазатиниб и босутиниб (SKI-606), и ингибиторы металлопротеиназ, ингибиторы функции рецептора активатора плазминогена урокиназы или антитела к гепараназе;

(iv) ингибиторы функции фактора роста: например, данные ингибиторы включают антитела к фактору роста и антитела к рецепторам фактора роста, например, антитело к erbB2 трастузумаб [Герцептин™], антитело к EGFR панитумумаб, антитело к erbB1 цетуксимаб, ингибиторы тирозинкиназ, например, ингибиторы семейства эпидермального фактора роста (например, ингибиторы тирозинкиназы семейства EGFR, такие как gefитиниб, эрлотиниб и 6-акриламидо-N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-(3-морфолинопропокси)-хиназолин- 4-амин (CI 1033), ингибиторы тирозинкиназы erbB2, такие как лапатиниб); ингибиторы семейства факторов роста гепатоцитов; ингибиторы семейства инсулиновых факторов роста; модуляторы белков-регуляторов апоптоза клеток (например, ингибиторы Bcl-2); ингибиторы семейства факторов роста тромбоцитов, такие как иматиниб и/или нилотиниб (AMN107); ингибиторы серин/треониновых киназ (например, ингибиторы передачи сигналов Ras/Raf, такие как ингибиторы фарнезилтрансферазы, например, сорафениб, типифарниб и лонафарниб), ингибиторы передачи сигналов клеток посредством киназ MEK и/или АКТ, ингибиторы c-kit, ингибиторы киназы abl, ингибиторы киназы PI3, ингибиторы киназы Plt3, ингибиторы киназы CSF-1R, рецептор IGF, ингибиторы киназ; ингибиторы авроракиназы и ингибиторы циклинзависимой киназы, такие как ингибиторы CDK2 и/или CDK4;

(v) антиангиогенные агенты, такие как агенты, которые ингибируют эффекты фактора роста эндотелия сосудов, [например, антитело к фактору роста эндотелиальных клеток сосудов бевацизумаб (Авастин™); талидомид; леналидомид; и, например, ингибитор тирозинкиназы рецептора VEGF, такой как вандетаниб, ваталаниб, сунитиниб, акситиниб и пазопаниб;

(vi) геннотерапевтические подходы, включая, например, подходы к замене аберрантных генов, таких как аберрантный p53 или аберрантный BRCA1 или BRCA2;

(vii) иммутотерапевтические подходы, включая, например, адоптивный перенос клеток, такой как CAR T-клеточная терапия; терапия антителами, такими как алемтузумаб, ритуксимаб, ибритумомаб тиуксетан (Зевалин®) и офатумумаб; интерфероны, такие как интерферон α ; интерлейкины, такие как IL-2 (альдеслейкин); ингибиторы интерлейкина, например, ингибиторы IRAK4; противораковые вакцины, включая профилактические и терапевтические вакцины, такие как вакцины против ВПЧ, например, гардазил, церварикс,

онкофаг и сипулейцел-Т (провенг); и модуляторы толл-подобных рецепторов, например, агонисты TLR-7 или TLR-9;

(viii) цитотоксические агенты, например, флударабин (флудара), кладрибин, пентостатин (NipentTM);

(ix) стероиды, такие как кортикостероиды, включая глюкокортикоиды и минералокортикоиды, например, аклометазон, дипропионат аклометазона, альдостерон, амцинонид, беклометазон, дипропионат беклометазона, бетаметазон, дипропионат бетаметазона, бетаметазонфосфат натрия, валерат бетаметазона, будесонид, клобетазон, бутират клобетазона, пропионат клобетазола, клопреднол, кортизон, ацетат кортизона, кортивазол, дезоксикортон, дезонид, дезоксиметазон, дексаметазон, дексаметазонфосфат натрия, изоникотинат дексаметазона, дифлуорокортолон, флуоклоролон, флуметазон, флунизолит, флуоцинолон, ацетонид флуоцинолона, флуоцинонид, флуокортин бутил, фторкортизон, фторкортолон, капроат флуокортолона, пивалат флуокортолона, флуорометолон, флупредниден, ацетат флупреднидена, флурандренолон, флутиказон, пропионат флутиказона, галцинонид, гидрокортизон, ацетат гидрокортизона, бутират гидрокортизона, ацепонат гидрокортизона, бутепрат гидрокортизона, валерат гидрокортизона, икометазон, энбутат икометазона, мепреднизон, метилпреднизолон, мометазон, параметазон, моногидрат фууроата мометазона, предникарбат, преднизолон, преднизон, тиксокортол, пивалат тиксокортола, триамцинолон, ацетонид триамцинолона, триамцинолоновый спирт и их соответствующие фармацевтически приемлемые производные. Можно применять комбинацию стероидов, например, комбинацию двух или более стероидов, упомянутых в данном параграфе;

(x) таргетные терапии, например, PI3Kd ингибиторы, например, иделалисиб и перифозин; или соединения-ингибиторы контрольных точек, включая молекулы анти-PD-1, анти-PD-L1 и анти-CTLA4, такие как ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, атезолизумаб, дурвалумаб и авелумаб.

[00113] Один или более других активных агентов могут также представлять собой антибиотик.

[00114] Во всем описании и формуле настоящего изобретения слова «содержат» и «включают» и их вариации обозначают «включая, но не ограничиваясь», и они не предназначены (и не исключают) другие части, добавки, компоненты, целые числа или стадии. Во всем описании и формуле настоящего изобретения единственное число охватывает множественное число, если контекст не требует иного. В частности, если применяют неопределенный артикль, описание следует понимать как предполагающее множественность, а также единственность, если контекст не требует иного.

[00115] Следует понимать, что признаки, целые числа, характеристики, соединения, химические фрагменты или группы, описанные в связи с конкретным аспектом, вариантом осуществления или примером настоящего изобретения, применимы к любому другому аспекту, варианту осуществления или примеру, описанному в настоящем изобретении, если они не являются несовместимыми с ними. Все признаки, описанные в настоящем

изобретении (включая любую прилагаемую формулу изобретения, аннотацию и чертежи), и/или все стадии любого способа или процесса, описанного таким образом, можно комбинировать в любой комбинации, кроме комбинаций, где, по меньшей мере, некоторые из данных признаков и/или стадий являются взаимоисключающими. Настоящее изобретение не ограничивается деталями любых вышеизложенных вариантов осуществления. Настоящее изобретение распространяется на любой новый или любую новую комбинацию признаков, описанных в настоящем изобретении (включая любую формулу изобретения, аннотацию и чертежи), или на любой новый или любую новую комбинацию стадий любого способа или процесса. Описанного таким образом.

[00116] Внимание читателя направлено на все статьи и документы, которые поданы одновременно или до данной заявки в связи с данной заявкой и которые открыты для всеобщего ознакомления с данной заявкой, и содержание всех данных статей и документов включено в настоящее изобретение посредством ссылки.

ПРИМЕРЫ

В настоящем описании, данные сокращения имеют следующие значения.

aq	водый	MS	Масс-спектрометрия
Bz	бензоил	NMR	Ядерный магнитный резонанс
CDI	карбонилдиимидазол	Np	1-нафтил
DCM	дихлорметан	Py	пиридин
DMF	N, N-диметилформамид	rt	Комнатная температура
DMSO	диметилсульфоксид	TBAF	фторид тетра-н-бутиламмония
DMTr	4,4-диметокситрифенилметил	TBDMSC 1	трет-бутилдиметилсилилхлорид
EC ₅₀	Полумаксимальная эффективная концентрация	TEAB	Буфер на основе гидрокарбоната триэтиламмония
eq.	эквиваленты	TFA	Трифторуксусная кислота
HPLC	Жидкостная хроматография высокого давления	t _R	Время удерживания
h	часы	Ts	п-толуолсульфонил
IC ₅₀	Полумаксимальная ингибирующая концентрация		

Общий способ получения фосфорамидатов трифосфатов

Соединения настоящего изобретения можно получить согласно общей схеме А. Может быть так, что любые гидроксиды и/или аминогруппы в нуклеозидном остатке R⁶ защищают защитной группой, которую можно удалять в конце синтеза.

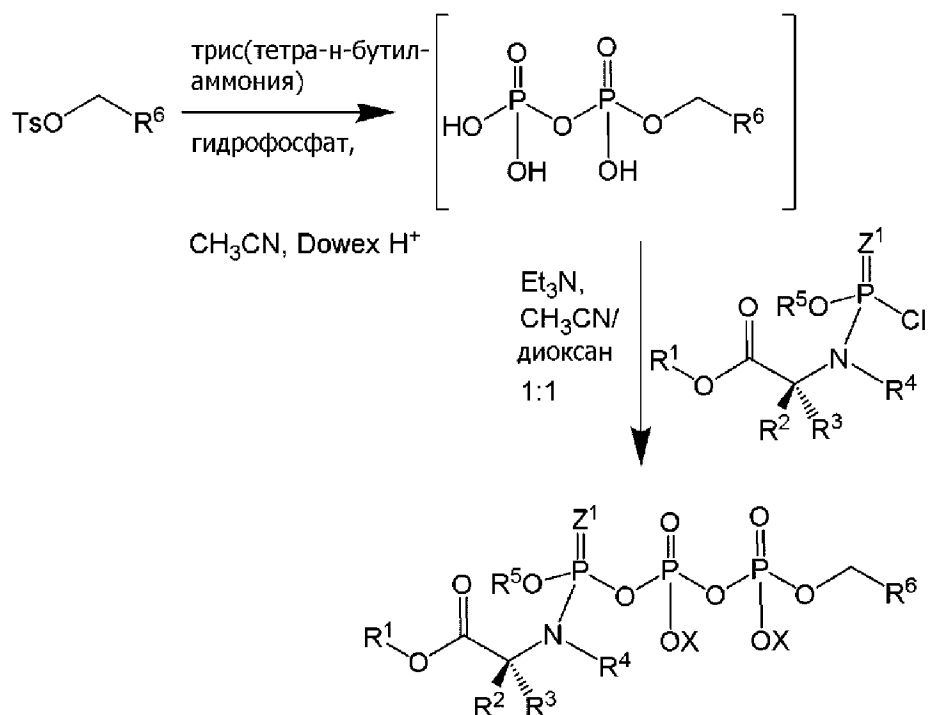


Схема А

Примеры

Некоторые соединения настоящего изобретения можно получить согласно или аналогично схемам 1-6:

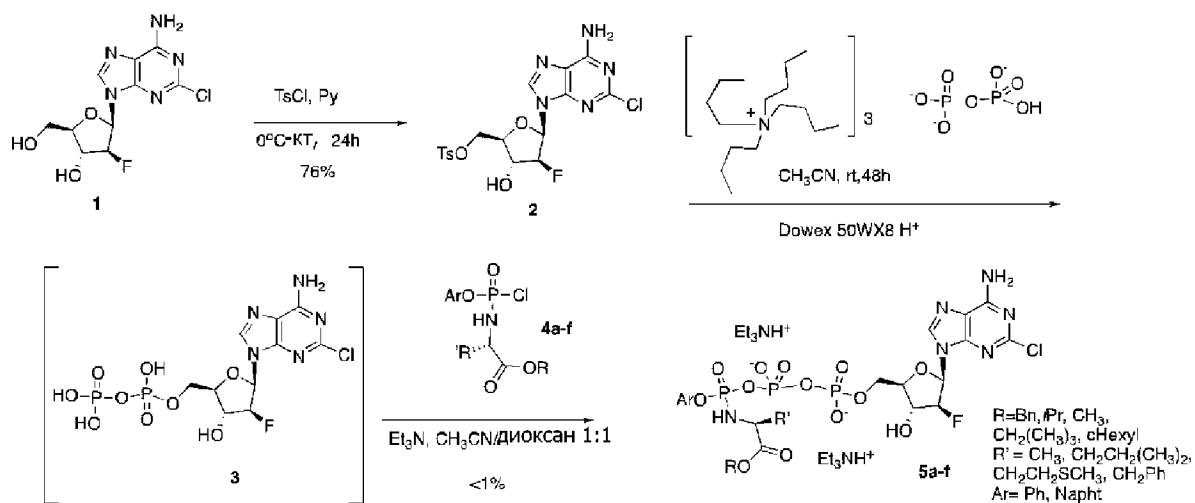


Схема 1

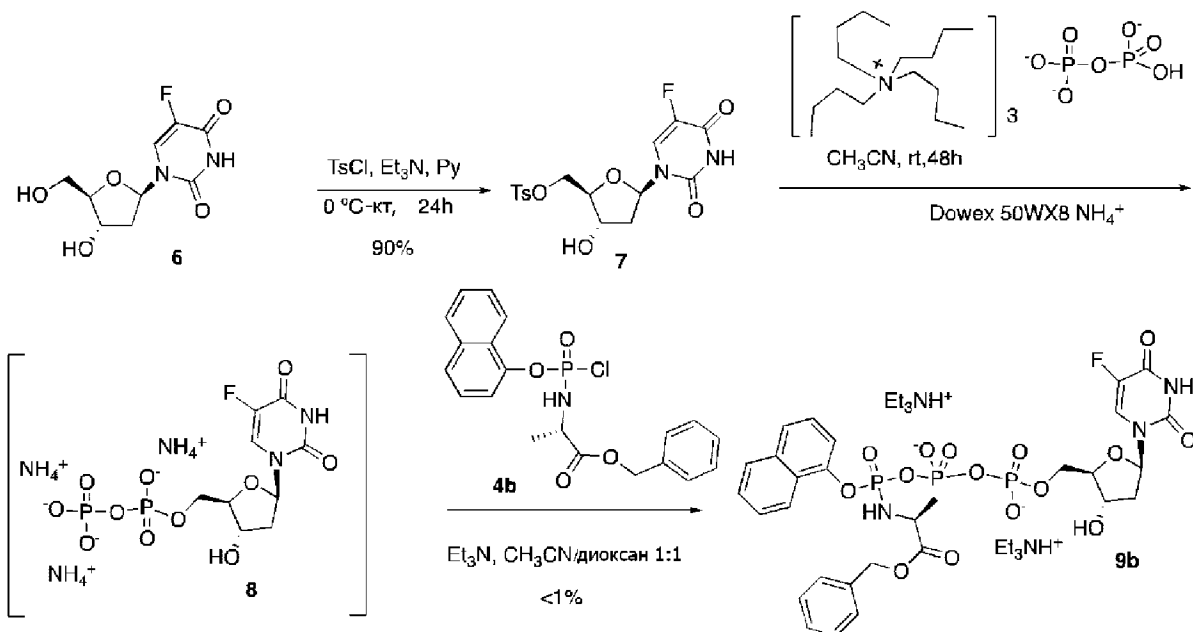


Схема 2

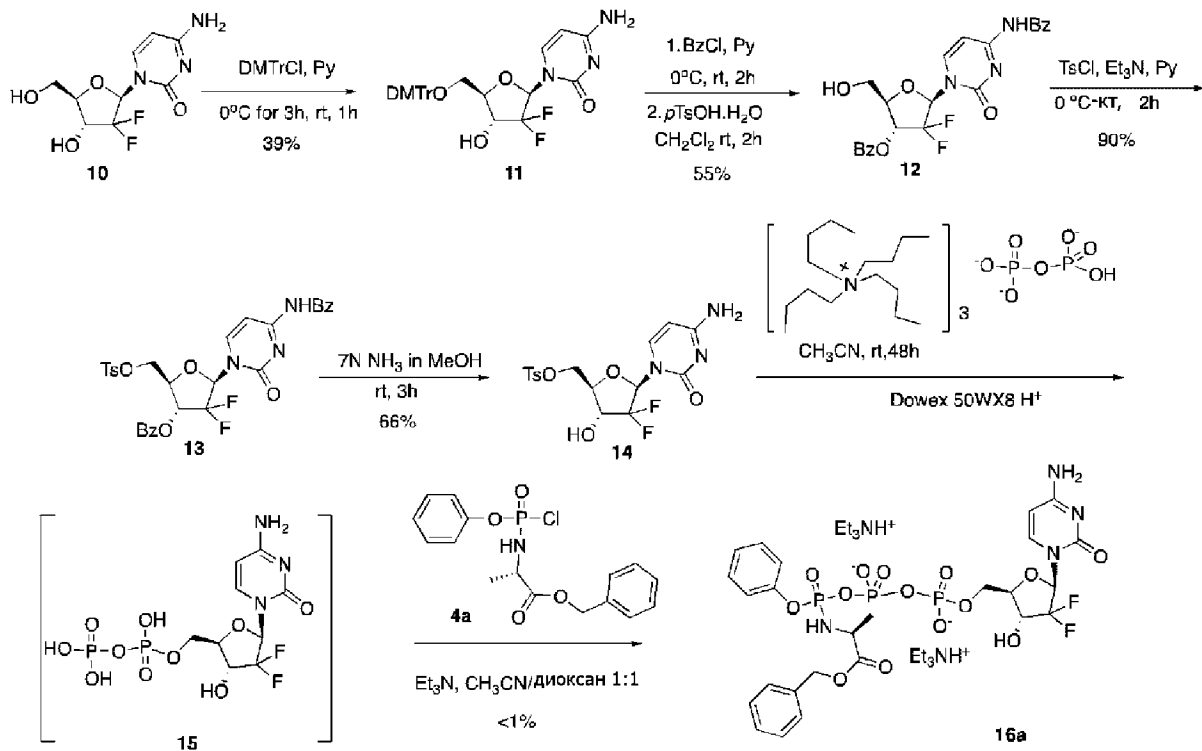


Схема 3

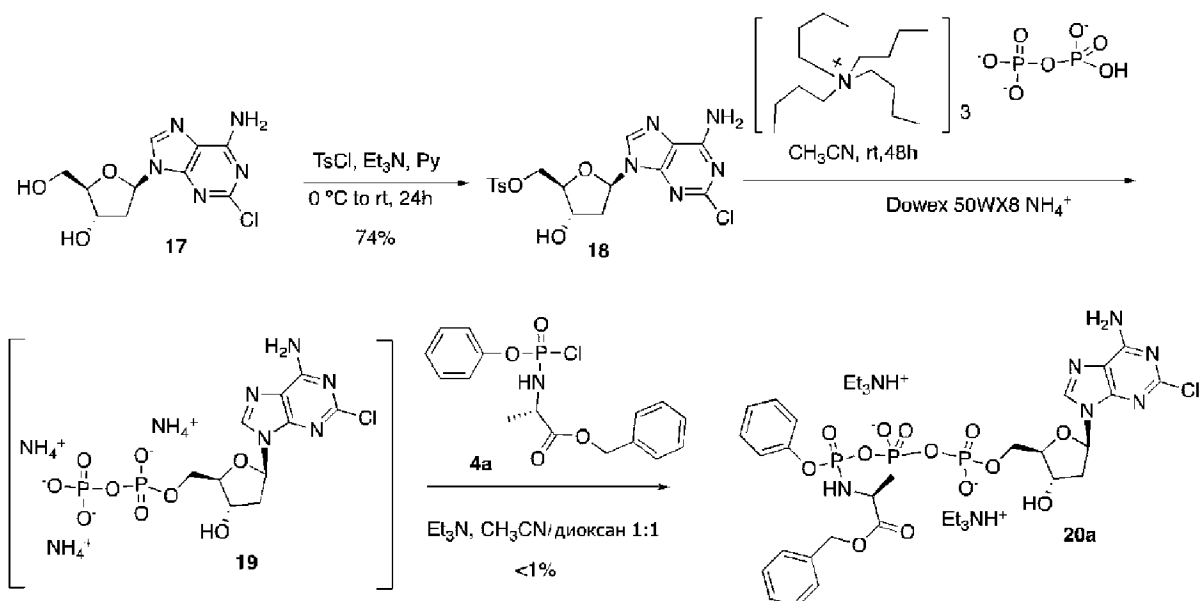


Схема 4

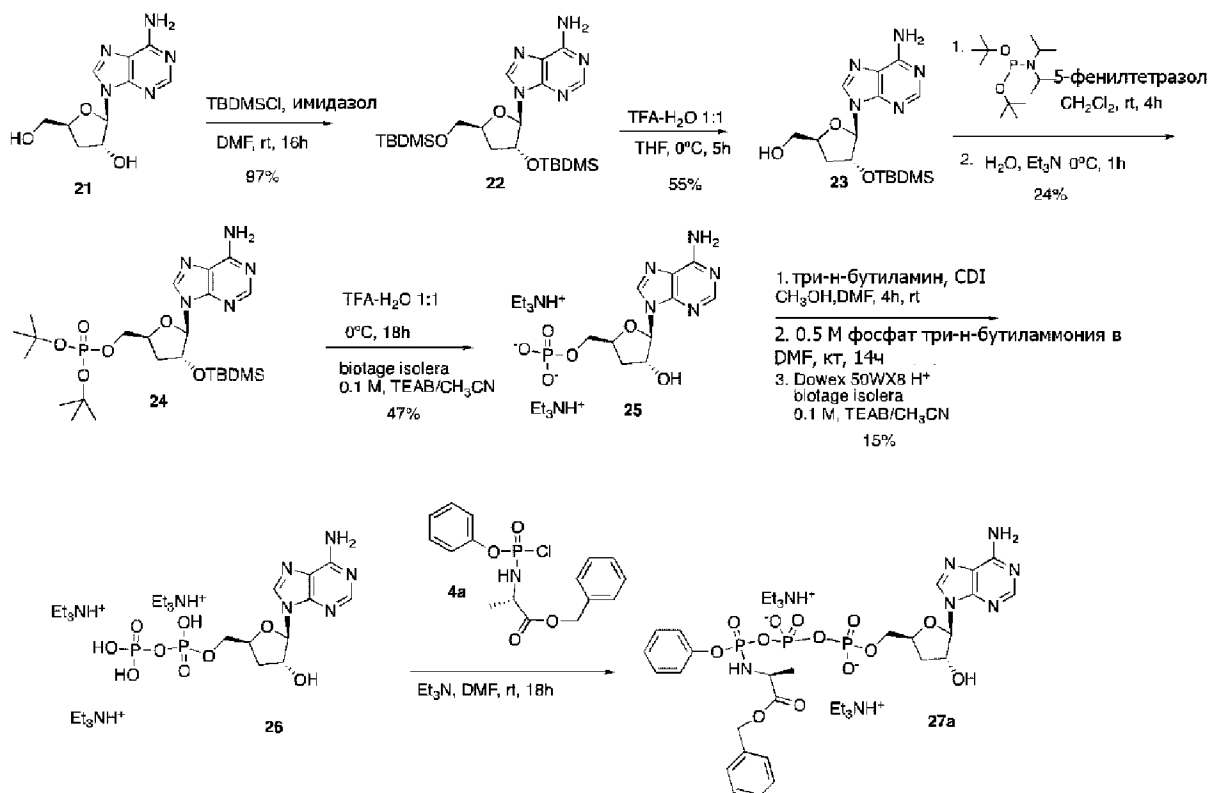


Схема 5

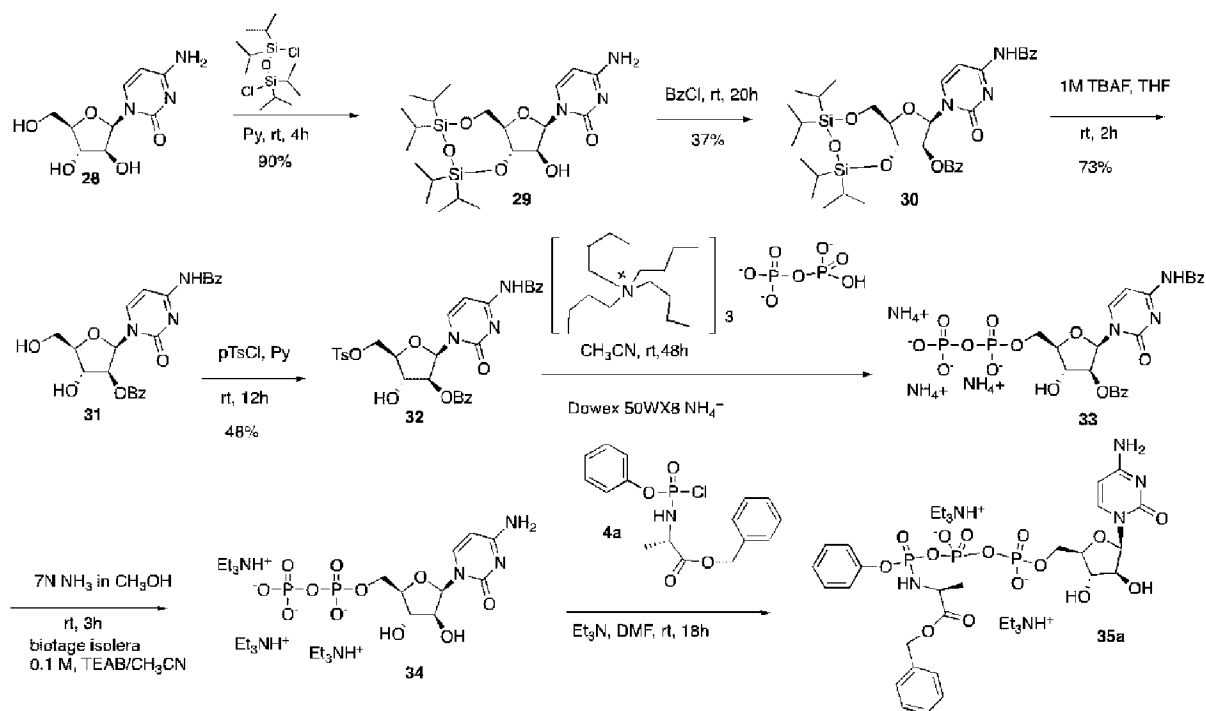


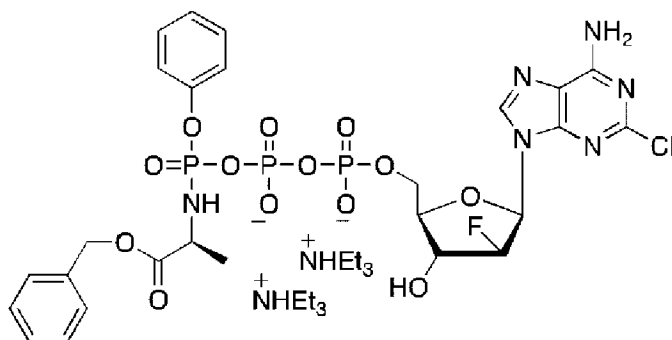
Схема 6

Общая схема получения фосфорамидатных пролекарств дифосфатов и трифосфатов (5a-f, 9b, 16a и 20a)

[00117] В 5 мл круглодонной колбе гидропирофосфат трис(тетра-*n*-бутиламмония) (0,66 ммоль) добавляют к 1,3М раствору 5'-*пара*-толуолсульфонатного эфира нуклеозида (0,44 ммоль) в сухом ацетонитриле, и смесь перемешивали в течение 48 ч при комнатной температуре и в атмосфере аргона. После завершения, растворитель удаляли при пониженном давлении на роторном испарителе, и остаток растворяли в деионизированной воде (1 мл). Катион (тетра-*n*-бутиламмония) обменивали на протон пропусканием раствора через DOWEX 50WX8 колонку (100-200 меш, 12 экв., H⁺ или NH₄⁺ форма) и элюировали 3 объемами колонки ионизированной воды. Растворитель удаляли в вакууме, и неочищенный продукт применяли в следующей стадии без дополнительной очистки. Смесь неочищенного нуклеозид 5'-дифосфата (1 ммоль) в 1:смеси 1,4-диоксан/ацетонитрил или DMF (20 мл) перемешивали при комнатной температуре (кт) в атмосфере аргона и добавляли по каплям подходящий фосфорхлоридат **4a-f** (1,0-1,2 экв.), растворенный в безводном ацетонитриле или DMF. Полученную в результате реакцию смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре. Неочищенную смесь упаривали при пониженном давлении, и остаток растворяли в 0,1 М TEAB и промывали DCM. После упаривания водной фазы, неочищенный остаток очищали на Biotage Isolera One (C18 SNAP Ultra 30, 60, 120 г картридж с градиентом 0,1 М TEAB в ацетонитриле от 100 до 0% в качестве элюента в течение 45 мин) или ВЭЖХ на полупрепаративной колонке (Varian Pursuit XRs 5C18, 150×21,22 мм), применяя градиент 0,1 М TEAB в ацетонитриле от 90% до 0% в течение 35 мин.

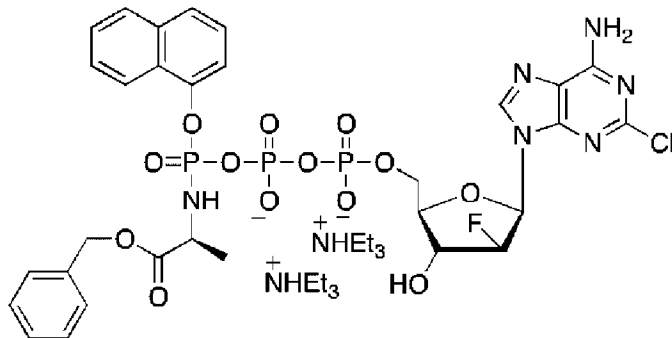
(2*S*)-Бензил 2-((((((((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-(6-амино-2-хлор-9*H*-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)гидроксифосфорил)окси)

(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат, триэтиламмониевая соль (5a).

 $\partial u -$ 

[00118] Получали согласно общему способу, исходя из ((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-(6-амино-2-хлор-9*H*-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (**2**) (250 мг, 0,56 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (740 мг, 0,82 ммоль) в CH₃CN (0,6 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата (126 мг, 0,27 ммоль), триэтиламина (0,81 ммоль, 0,11 мл) и арилоксифосфорхлоридат **4a** (0,27 ммоль, 96 мг) в смеси CH₃CN/1,4-диоксан (8 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **5a** (<1%), 1H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,21 (д, J_{H-F}=1,9 Гц, 1H, *H*-8), 7,22-7,13 (м, 10H, Ar-*H*), 6,29 (дд, J=4,3 J_{H-F}=15,2, 1H, *H*-1'), 6,28 (дд, J=4,3 J_{H-F}=14,85 Гц, 1H, *H*-1'), 5,09-4,97 (м, 3H, *H*-2', OCH₂Ph), 4,52 (ддд, J=3,7 и 4,7 Гц, J_{H-F}=18,3, 1H, *H*-3'), 4,26-4,14 (м, 3H, *H*-5') 4,07-4,00 (м, *H*-4' и -CHNH), 3,00 (кв, 12H, -NCH₂CH₃), 1,34 (д, J=7,5 Гц, 1,5H, CH₃), 1,23 (д, J=7,6 Гц, 1,5H, CH₃), 1,17 (т, J=7,3 Гц, 18H, -NCH₂CH₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,55 (д, J_{P-P}=17,8 Гц, 0,5P), -8,16 (д, J_{P-P}=17,8, 0,5P), -11,64 (д, J_{P-P}=21,00 Гц, 1P), -24,31 (-24,50) (м, 1P). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, CD₃OD): δ_F -199,75, -199,78. Обращенная ВЭЖХ, элюируя градиентом CH₃CN в 0,1М ТЕАВ буфере рН=7,4 от 10/90 до 100/0 в течение 30 мин, 1 мл/мин, λ=270 нм, с t_R=14,17 мин

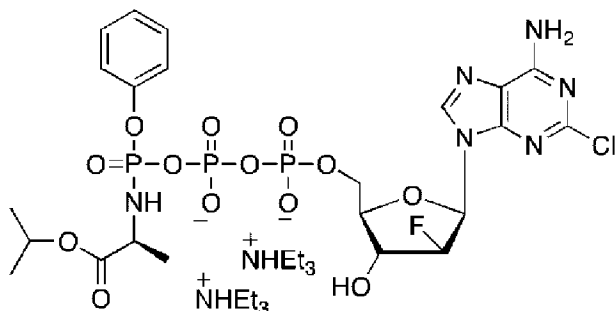
[00119] (2S)-Бензил 2-((((((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(нафталин-1-илокси)фосфорил)амино)пропаноат ди-триэтиламмониевая соль (5b).



[00120] Получали согласно общему способу, исходя из ((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-(6-амино-2-хлор-9*H*-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (**2**) (315 мг, 0,69 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония)

(932 мг, 1,04 ммоль) в CH_3CN (0,75 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата (330 мг, 0,43 ммоль), триэтиламина (1,3 ммоль, 0,2 мл) и арилоксифосфорхлорида **4b** (0,52 ммоль, 210 мг) в DMF (7 мл), получая после очистки <15 мг требуемого соединения **5b** (<1%), ^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,26-8,19 (м, 2H, *H*-8, Ar-*H*), 7,63-7,69 (м, 1H, Ar-*H*), 7,55-7,48 (м, 2H, Ar-*H*), 7,39-7,35 (м, 1H, Ar-*H*), 7,29-7,22 (м, 1H, Ar-*H*), 7,15-7,11 (м, 5H, Ar-*H*), 6,25 (дд, $J=4,3$ Гц, $J_{\text{H-F}}=15,09$, 1H, *H*-1'), 5,01 (дд, $J=3,9$ Гц, 7. Гц, $J_{\text{H-F}}=52,1$ Гц, 1H, *H*-2'), 4,90-4,81 (м, 2H, $-\text{OCH}_2\text{Ph}$), 4,53-4,48 (м, 1H, *H*-3'), 4,26-4,00 (м, 4H, *H*-5', *H*-4' и NHCHCH_3), 3,04 (кв, 12H, 2 x $(\text{NCH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,33 (д, $J=7,5$ Гц, 1,5H, CH_3), 1,18 (д, $J=7,6$ Гц, 1,5H, CH_3), 1,15 (т, $J=7,3$ Гц, 18H, 2 x $(\text{NCH}_2\text{CH}_3)_3$). ^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,17 (д, $J_{\text{P-P}}=17,8$ Гц, 0,5P), -7,92 (д, $J_{\text{P-P}}=17,8$ Гц, 0,5P), -11,40 (д, $J_{\text{P-P}}=19,8$ Гц, 0,5P), -11,44 (д, $J_{\text{P-P}}=20,2$ Гц, 0,5P), -23,89-(-24,16) (м, 1P). ^{19}F ЯМР (470 МГц, CD_3OD): δ_{F} -199,83, -199,85. Обращенная ВЭЖХ, элюируя градиентом CH_3CN в 0,1М ТЕАВ буфере pH= 7,4 от 10/90 до 100/0 в течение 30 мин, 1 мл/мин, $\lambda=270$ нм, c $t_{\text{R}}=13,55$ мин.

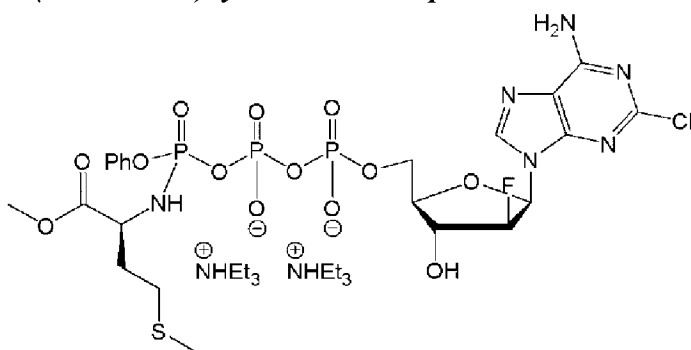
[00121] **(2S)-Изопропил 2-((((((((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат ди-триэтиламмониевая соль (5c).**



[00122] Получали согласно общему способу, исходя из ((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (**2**) (315 мг, 0,7 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (932 мг, 1,04 ммоль) в CH_3CN (0,75 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата (330 мг, 0,45 ммоль), триэтиламина (1,3 ммоль, 0,2 мл) и арилоксифосфорхлорида **4c** (0,68 ммоль, 158 мг) в DMF (7 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **5c** (<1%). ^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,23 (д, $J_{\text{HF}}=1,9$ Гц, 1H, *H*-8), 7,26-7,00 (м, 5H, Ar-*H*), 6,31 (дд, $J=4,3$ Гц, $J_{\text{H-F}}=15,2$ Гц, 1H, *H*-1'), 5,05 (дд, $J=3,9$ Гц, 4,4 Гц, $J_{\text{H-F}}=52,1$ Гц, 1H, *H*-2'), 4,86-4,80 (м, 1H, $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 4,57-4,51 (м, 1H, *H*-3'), 4,25-4,15 (м, 3H, *H*-5') 4,07-4,04 (м, 1H, *H*-4'), 3,97-3,89 (м, 1H, NHCHCH_3), 2,84 (кв, 12H, 2 x $(\text{NCH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,33 (д, $J=7,5$ Гц, 1,5H, CH_3), 1,22 (д, $J=7,6$ Гц, 1,5H, CH_3), 1,12-1,07 (м, 24H, $\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$, 2 x $(\text{NCH}_2\text{CH}_3)_3$). ^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,10 (д, $J_{\text{P-P}}=17,8$ Гц, 0,5P), -7,6 (д, $J_{\text{P-P}}=17,8$ Гц, 0,5P), -11,41 (д, $J_{\text{P-P}}=20,85$ Гц, 1P), -11,45 (д, $J_{\text{P-P}}=20,85$ Гц, 1P), -23,67-(-23,65) (м, 1P).

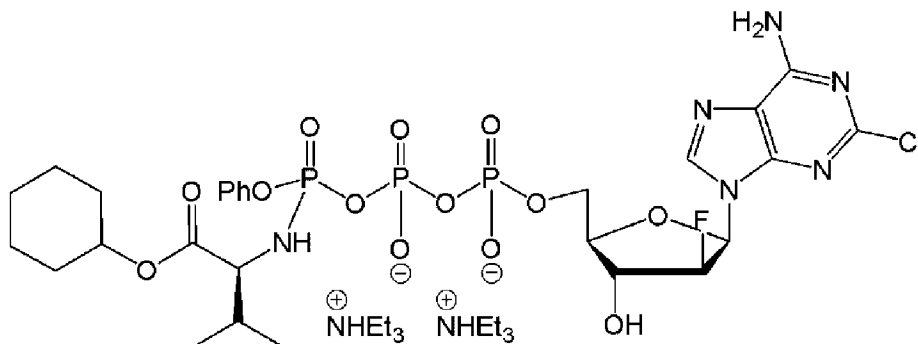
[00123] **(2S)-Метил 2-((((((((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-**

ил).метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)-4-(метилтио)бутаноат ди-триэтиламмониевая соль (5d).



[00124] Получали согласно общему способу, исходя из ((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (**2**) (315 мг, 0,7 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (932 мг, 1,05 ммоль) в CH₃CN (0,75 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата (345 мг, 0,45 ммоль), триэтиламина (1,3 ммоль, 0,2 мл) и арилоксифосфорхлорида **4d** (0,54 ммоль, 182 мг) в DMF (7 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **5d** (<1%), ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,34 (д, J_{HF}=2,0 Гц, 1H, H-8), 7,35-7,32 (м, 2H, Ar-H), 7,28-7,24 (м, 1H, Ar-H), 7,21-7,19 (м, 1H, Ar-H), 7,17-7,14 (м, 1H, Ar-H), 6,42 (дд, J=4,0 Гц, J_{H-F}=15,0 Гц, 1H, H-1'), 5,17 (дт, J=3,0 Гц, J_{H-F}=52,0 Гц, 1H, H-2'), 4,64 (дт, J=3,5 Гц, J_{H-F}=18,0 Гц, 1H, H-3'), 4,39-4,28 (м, 2H, H-5'), 4,20-4,12 (м, H-4', NHCH), 3,64, 3,63 (2 x с, 3H, OCH₃), 3,00 (кв, 12H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 2,49-2,38 (м, 2H, NHCHCH₂CH₂SCH₃), 2,05-1,81 (м, 5H, NHCHCH₂CH₂SCH₃), 1,17 (т, J=7,3 Гц, 18H, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,65 (д, J_{P-P}=19,40 Гц, 1P), -11,69 (д, J_{P-P}=20,6 Гц, 0,5P), -11,75 (д, J_{P-P}=20,6 Гц, 0,5P), -24,44-(-24,69) (м, 1P).

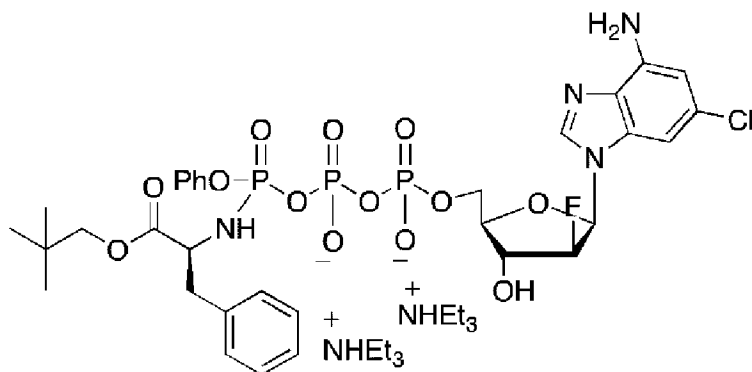
[00125] *(2S)-Циклогексил 2-((((((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил).метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)-3-метилбутаноат ди-триэтиламмониевая соль (5e).*



[00126] Получали согласно общему способу, исходя из ((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (**2**) (315 мг, 0,7 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (932 мг, 1,05 ммоль) в CH₃CN (0,75 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата

(345 мг, 0,45 ммоль), триэтиламина (1,3 ммоль, 0,2 мл) и арилоксифосфорхлорида **4e** (0,54 ммоль, 202 мг) в DMF (7 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **5e** (<1%), 1H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_{H} 8,19 (предположительно т, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, 1H, H-8), 7,21-7,14 (м, 3H, Ar-H), 7,03-6,96 (м, 2H, Ar-H), 6,41 (дд, $J=4,5$ Гц, $J_{\text{H-F}}=15,0$ Гц, 1H, H-1'), 5,15 (дт, $J=3,0$ Гц, $J_{\text{H-F}}=52,0$ Гц, 1H, H-2'), 4,76-4,57 (м, 1H, OCH-циклогексил), 4,69-4,63 (м, 1H, H-3'), 4,25-4,12 (м, 2H, H-5'), 4,02-4,00 (м, 1H, H-4'), 3,66 (дд, $J=10$ Гц, 5,0 Гц, 0,5H, NHCHCH(CH₃)₂), 3,59 (дд, $J=10$ Гц, 5,0 Гц, 0,5H, NHCHCH(CH₃)₂), 3,00 (кв, 12H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 1,94-1,82 (м, 1H, NHCHCH(CH₃)₂), 1,71-1,67 (м, 1H, CH_{2a}-циклогексил), 1,63-1,54 (м, 3H, 1H, CH_{2b}-циклогексил), 1,40-1,19 (м, 6H, 3 x CH₂-циклогексил), 0,86 (предположительно т, $J=7,0$ Гц, 3H, NHCHCH(CH₃)₂), 0,75 (д, $J=7,0$ Гц, 1,5H, NHCHCH(CH₃)₂), 0,71 (д, $J=7,0$ Гц, 1,5H, NHCHCH(CH₃)₂), 1,17 (т, $J=7,3$ Гц, 18H, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_{P} -6,90 (д, $J_{\text{P-P}}=19,60$ Гц, 0,5P), -7,17 (д, $J_{\text{P-P}}=19,60$ Гц, 0,5P), -11,66 (д, $J_{\text{P-P}}=21,0$ Гц, 0,5P), -11,68 (д, $J_{\text{P-P}}=21,0$ Гц, 0,5P), -24,32-(-24,58) (м, 1P).

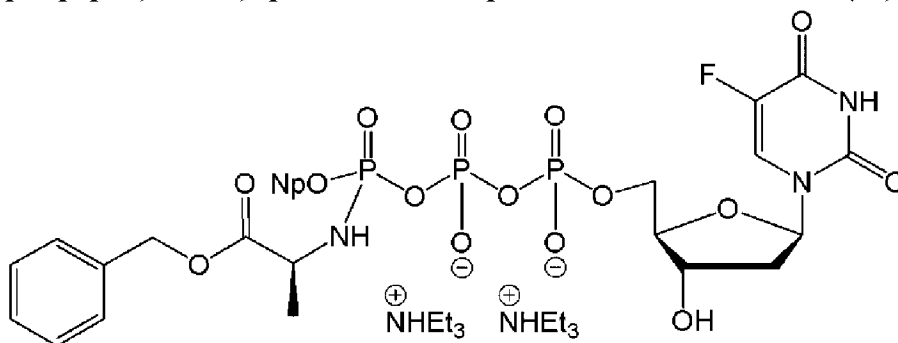
[00127] **(2S)-Неопентил 2-((((((((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)-3-фенилпропаноат ди-триэтиламмониевая соль (5f).**



Получали согласно общему способу, исходя из ((2R,3R,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (**2**) (315 мг, 0,7 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (932 мг, 1,05 ммоль) в CH₃CN (0,75 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата (345 мг, 0,45 ммоль), триэтиламина (1,3 ммоль, 0,2 мл) и арилоксифосфорхлорида **4f** (0,54 ммоль, 221 мг) в DMF (7 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **5f** (<1%). 1H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_{H} 8,33 (д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, 0,5H, H-8), 8,32 (д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, 0,5H, H-8), 7,35-7,13 (м, 10H, Ar-H), 6,40 (дд, $J=4,3$ $J_{\text{H-F}}=14,85$ Гц, 1H, H-1'), 5,16 (дт, $J=3,5$ Гц, $J_{\text{H-F}}=52,1$ Гц, 1H, H-2'), 4,67-4,60 (м, 1H, H-3'), 4,37-4,09 (м, 5H, H-5', H-4', OCH₂(CH₃)₃), 3,30-3,21 (м, 1H, NHCH₂Ph), 3,00 (кв, 12H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 1,17 (м, 27H, OCH₂(CH₃)₃, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_{P} -5,50 (д, $J_{\text{P-P}}=19,60$ Гц, 0,5P), -5,48 (д, $J_{\text{P-P}}=19,60$ Гц, 0,5P), -11,67 (д, $J_{\text{P-P}}=21,0$ Гц, 0,5P), -11,66 (д, $J_{\text{P-P}}=21,0$ Гц, 0,5P), -24,28-(-24,50) (м, 1P).

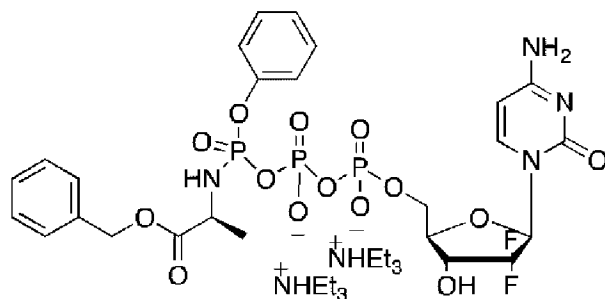
[00128] **(2S)-Бензил 2-((((((((2R,3S,5R)-5-(5-фтор-2,4-дioxo-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(нафталин-1-**

илокси)фосфорил)амино)пропаноат ди-триэтиламмониевая соль (9b).



[00129] Получали согласно общему способу, исходя из ((2*R*,3*S*,5*R*)-5-(5-фтор-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2*H*)-ил)-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (7) (1 г, 2,50 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (2,7 г, 3 ммоль) в CH₃CN (2,7 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата (600 мг, 1,3 ммоль), триэтиламина (3,9 ммоль, 7 мл) и арилоксифосфорхлорида **6b** (1,3 ммоль, 513 мг) в DMF (10 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **9b** (<1%). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,24-8,22 (м, 1H, Ar-*H*), 7,92 (д, *J*_{H-F}=6,7 Гц, 1H, *H*-6), 7,75-7,72 (м, 1H, Ar-*H*), 7,56-7,50 (м, 2H, Ar-*H*), 7,41-7,38 (м, 1H, Ar-*H*), 7,31-7,24 (м, 1H, Ar-*H*), 7,17-7,10 (м, 5H, Ar-*H*), 6,13-6,08 (м, 1H, *H*-1'), 4,92-4,83 (м, 2H, -OCH₂Ph), 4,45-4,42 (м, 1H, *H*-3'), 4,16-4,02 (м, 3H, *H*-5' NHCHCH₃), 3,89-3,87 (м, 1H, *H*-4'), 3,04 (кв, 6H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 1,33 (д, *J*=7,5 Гц, 1,5H, CH₃), 1,19 (д, *J*=7,6 Гц, 1,5H, CH₃), 1,18 (т, *J*=7,3 Гц, 9H, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -6,93 (д, *J*_{P-P}=17,8 Гц, 0,5P), -7,59 (д, *J*_{P-P}=17,8 Гц, 0,5P), -11,22 (д, *J*_{P-P}=19,3 Гц, 0,5P), -11,33 (д, *J*_{P-P}=21,2 Гц, 0,5P), -23,37-(-23,63) (м, 1P). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, CD₃OD): δ_F -167,28, -167,29. Обращенная ВЭЖХ, элюируя градиентом CH₃CN в 0,1M TEAB буфере pH=7,4 от 10/90 до 100/0 в течение 30 мин, 1 мл/мин, λ=270 нм, с *t*_R=12,97 мин.

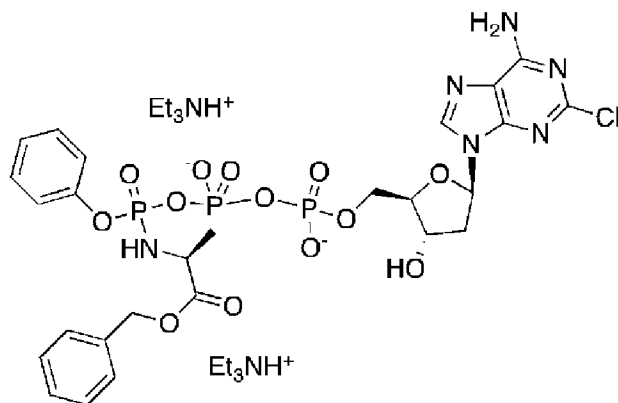
(2*S*)-Бензил 2-((((((((2*R*,3*R*,5*R*)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2*H*)-ил)-4,4-дифтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат ди-триэтиламмониевая соль (16a).



[00130] Получали согласно общему способу, исходя из ((2*R*,3*R*,5*R*)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2*H*)-ил)-4,4-дифтор-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил-4-метилбензолсульфоната (**14**) (95 мг, 0,23 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (308 мг, 0,34 ммоль) в CH₃CN (0,3 мл) для первой стадии и затем неочищенного фосфата

(96 мг, 0,23 ммоль), триэтиламина (0,66 ммоль, 0,9 мл) и арилоксифосфорхлоридата **4a** (0,23 ммоль, 92 мг) в DMF (3 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **16a** (<1%). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 7,79 (д, *J*=7,5 Гц, 0,5H, *H*-6), 7,78 (д, *J*=7,5 Гц, 0,5H, *H*-6), 7,23-7,16 (м, 10H, Ar-*H*), 6,13-6,07 (м, 1H, *H*-1'), 5,89 (д, *J*=7,5 Гц, 0,5H, *H*-5), 5,85 (д, *J*=7,5 Гц, 0,5H, *H*-5), 5,04-4,96 (м, 2H, OCH₂Ph), 4,34-4,18 (м, 3H, *H*-5', *H*-3'), 4,06-4,00 (м, 1H, CHNHCH₃), 3,87-3,84 (м, 1H, *H*-4'), 3,07 (кв, 6H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 1,34 (д, *J*=7,6 Гц, 1,5H, CH₃), 1,24 (д, *J*=7,6 Гц, 1,5H, CH₃), 1,18 (т, *J*=7,3 Гц, 9H, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,16 (д, *J*_{P-P}=17,5 Гц, 0,5P), -7,64 (д, *J*_{P-P}=17,5 Гц, 0,5P), -11,22 (д, *J*_{P-P}=18,34 Гц, 0,5P), -11,36 (д, *J*_{P-P}=18,34 Гц, 0,5P), -23,40-(-23,59) (м, 1P). ¹⁹F ЯМР (470 МГц, CD₃OD): δ_F -119,6 (д, *J*_{F-F}=240,21 Гц, 0,5F), -119,2 (д, *J*_{F-F}=240 Гц, 0,5F), -120,31 (д, *J*_{F-F}=241,74 Гц, F). Обращенная ВЭЖХ, элюируя градиентом CH₃CN в 0,1M TEAB буфере pH= 7,4 от 10/90 до 100/0 в течение 30 мин, 1 мл/мин, λ=263 нм, с t_R=12,10 мин (88%).

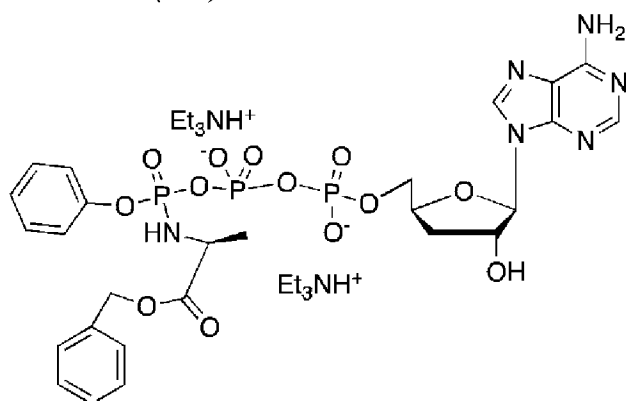
(2S)-Бензил 2-((((((((2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат ди-триэтиламмониевая соль (20a).



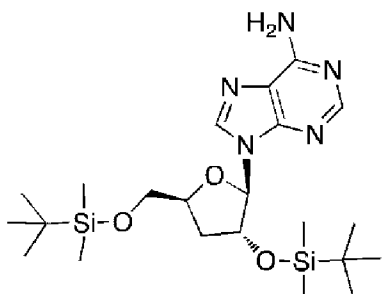
[00131] Получали согласно общему способу, исходя из ((2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (**18**) (210 мг, 0,50 ммоль), гидропирофосфата (тетрабутиламмония) (700 мг, 0,77 ммоль) в CH₃CN (0,8 мл) для первой стадии, и затем неочищенного фосфата (164 мг, 0,33 ммоль), триэтиламина (0,99 ммоль, 0,13 мл) и арилоксифосфорхлоридата **4a** (0,39 ммоль, 140 мг) в DMF (8 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **20a** (<1%), ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,48 (с, 1H, *H*-8), 7,33-7,27 (м, 9H, Ar-*H*), 7,14-7,11 (м, 1H, Ar-*H*), 6,41 (т, *J*=6,6 Гц, 1H, *H*-1'), 6,28 (т, *J*=6,6 Гц, 1H, *H*-1'), 5,11 (с, 1H, OCH₂Ph), 5,10 (с, 1H, OCH₂Ph), 4,52 (м, 1H, *H*-3'), 4,26-4,14 (м, 4H, *H*-5', *H*-4', NHCHCH₃), 2,79 (кв, 12H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 2,75-2,62 (м, 1H, *H*-2'), 2,46-2,09 (м, 1H, *H*-2'), 1,46 (д, *J*=7,5 Гц, 1,5H, CH₃), 1,35 (д, *J*=7,6 Гц, 1,5H, CH₃), 1,14 (т, *J*=7,3 Гц, 18H, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,57 (д, *J*_{P-P}=18,7 Гц, 0,5P), - 8,17 (д, *J*_{P-P}=18,2 Гц, 0,5P), -11,79 (д, *J*_{P-P}=20,6 Гц, 0,5P), -11,83 (д, *J*_{P-P}=20,2 Гц, 0,5P), -24,31-(-24,50) (м, 1P).

[00132] **Общий способ получения ди-триэтиламмониевой соли (2S)-бензил 2-((((((((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-**

ил).метокси)(гидроксифосфорил)окси)(гидроксифосфорил)окси)(феноксифосфорил)амино)пропаноата (27a).

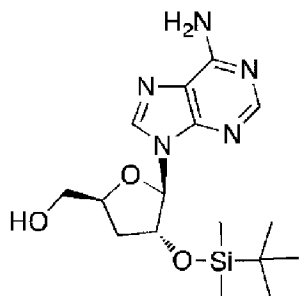


[00133] **9-((2R,3R,5S)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-5-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)тетрагидрофуран-2-ил)-9H-пурин-6-амин (22).**



[00134] 3'-Дезоксиаденозин (**21**) (1,13 г, 4,5 ммоль) растворяли в DMF (50 мл) и добавляли в колбу TBDMSCl (2,03 г, 13,5 ммоль) и имидазол (1,84 г, 27 ммоль). Смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли CHCl_3 (20 мл), и органический слой промывали NH_4Cl (насыщенный раствор, 20 мл x 3). Органический слой сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали, получая **22** в виде липкого твердого вещества (1,56 г, 72%). ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3) δ_{H} 8,36 (с, 1H, H-8), 8,34 (с, 1H, H-2), 6,03 (д, $J=1,2$ Гц, 1H, H-1'), 5,54 (br s, 2H, NH_2), 4,66-4,63 (м, 1H, H-2'), 4,61-4,55 (м, 1H, H-4'), 4,14 (дд, $J=11,7$ Гц, 2,7 Гц, 1H, H-5'), 3,80 (дд, $J=11,7$ Гц, 2,7 Гц, 1H, H-5'), 2,32-2,25 (м, 1H, H-3'), 1,91-1,85 (м, 1H, H-3'), 0,97 (с, 9H, трет-But), 0,92 (с, 9H, трет-But), 0,17 (с, 3H, CH_3), 0,16 (с, 3H, CH_3), 0,15 (с, 3H, CH_3), 0,10 (с, 3H, CH_3).

[00135] **((2S,4R,5R)-5-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)тетрагидрофуран-2-ил)метил ди-трет-бутилфосфат(23).**

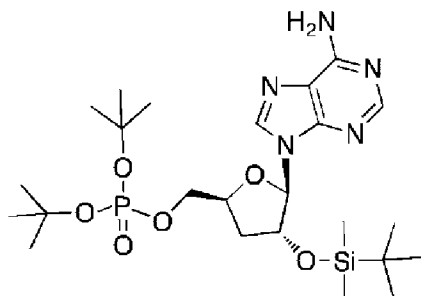


[00136] Соединение **22** (1,56 г, 3,25 ммоль) растворяли в THF (2 мл) и охлаждали до

0 °С. Раствор TFA в воде (1 мо, 1/1 об/об) добавляли по каплям, и смесь перемешивали в течение 5 часов при 0°С. Раствор упаривали в вакууме, и неочищенный остаток очищали Biotage Isolera One (30 г ZIP картридж KP SIL, 60 мл/мин, градиентная система для элюирования 2-20% CH₃OH/CH₂Cl₂ 10CV, 20% 5CV), получая **23** в виде белой пены (1,16 г, 98%). ¹H ЯМР (500 МГц, CDCl₃) δ_H 8,45 (с, 1H, *H*-8), 7,97 (с, 1H, *H*-2), 6,29 (уш с, 2H, NH₂), 5,74 (д, *J*=6,0 Гц, 1H, *H*-1'), 5,19-5,12 (м, 1H, *H*-2'), 4,65-4,60 (м, 1H, *H*-4'), 4,11 (дд, *J*=13,0 Гц, 1,5 Гц, 1H, *H*-5'), 3,67 (дд, *J*=12,5 Гц, 1,5 Гц, 1H, *H*-5'), 2,72-2,62 (м, 1H, *H*-3'), 2,37-2,26 (м, 1H, *H*-3'), 1,48 (д, *J*=7,0 Гц, 1H, OH-5'), 0,91 (с, 9H, *tert*-But), 0,00 (с, 3H, CH₃), -0,12 (с, 3H, CH₃).

[00137]

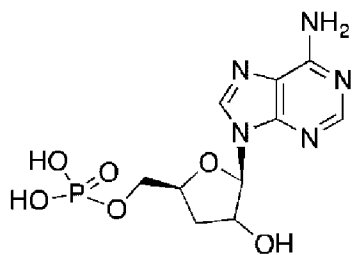
((2*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)тетрагидрофуран-2-ил)метил ди-трет-бутилфосфат (24).



[00138] К раствору соединения **23** (0,960 г, 2,63 ммоль) в сухом CH₂Cl₂ (35 мл) в атмосфере аргона добавляли 5-фенил-1*H*-тетразол (0,770 г, 5,26 ммоль), с последующим добавлением по каплям of *N*, *N*-ди-трет-бутилдизопропилфосфорамидата (1,25 мл, 3,95 ммоль). После перешивания при комнатной температуре в течение 4 ч, смесь охлаждали до 0°С и добавляют по каплям Et₃N (1,37 мл, 9,86 ммоль), с последующим добавлением по каплям 30% H₂O₂ (1,24 мл, 14,24 ммоль). После 2 часов перемешивания при той же температуре добавляли насыщенный раствор NaHCO₃ и после 20 минутного перемешивания фазы разделяли. Органическую фазу сушили Na₂SO₄, фильтровали и упаривали, получая неочищенный продукт, который очищали isolera Biotage Isolera One (SNAP ultra 100 градиентная система элюирования 5/85/10 CH₃OH/ацетон /CH₂Cl₂ от 0 до 8% метанола), получая **24** в виде белой пены (0,340 г, 24%). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ_H 8,34 (с, 1H, *H*-8), 8,24 (с, 1H, *H*-2), 6,00 (д, *J*=2,5 Гц, 1H, *H*-1'), 4,88-4,82 (м, 1H, *H*-2'), 4,67-4,66 (м, 1H, *H*-4'), 4,37-4,29 (м, 1H, CH_{2a}-5'), 4,19-4,14 (м, 1H, CH_{2b}-5'), 2,39-2,34 (м, 1H, *H*-3'), 2,14-2,10 (м, 1H, *H*-3'), 1,49 (с, 9H, OC(CH₃)₃), 1,48 (с, 9H, OC(CH₃)₃), 0,86 (с, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,00 (с, 3H, CH₃), -0,12 (с, 3H, CH₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): -10,34 (1P)

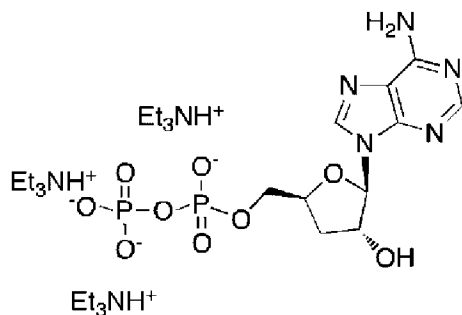
[00139]

моно(((2*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метилгидрофосфат) бис(триэтиламмония) (25).



[00140] К раствору соединения **24** (0,340 г, 1,03 ммоль) в H_2O (12 мл) при 0°C добавляли по каплям TFA (6 мл). После перешивления при 0°C в течение 18 ч растворитель удаляли, и остаток растворяли в воде (10 мл), промывали EtOAc (2×5 мл) и растворитель удаляли в вакууме, получая **25** в виде белого твердого остатка (0,200 г, 99%) ^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δ_{H} 8,56 (с, 1H, $H-8$), 8,40 (с, 1H, $H-2$), 6,10 (д, $J=2,5$ Гц, 1H, $H-1'$), 4,78-4,69 (м, 2H, $H-2'$, $H-4'$), 4,38-4,34 (м, 1H, $\text{CH}_{2\text{a}}-5'$), 4,18-4,12 (м, 1H, $\text{CH}_{2\text{b}}-5'$), 2,43-2,39 (м, 1H, $H-3'$), 2,15-2,11 (м, 1H, $H-3'$), ^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): 0,046 (1P).

[00141] ((2*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метилдифосфат триэтиламмония (**26**).



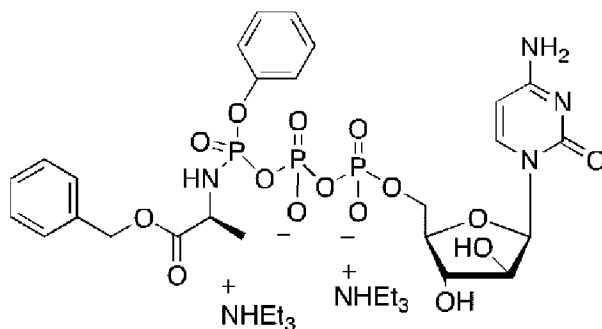
[00142] К раствору соединения **25** (0,100 г, 0,30 ммоль) в сухом DMF (2 мл) в атмосфере аргона добавляли трибутиламин (0,072 мл, 0,30 ммоль), и полученную в результате суспензию перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Растворитель удаляли под давлением, и остаток растворяли в DMF (3 мл). К данному раствору добавляли CDI (0,243, 1,5 ммоль), и реакцию перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре, с последующим добавлением MeOH (0,097 мл, 2,4 ммоль) и 20 минутным дополнительным перемешиванием. К данному раствору добавляли 0,5 М фосфат трис-*n*-бутиламмония в DMF (12 мл, 6 ммоль), и реакцию перемешивали в течение ночи в атмосфере аргона при комнатной температуре. Растворитель удаляли в вакууме, получая остаток, который перерастворяли в H_2O и промывали CH_2Cl_2 . Растворитель удаляли, и остаток растворяли в деионизированной воде (1 мл). Катион (трис-*n*-бутиламмония) обменивали на протон пропусканием раствора через DOWEX 50WX8 колонку (100-200 меш, 12 экв., H^+ форма) и элюированием 3 объемами колонки деионизированной воды. Растворитель удаляли в вакууме, и неочищенный продукт применяли в следующей стадии без дополнительной очистки, очищая isolera Biotage Isolera One (C18 SNAP Ultra 120g картридж с градиентом 1 М TEAB в ацетонитриле от 100 до 0% в качестве элюента в течение 40 мин), получая **26** в виде белой пены (0,030 г, 14%). ^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD) δ_{H} 8,25 (с, 1H, $H-8$), 8,21 (с, 1H, $H-2$), 6,02 (д, $J=2,5$ Гц, 1H, $H-1'$), 4,71-4,69 (м, 1H, $H-2'$), 4,66-

4,64 (м, 1H, *H*-4'), 4,34-4,29 (м, 1H, *CH*_{2a}-5'), 4,23-4,18 (м, 1H, *CH*_{2b}-5'), 3,00 (кв, *J*=7,5 Гц, 18H, 3 x (NCH₂CH₃)₃), 2,49-2,44 (м, 1H, *H*-3'), 2,17-2,12 (м, 1H, *H*-3'), 1,23 (т, *J*=7,5 Гц, 27H, 3 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): -9,63 (д, *J*=22,0 Гц, 1P), -10,81 (д, *J*=22,0 Гц, 1P)

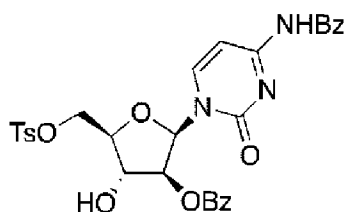
[00143] **(2*S*)-Бензил 2-((((((((2*S*,4*R*,5*R*)-5-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат ди-триэтиламмониевая соль (27a).**

[00144] К смеси **26** (30 мг, 0,04 ммоль) в DMF (1,5 мл) добавляли раствор фосфорхлорида **4a** (22 мг, 0,006 ммоль, 1,5 экв.) в DMF (0,5 мл), с последующим добавлением триэтиламина (0,02 мл, 0,12 ммоль, 3 экв.). После перешивания полученной в результате смеси в течение ночи, растворитель удаляли в вакууме, и остаток растворяли в H₂O и промывали дихлорметаном. Водную фазу упаривали при пониженном давлении, и остаток очищали обращено-фазовой Biotage Isolera, получая **27a** (6 мг, 15%). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,39 (с, 1H, *H*-8), 8,08 (с, 1H, *H*-2), 6,89 (д, *J*=3,5 Гц, 1H, *H*-1'), 5,88 (д, *J*=3,5 Гц, 1H, *H*-1'), 7,35-7,16 (м, 10H, Ar-*H*), 4,99-4,97 (м, 2H, OCH₂Ph), 4,55-4,48 (м, 2H, *H*-2', *CH*_{2a}-5'), 4,23-4,18 (м, 1H, *CH*_{2a}-5'), 4,12-4,00 (м, 2H, *H*-4', NHCHCH₃), 3,00 (кв, 12H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 2,34-2,22 (м, 2H, *CH*_{2a}-3'), 2,01-1,99 (м, 2H, *CH*_{2a}-3'), 1,35 (д, *J*=7,5 Гц, 1,5H, NHCHCH₃), 1,22 (д, *J*=7,6 Гц, 1,5H, NHCHCH₃), 1,17 (т, *J*=7,3 Гц, 18H, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,46 (д, *J*_{P-P}=20,2 Гц, 0,5P), -8,12 (д, *J*_{P-P}=20,2, 0,5P), -11,48 (д, *J*_{P-P}=21,3 Гц, 1P), -24,16-(-24,35) (м, 1P).

[00145] **Общий способ получения ди-триэтиламмониевой соли (2*S*)-бензил 2-((((((((2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2*H*)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (35a).**

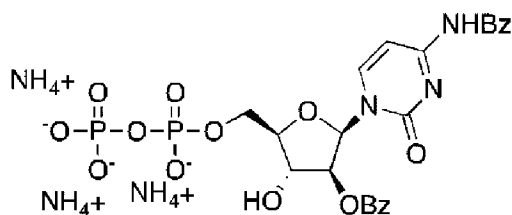


[00146] **(2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-2-(4-бензамидо-2-оксопиримидин-1(2*H*)-ил)-4-гидрокси-5-((тозилокси)метил)тетрагидрофуран-3-илбензоат (32).**



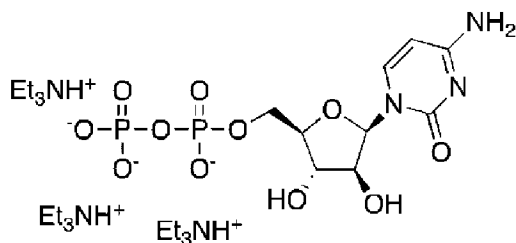
[00147] (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*)-2-(4-бензамидо-2-оксопиримидин-1(2*H*)-ил)-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-илбензоат (**31**) (1,12 г, 2,48 ммоль), растворяли в сухом пиридине (7 мл) и добавляли *n*-толуолсульфонилхлорид (520 мг, 2,73 ммоль) при 0 °С. Смесь перемешивали в течение 16 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривали. Неочищенный остаток растворяли в CHCl₃ (20 мл), и органические слои промывали водой (3×20 мл). Органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и упаривали, получая неочищенный продукт, который очищали на Biotage Isolera, получая **32** в виде белого твердого остатка (727 мг, 48%). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 7,96 -7,94 (м, 2H, *Ar-H*), 7,83-7,79 (м, 4H, *Ar-H*, *H*-6), 7,66-7,61 (м, 2H, *Ar-H*), 7,56 -7,53 (м, 2H, *Ar-H*), 7,48-7,42 (м, 2H, *Ar-H*), 6,41 (д, *J*=4,5 Гц, *H*-5), 6,64 (дд, *J*=2,5 Гц, 4,0 Гц, 1H, *H*-1'), 4,46-4,30 (м, 5H, *H*-2', *H*-5', *H*-4', *H*-3'), 2,46 (м, 3H, CH₃).

[00148] Аммониевая соль ((2*R*,3*R*,4*S*,5*R*)-5-(4-Бензамидо-2-оксопиримидин-1(2*H*)-ил)-4-(бензоилокси)-3-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)метилдифосфата (**33**).



[00149] Получая согласно общему способу, исходя из (**32**) (720 мг, 1,19 ммоль), гидропирофосфата трис(тетрабутиламмония) (1,60 г, 1,78 ммоль) в CH₃CN (0,75 мл), получая неочищенный дифосфат **33** (153 мг, 0,25 ммоль), который применяли в следующей стадии без дополнительной очистки. ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): -9,67 (д, *J*=22,7 Гц, 1P), -10,66 (д, *J*=22,7 Гц, 1P).

[00150] Триэтиламмониевая соль ((2*R*,3*S*,4*S*,5*R*)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2*H*)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метилдифосфата (**34**).



[00151] Неочищенный дифосфат (**33**) (153 мг, 0,25 ммоль) суспендировали в растворе 7*N* NH₃ в MeOH (0,7 мл, 5,0 ммоль) и оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 5 часов. После завершения реакции, реакционную смесь упаривали, и неочищенный продукт очищали isolera Biotage Isolera One (C18 SNAP Ultra 30 г картридж

с градиентом 0,1 М ТЕАВ в ацетонитриле от 100 до 0% в качестве элюента в течение 30 мин), получая **34** в виде белого твердого остатка (40 мг, 32%). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD) δ_H 7,95 (д, *J*=7,0 Гц, 1H, *H*-6), 6,22 (д, *J*=5,5 Гц, 1H, *H*-1'), 5,91 (д, *J*=7,3 Гц, 1H, *H*-5), 4,25-4,23 (м, 1H, *H*-2'), 4,21-4,19 (м, 1H, *H*-3'), 4,12-4,09 (м, 1H, *H*-4'), 4,04-4,01 (м, 2H, *H*-5'), 3,00 (кв, *J*=7,5 Гц, 18H, 3 x (NCH₂CH₃)₃), 1,23 (т, *J*=7,5 Гц, 27H, 3 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): -9,63 (д, *J*=22,0 Гц, 1P), -10,81 (д, *J*=22,0 Гц, 1P)

[00152] **ди-триэтиламмониевая соль (2S)-Бензил 2-((((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-3,4-дигидрокситетрагидрофуран-2-ил)метокси)(гидрокси)фосфорил)окси)(гидрокси)фосфорил)окси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (35a).**

[00153] Получали согласно общему способу стадии 2, исходя из неочищенного дифосфата **34** (40 мг, 0,056 ммоль), триэтиламина (0,16 ммоль, 0,03 мл) и арилоксифосфорхлорида **4a** (0,056 ммоль, 20 мг) в DMF (7 мл), получая после очистки <10 мг требуемого соединения **35a** (<1%). ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 7,90 (д, *J*=7,5 Гц, 1H, *H*-6), 7,30-7,27 (м, 9H, Ar-*H*), 7,17-7,12 (м, 1H, Ar-*H*), 6,22 (д, *J*=4,5 Гц, 1H, *H*-1'), 5,91 (д, *J*=7,5 Гц, 0,5H, *H*-5), 5,90 (д, *J*=7,5 Гц, 0,5H, *H*-5), 5,13, 5,09 (AB система предположительно 2 x с, 2H, OCH₂Ph), 4,35-4,23 (м, 4H, *H*-3', *H*-4', 2 x *H*-5'), 4,19-4,13 (м, 1H, NHCHCH₃), 4,05-4,02 (м, 1H, *H*-2'), 3,00 (кв, 12H, 2 x (NCH₂CH₃)₃), 1,47 (д, *J*=5,5 Гц, 1,5H, NHCHCH₃), 1,36 (д, *J*=5,5 Гц, 1,5H, NHCHCH₃), 1,17 (т, *J*=7,3 Гц, 18H, 2 x (NCH₂CH₃)₃). ³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,53 (д, *J*_{P-P}=18,90 Гц, 0,5P), -8,27 (д, *J*_{P-P}=18,90 Гц, 0,5P), -11,66 (д, *J*_{P-P}=20,60 Гц, 1P), -24,46-(-24,68) (м, 1P).

Пример А: анализы цитотоксичности *in vitro*

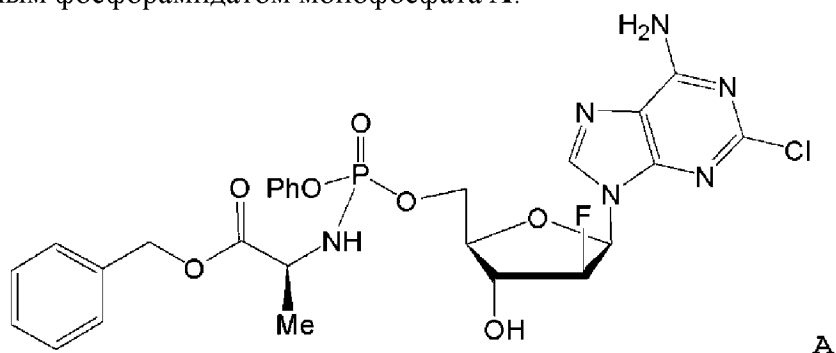
[00154] Соединение настоящего изобретения исследовали на цитотоксическую активность во множестве различных солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований, применяя следующий анализ.

Анализ солидных опухолей и гематологических злокачественных образований.

Анализ жизнеспособности *in vitro* проводили для оценки влияния соединений на жизнеспособность клеток в выбранных клеточных линиях в течение 72 часов, применяя анализ CellTiterGlo (CTG, Promega-G7573). Тесты проводились в двух экземплярах с обработкой соединениями в 9 точках, 3,16-кратным титрованием в 96-луночных планшетах в течение ~72 ч. Исходные концентрации соединений составляли 198 мкМ. Проводили анализ жизнеспособности клеток, применяя CellTiterGlo в 96-луночном планшете. Обработка соединением 72 часа, стандартные условия роста, в двух экземплярах. Соединения растворяли до 40 мМ при 100% оттаивании. Соединения серийно разводили в 3,16 раз в размороженном ДМСО и нагревали до 37 °С перед растворением в среде (2 мкл+200 мкл). После растворения соединений в среде, среду, содержащую соединения, нагревали до 37 °С в инкубаторе, и затем соединения в среде добавляли в планшеты для клеток (50 мкл+50 мкл) в двух экземплярах. Конечные концентрации соединений составляли от 198 мкМ до 19,8 нМ. Растворимость всех соединений проверяли и снова записывали, затем планшеты сразу переносили в инкубатор для культур тканей с CO₂ и

инкубировали в течение 3 дней. Конечная концентрация ДМСО составляла 0,5%.

Исходное нуклеозидное лекарственное средство тестировали для сравнения, как был примерным фосфорамидатом монофосфата А:



Тестировали следующие клеточные линии, и они указаны в таблице 1 ниже:

Таблица 1

Клеточная линия	Злокачественная опухоль	Клеточная линия	Злокачественная опухоль
MOLT-4	острая Т лимфобластная лейкемия	MCF-7	Аденокарцинома молочной железы
CCRF-CEM	Острая лимфобластная лейкемия	HL-60	Промиелоцитарная лейкемия
RL	Неходжкинская лимфома	HepG2	Гепатоклеточная карцинома
RPMI-8226	Человеческая множественная миелома	KG-1	Острая миелогенная лейкемия
K562	Хроническая миелоцитарная лейкемия	HT29	аденокарцинома толстой кишки

Результаты данного скрининга представлены в таблице 2 ниже:

Таблица 2

	HT29		HepG2		MCF-7		CCRF-CEM	
Соединение	аб EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингибирование (%)	аб EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингибирование (%)	Аб EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингибирование (%)	аб EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингибирование (%)
Клофарабин	0,26	68	1,09	57			<0,02	99
5a	0,50	64	0,62	51	>198	40	<0,02	99
А	1,73	86	7,63	99			0,08	99

	K562		HL-60		KG-1		RL	
соединение	Ab EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингиби рование (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингиб ирова ние (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингиб ирован ие (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингиби рование (%)
Клофарабин	>198	32	0,04	97	0,07	93	0,31	61
5a	>198	33	0,33	97	0,31	92	44,6	57
A	27,3	85	0,22	95	0,44	93	4,26	90

	RPMI-8226		MOLT-4	
соединение	Ab EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингиби рование (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ)	Макс ингиби рование (%)
Клофарабин	27,6	80	<0,02	94
5a	20,2	94	0,04	86
A	9,2	83	0,25	100

Против многих клеточных линий соединение **5a** было более активным, чем соответствующий фосфорамидат монофосфата.

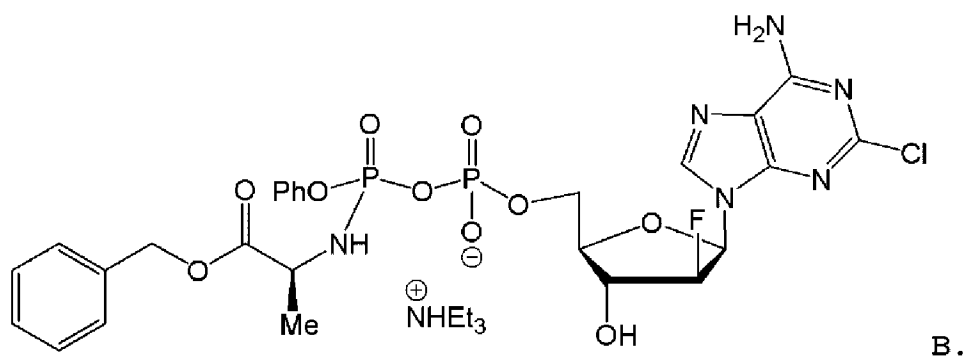
Пример В: оценка эффективности нуклеозидного аналога клофарабина и ProTides в модели клеточных линий острой лейкемии и лимфомы

Сравнивали эффективность (оцениваемую по IC₅₀) клофарабина и 3 различных соединений, представляющих разные классы клофарабиновых ProTides (молекулы монофосфата, дифосфата и трифосфата).

Также оценивали эффективность нескольких трифосфатных кандидатов по сравнению с клофарабином и монофосфатом.

Исследуемые линии раковых клеток представляли собой острую лимфобластную лейкемию (ALL), острую миелоидную лейкемию (AML) и лимфому: CCRF-CEM (ALL), HL60 (AML), KG1 (AML), OCI-AML3 (AML) и RL (лимфома), выращенные в суспензии в среде RPMI-1640 с добавлением 10% сыворотки FBS и 1% пенициллин/стрептомицин, за исключением линии клеток KG1, для которой FBS составлял 20%.

Исходное нуклеозидное лекарственное средство тестировали для сравнения, как и образец фосфорамидата монофосфата **A** и образец фосфорамидата дифосфата **B**:



Соединения растворяли в DMSO до исходной концентрации 10 мМ, показанные в таблице 3 ниже.

Table 3

Соединение	MW (г/моль)	вес (мг)	Концентрация (мМ)	Рассчитанный объем (мкл)	Растворитель
Клофарабин	303,7	2,52	10	829,77	DMSO
A	621	0,97	10	156,20	DMSO
B	802,12	16,5	10	2057,04	DMSO
5a	983,29	5,1	10	518,67	DMSO
5b	1033,35	0,82	10	79,35	DMSO
5c	935,3	1,81	10	187,12	DMSO
5d	967,31	1,13	10	116,82	DMSO
5e	1003,4	0,74	10	73,75	DMSO
5f	1039,4	0,71	10	68,31	DMSO

Для всех экспериментов клетки высевали на 96-луночный планшет при плотности 10000 клеток/лунка в 50 мкл среды. В среде получали разведения от исходной концентрации до рабочих растворов; в два раза превышающей требуемую концентрацию и 50 мкл добавляли на лунку (это достигало конечных концентраций, описанных в результатах ниже). Необработанный контроль получил из 50 мкл простой среды. Через 66 часов на лунку добавляли 10 мкл резазурина (разведение 1:10). Затем клетки инкубировали вплоть до 6 часов. После 72-часовой обработки проводили анализ цитотоксичности (краситель AlamarBlue™-резазурин) для определения выживаемости клеток. Планшеты сканировали с помощью планшет-ридера BioHit800, и данные анализировали Excel и GraphPad Prism.

Сравнение IC_{50} клофарабина, A (монофосфата), B (дифосфата) и 5a (трифосфата) в 5 различных клеточных линиях.

Клетки обрабатывали серийным разведением каждого соединения (в диапазоне от 6 нМ до 6,3 мкМ), и результаты представляют собой концентрацию, убивающую 50% клеток

каждой клеточной линии, также называемую полумаксимальной ингибирующей концентрацией (IC_{50}). Низкая IC_{50} указывает на большую эффективность в данных лабораторных условиях. Результаты показаны в таблице 4 ниже.

Таблица 4

соединение	IC_{50} (нМ)				
	CCRF-CEM	HL60	KG1	OCI-AML3	RL
Клофарабин	40,5	41,5	244	74	114
A	275	91	1761	253	399
B	82,5	71,9	267	121	153
5a	79	56,2	349	114	117

Дифосфат и трифосфат показали эффективность. IC_{50} **B** и **5a** находились в том же сопоставимом диапазоне, что и исходный нуклеозидный аналог (в 1,1-2 раза больше). **A** имел самую высокую IC_{50} среди всех протестированных клеточных линий (в 2,2-7,2 раза больше, чем у клофарабина). Для каждой клеточной линии IC_{50} клофарабина была ниже, чем у других соединений.

Скрининг множества трифосфатов по сравнению с клофарабином в двух клеточных линиях.

Клофарабин, A, 5a, 5b, 5c, 5d, 5e и 5f тестировали относительно клеток CCRF-CEM и OCI-AML3. Данные представлены как процент выживаемости клеток для каждой из различных концентраций, которым подвергались клетки, а не расчет формального IC_{50} только на основе двух или трех точек данных.

Результаты показаны в таблице 5 ниже.

Таблица 5

соединение	CCRF-CEM		
	Выживаемость @25 нМ	Выживаемость @ 50 нМ	Выживаемость @ 125 нМ
Клофарабин	36	17	13
A	96	100	100
5a	81	100	13
5b	36	18	13
5c	93	94	14
5d	92	16	14
5e	99	75	90
5f	85	16	14
OCI-AML3			

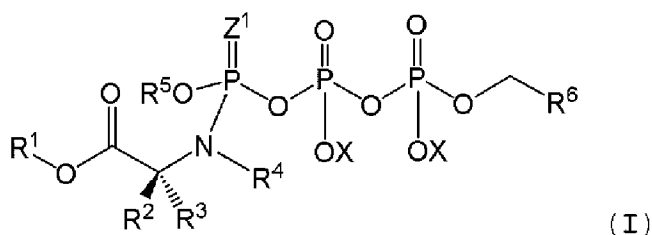
соединение	Выживаемость @ 50 нМ	Выживаемость @ 125 нМ
Клофарабин	47	19
A	99	96
5a	86	51
5b	64	24
5c	99	61
5d	61	29
5e	100	95
5f	57	32

Данные в обеих клеточных линиях показали превосходную эффективность некоторых трифосфатных соединений (в частности **5b**, **5d** и **5f**) по сравнению с **A**, и с эффективностью относительно аналогичной клофарабину.

Эти данные показывают, что (1) несколько трифосфатных соединений (которые представляют собой различные семейства молекул) являются эффективными в уничтожении линий раковых клеток, сравнимыми с родственными нуклеозидными аналогами, и (2) во всех случаях они лучше, чем монофосфат ProTide **A**.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль:



где

R¹ независимо при каждом появлении выбран из: C₁-C₂₄-алкила, C₃-C₂₄-алкенила, C₃-C₂₄-алкинила, C₀-C₄-алкилен-C₃-C₈-циклоалкила и C₀-C₄-алкиленарила;

каждый R² и R³ независимо при каждом появлении выбран из H, C₁-C₆-алкила и C₁-C₃-алкилен-R⁷; или R² и R³, вместе с атомом, с которым они соединены, образуют 3-6-членную циклоалкильную или гетероциклоалкильную группу;

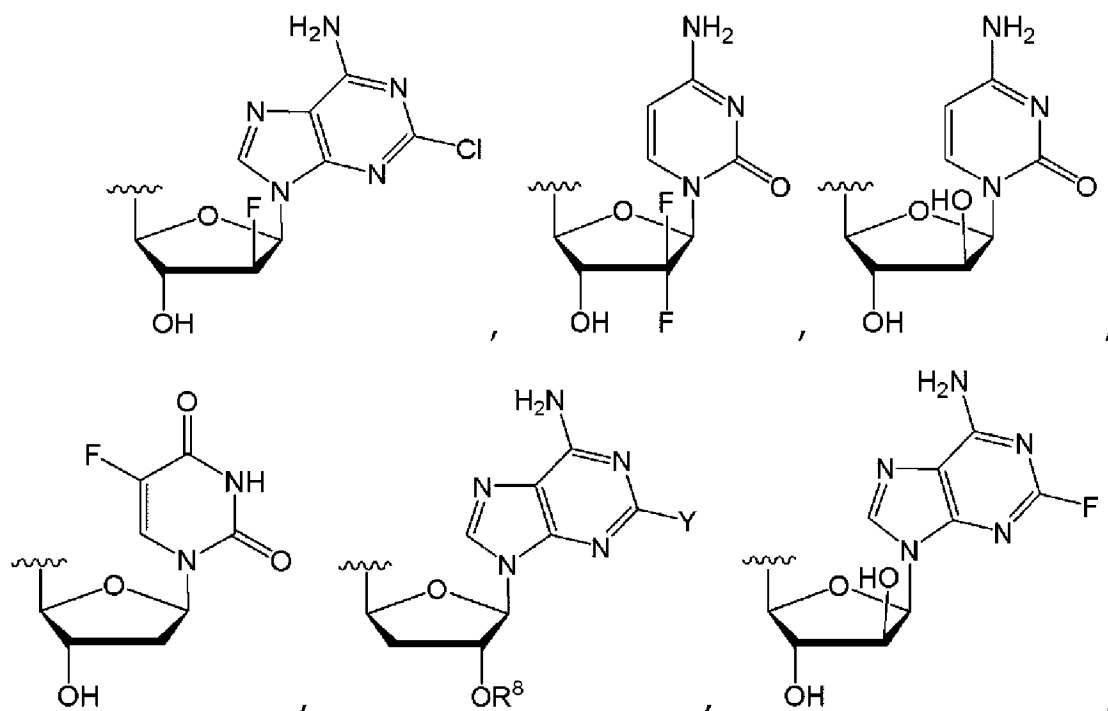
R⁴ независимо при каждом появлении представляет собой H или C₁-C₄-алкил;

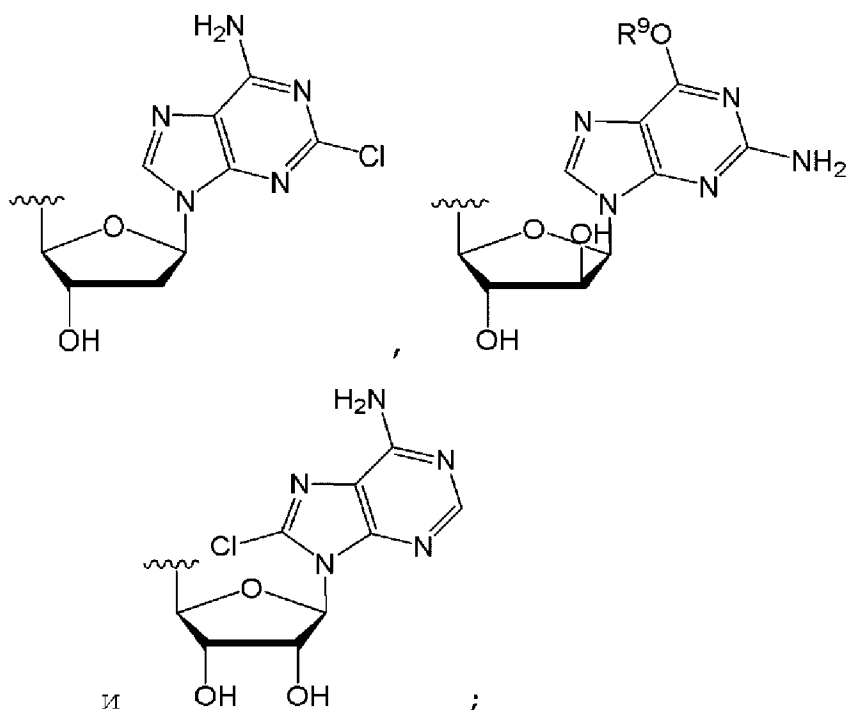
или R⁴, группа, выбранная из R² и R³, и атомы, с которыми они соединены, могут образовывать 3-6-членную гетероциклоалкильную группу;

R⁵ независимо при каждом появлении выбран из арила, 5-, 6-, 9- или 10-членного гетероарила, C₃-C₈-циклоалкила, 3-7-членного гетероциклоалкила, C₁-C₃-алкилен-R^{5a} и C₁-C₈-алкила, причем указанный арил необязательно конденсирован с C₆-C₈-циклоалкилом;

R^{5a} независимо при каждом появлении выбран из арила, 5-, 6-, 9- или 10-членного гетероарила, C₃-C₈-циклоалкила, 3-7-членного гетероциклоалкила, причем указанный арил необязательно конденсирован с C₆-C₈-циклоалкилом;

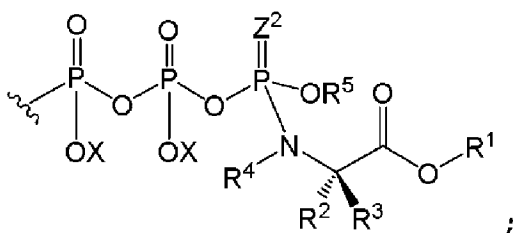
R⁶ независимо выбран из:





R⁷ независимо при каждом появлении выбран из арила, имидазола, индола, SR^a, OR^a, CO₂R^a, CO₂NR^aR^a, NR^aR^b и NH(=NH)NH₂;

R^8 независимо выбран из N и



каждый Z^1 и Z^2 независимо выбран из O и S ;

R^9 независимо выбран из H и Me;

Y независимо выбран из H, F, Cl и OMe;

Х при каждом появлении выбран из Н и фармацевтически приемлемого катиона; при условии, что, по меньшей мере, при одном появлении Х представляет собой фармацевтически приемлемый катион;

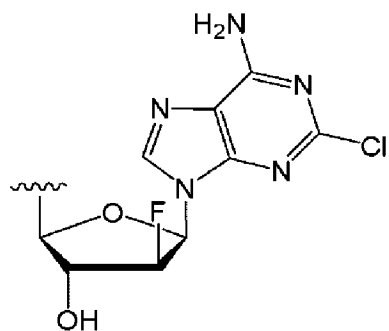
где любая арильная группа представляет собой фенил или нафтил;

где когда любой из R¹, R², R³, R⁴, R⁵ или R⁷ представляет собой алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил, арил или гетероарил, то алкильная, циклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группа необязательно замещена 1-4 заместителями, выбранными из: галогена, нитро, циано, NR^aR^a, NR^aS(O)₂R^a, NR^aC(O)R^a, NR^aCONR^aR^a, NR^aCO₂R^a, OR^a, SR^a, SOR^a, SO₃R^a, SO₂R^a, SO₂NR^aR^a, CO₂R^aC(O)R^a, CONR^aR^a, CR^aR^aNR^aR^a, C₁-C₄-алкила, C₂-C₄-алкенила, C₂-C₄-алкинила и C₁-C₄-галогеналкила;

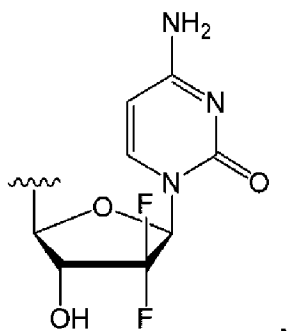
где R^a независимо при каждом появлении выбран из: Н и С₁-С₄-алкила; и R^b независимо при каждом появлении выбран из: Н, и С₁-С₄-алкила и С(О)-С₁-С₄-алкила.

2. Соединение по п. 1, где R^4 представляет собой N .

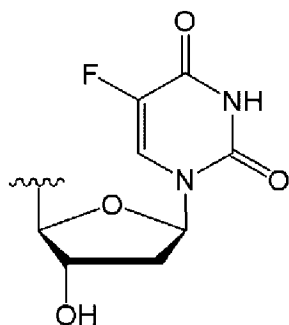
3. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой



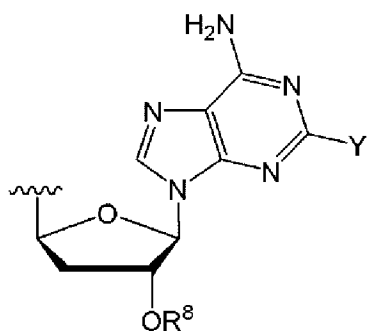
4. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой



5. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой



6. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой

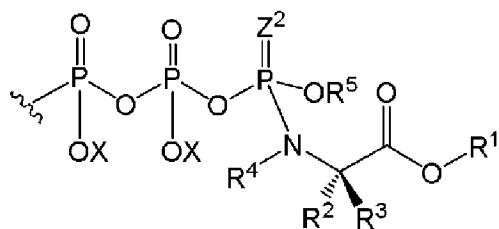


7. Соединение по п. 6, где Y представляет собой H.

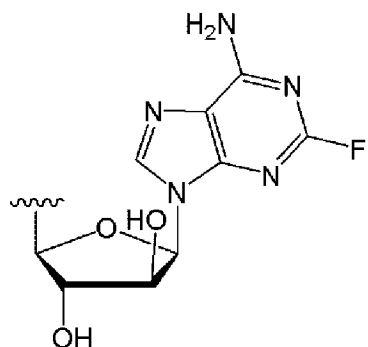
8. Соединение по п. 6, где Y представляет собой F.

9. Соединение по любому из пунктов 6-8, где R^8 представляет собой H.

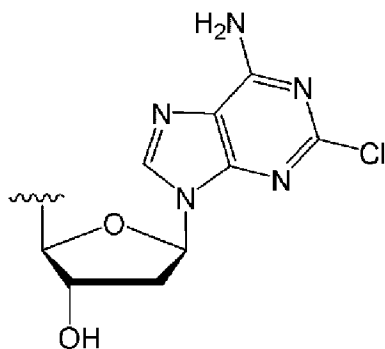
10. Соединение по любому из пунктов 6-8, где R^8 представляет собой



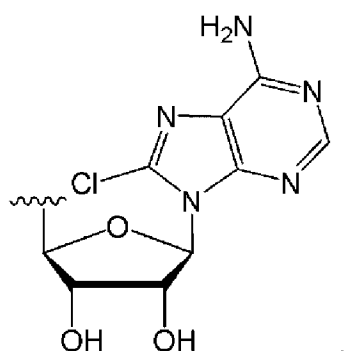
11. Соединение по п. 10, где Z^2 представляет собой O.
 12. Соединение по п. 10, где Z^2 представляет собой S.
 13. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой



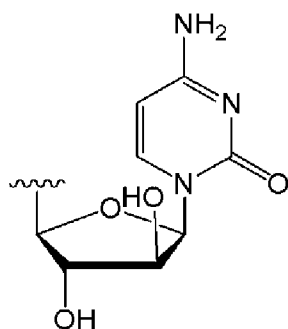
14. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой



15. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой



16. Соединение по пункту 1 или пункту 2, где R^6 представляет собой



17. Соединение по любому из пунктов 1-16, где R^1 выбран из C_5 - C_7 -циклоалкила, C_1 - C_8 -алкила и бензила.

18. Соединение по п. 17, где R^1 представляет собой бензил.

19. Соединение по п. 17, где R^1 представляет собой C_1 - C_8 -алкил, например, этил.

20. Соединение по любому из пунктов 1-19, где R^3 представляет собой H.

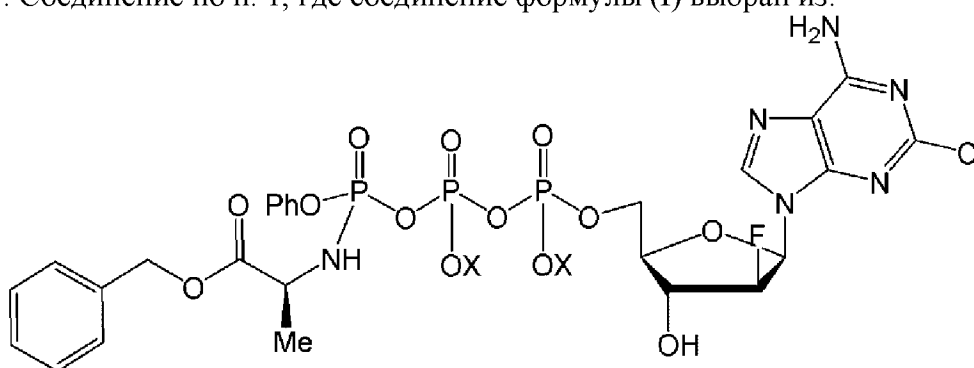
21. Соединение по любому из пунктов 1-20, где R^2 представляет собой C_1 - C_4 -алкил.

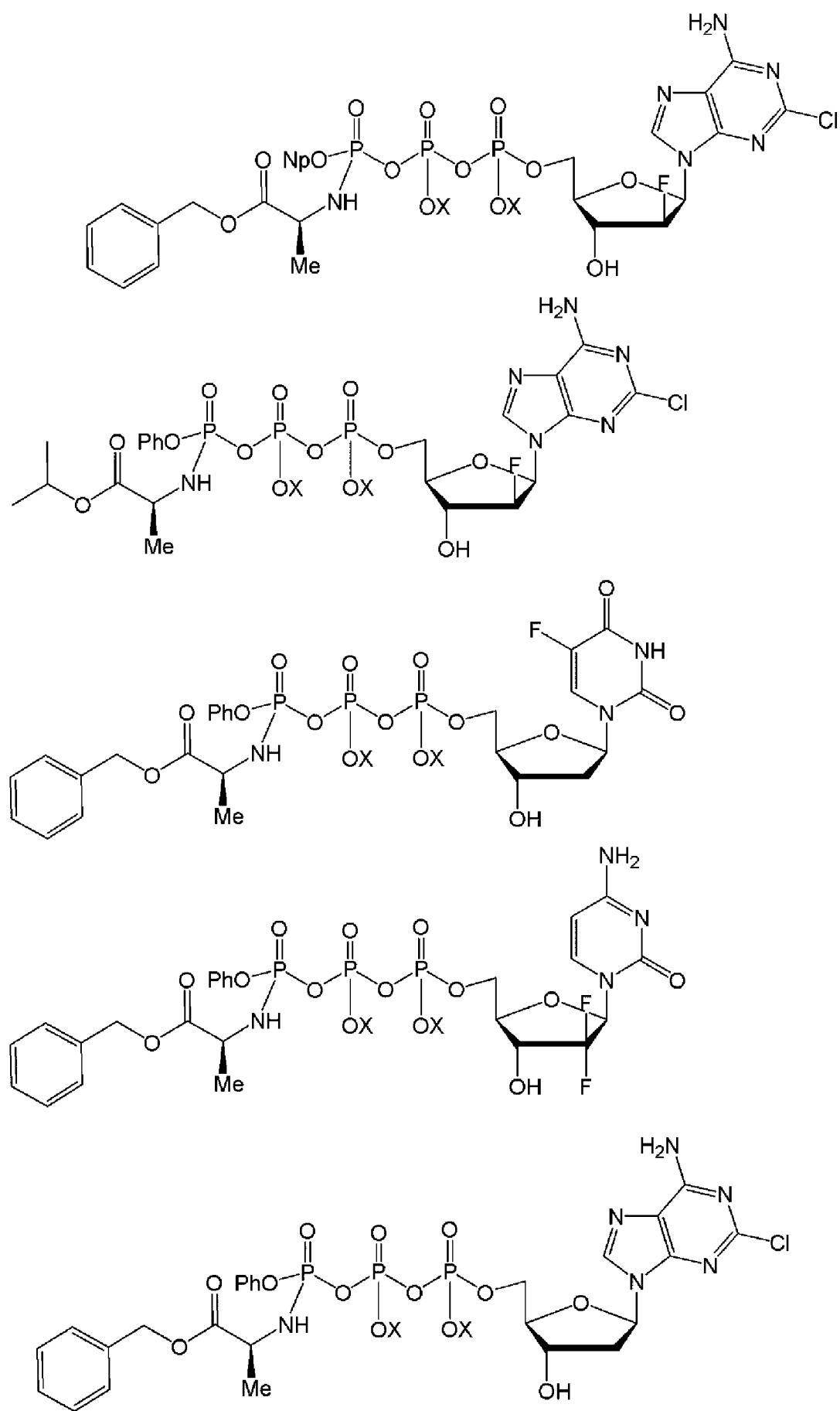
22. Соединение по любому из пунктов 1-20, где R^2 представляет собой H.

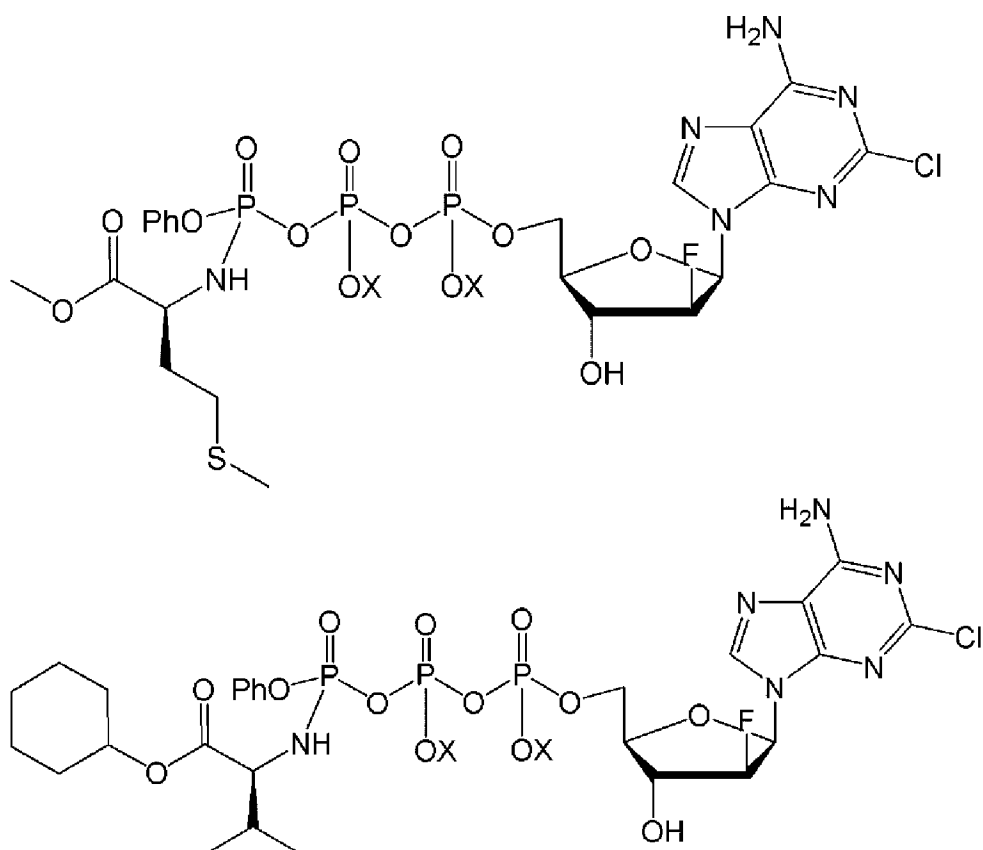
23. Соединение по любому из пунктов 1-22, где R^5 представляет собой фенил.

24. Соединение по любому из пунктов 1-22, где R^5 представляет собой нафтил.

25. Соединение по п. 1, где соединение формулы (I) выбран из:







26. Соединение по любому из пунктов 1-25, где X при одном появлении представляет собой H и при одном появлении катион металла или катион аммония.

27. Соединение по любому из пунктов 1-25, где X при каждом появлении является одинаковым и представляет собой катион металла или катион аммония.

28. Соединение по любому из пунктов 1-27 для медицинского применения.

29. Соединение по любому из пунктов 1-27 для применения в лечении рака.

30. Соединение по п. 29, где рак представляет собой лейкемию или лимфому.

31. Соединение по п. 30, где рак представляет собой лейкемию, выбранную из группы, состоящей из острой миелоидной лейкемии (AML), острой лимфоидной лейкемии (ALL), хронической миелоидной лейкемии (CML), хронической лимфоидной лейкемии (CLL) и острой бифенотипической лейкемии (BAL).

32. Соединение по п. 30, где рак представляет собой лимфому, выбранную из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы.

33. Фармацевтическая композиция, содержащая соединения по любому из пунктов 1-27 и по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.