

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **042712**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.03.17

(21) Номер заявки
202091218

(22) Дата подачи заявки
2018.12.05

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

**(54) СОЛИ ДИФОСФАТФОСФОРАМИДАТА НУКЛЕОЗИДОВ В КАЧЕСТВЕ
ПРОТИВОРАКОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

(31) 1720279.7

(32) 2017.12.05

(33) GB

(43) 2020.09.14

(86) PCT/GB2018/053525

(87) WO 2019/110991 2019.06.13

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

(72) Изобретатель:
**Гриффит Хью, Серпи Микаэла,
Пертусати Фабрицио, Слюсарчик
Магдалена (GB)**

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

(56) WO-A1-2014124430

JADD SHELTON ET AL.: "Metabolism, Biochemical Actions, and Chemical Synthesis of Anticancer Nucleosides, Nucleotides, and Base Analogs", CHEMICAL REVIEWS, vol. 116, no. 23, 23 November 2016 (2016-11-23), pages 14379-14455, XP055568917, US, ISSN: 0009-2665, DOI:10.1021/acs.chemrev.6b00209, page 14381-14382; figures 1, 2, page 14381, lines 13-19, page 14383; compounds 32, 37, page 14433, third paragraph

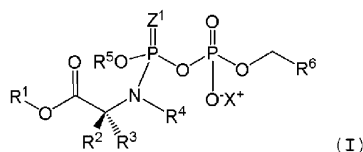
WO-A1-2016083830

WO-A2-2016099982

JESSEN H.J. ET AL.: "Bioreversible Protection of Nucleoside Diphosphates", ANGEWANDTE CHEMIE INTERNATIONAL EDITION, VERLAG CHEMIE, DE, vol. 47, no. 45, 2 October 2008 (2008-10-02), pages 8719-8722, XP002538710, ISSN: 1433-7851, DOI:10.1002/ANIE.200803100 [retrieved on 2008-10-02] the whole document, page 8720, Scheme 2, page 8720, left-hand column, lines 6-9

UGO PRADERE ET AL.: "Synthesis of Nucleoside Phosphate and Phosphonate Prodrugs", CHEMICAL REVIEWS, vol. 114, no. 18, 24 September 2014 (2014-09-24), pages 9154-9218, XP055203528, ISSN: 0009-2665, DOI: 10.1021/cr5002035, pages 9206-9210; Part 4. "Nucleoside di- and triphosphate prodrugs", page 9210; figure 53

(57) Изобретение относится к соединениям формулы (I) или их фармацевтически приемлемым солям, включающим соль дифосфатфосфоамидата нуклеозидного лекарственного средства, например клофарабина. Соединения являются пригодными в лечении рака, например лейкемии. Значения заместителей в формуле (I) указаны в формуле изобретения.



(I)

B1**042712****042712****B1**

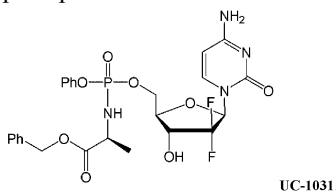
Настоящее изобретение относится к соединениям формулы (I) или их фармацевтически приемлемым солям, пригодным в лечении рака, например лейкемии. Соединения включают соль дифосфатфосфорамидата.

Уровень техники изобретения

Нуклеозидные лекарственные средства стали мощным инструментом в лечении человеческих заболеваний. В лечении рака, в частности, применение нуклеозидных лекарственных средств, таких как гемцитабин, клофарабин, цитарабин, флударабин, является широко распространенным.

Однако эффективность всех нуклеозидных лекарственных средств может быть ограничена и врожденными и приобретенными механизмами резистентности.

Один способ, которым можно увеличить эффективность нуклеозидных лекарственных средств, заключается во введении в виде лекарственного средства класса ProTide. Лекарственные средства класса ProTide представляют собой пролекарственные средства монофосфорилированных нуклеозидов и показано, что они являются особенно эффективными терапевтическими агентами в областях и противирусных лекарственных средств и онкологии. Данные соединения, по-видимому, избегают многих из механизмов устойчивости, 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) in 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; and 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 и WO2016/083830). Примером ProTide является NUC-1031, ProTide гемцитабина



Хотя стратегия ProTide оказалась очень эффективной для определенных нуклеозидов, она не так эффективна с другими нуклеозидными лекарственными средствами. Поэтому существует необходимость в поиске дополнительных способов потенцирования молекул нуклеозидных лекарственных средств.

Лекарственные средства класса ProTide могут также быть плохо растворимыми в водных растворах, и это может делать введение проблематичным.

Цель определенных вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в обеспечении терапевтического агента, который при применении обладает терапевтической эффективностью для профилактики или лечения рака.

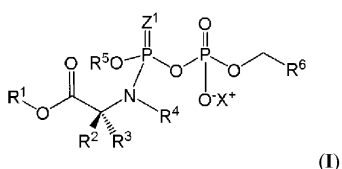
Цель определенных вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в обеспечении терапевтического агента, который при применении обладает большей терапевтической эффективностью для профилактики или лечения рака, чем исходный нуклеотид или соответствующий ProTide.

Цель определенных вариантов осуществления настоящего изобретения заключается в обеспечении терапевтического агента, который более удобно вводить, чем соответствующий ProTide.

Определенные варианты осуществления настоящего изобретения решают некоторые или все из приведенных выше проблем.

Изложение изобретения

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_8 -алкила, C_0 - C_4 -алкилен- C_3 - C_8 -циклоалкила и C_0 - C_4 -алкиленарила;

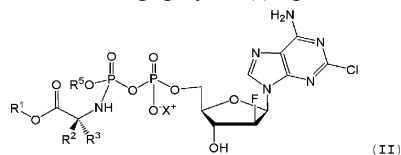
каждый R^2 и R^3 независимо при каждом появлении выбран из H, C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_3 -алкилен- R^7 ;

R^4 независимо при каждом появлении представляет собой H или R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 , и атомы, с которыми они соединены, могут образовывать 3-6-членную гетероциклоалкильную группу, содержащую 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из O, S и N;

R^5 независимо при каждом появлении выбран из арила и C_1 - C_8 -алкила, причем арил необязательно конденсирован с C_6 - C_8 -циклоалкилом;

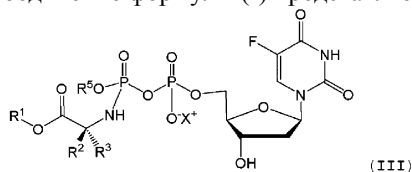
присутствует алкилоксигруппа при фосфоре фосфорамидата (OR^5 в формуле (I)), соединения настоящего изобретения являются активными. В лекарственных средствах класса ProTide это обычно не так, и только соединения, имеющие арилоксигруппы в данном положении, обеспечивают хорошую активность. Понятно, что это связано с тем, что арилоксигруппа действует как уходящая группа при активации лекарственных средств класса ProTide. Опять же, это указывает на то, что дифосфатфосфорамидаты настоящего изобретения активируются по механизму, отличному от механизма лекарственных средств класса ProTide.

В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (II)

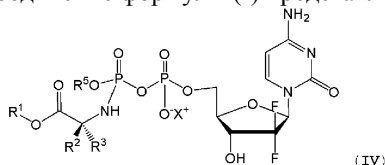


Дифосфатфосфорамидаты клофарабина, такие как соединения формулы (II), были более активными, чем соответствующий ProTide относительно ряда линий раковых клеток, включая гематологическую клеточную линию.

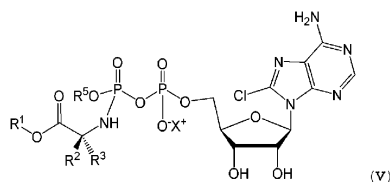
В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (III)



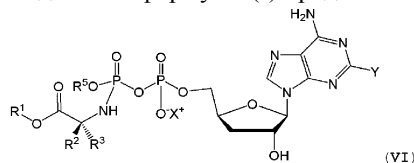
В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (IV)



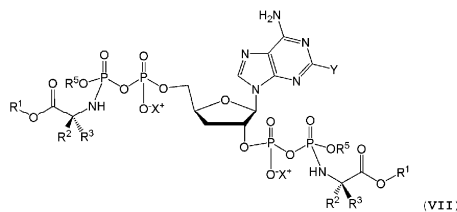
В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (V)



В вариантах осуществления, соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (VI)



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.

Следующие утверждения относятся к соединениям любых формул (I)-(VII). Данные утверждения являются независимыми и взаимозаменяемыми. Другими словами, любой из признаков, описанных в любом из следующих утверждений, можно (где 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, выраженный на любом уровне обобщения, можно объединить так, чтобы представлять предмет, который рассматривается как обра-

зующий частью описания настоящего изобретения в данном описании.

R^1 можно независимо при каждом появлении выбрать из C_1 - C_8 -алкила, C_0 - C_4 -алкилен- C_3 - C_8 -циклоалкила и C_0 - C_4 -алкиленарила.

R^1 можно независимо при каждом появлении выбрать из C_1 - C_8 -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_8 -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.

R^1 может представлять собой C_1 - C_8 алкил.

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. R^1 можно, следовательно, выбрать так, чтобы он содержал шесть или более атомов углерода. R^1 предпочтительно выбран 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 когда указанные группы являются незамещенными. R^1 может представлять собой незамещенный бензил. R^1 может представлять собой неопентил. R^1 может представлять собой этил.

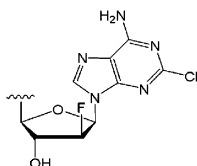
Может быть так, что R^3 представляет собой H. Может быть так, что R^3 представляет собой C_1 - C_4 -алкил. Может быть так, что R^3 представляет собой метил. Может быть так, что R^2 выбран из C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_3 -алкилен- R^7 . Может быть так, что R^2 представляет собой C_1 - C_4 -алкил. Может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

R^4 предпочтительно представляет собой H.

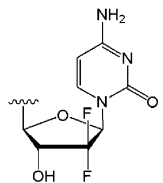
Может быть так, что R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 , и атомы, с которыми она соединена, образуют 3-6-членную гетероциклоалкильную группу. Может быть так, что R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 , и атомы, с которыми она соединена, не образуют 3-6-членную гетероциклоалкильную группу, содержащую 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из O, S и N. 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 , и R^4 независимо при каждом появлении представляет собой H.

Может быть так, что R^5 представляет собой 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 незамещенный фенил. Может быть так, что R^5 представляет собой 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).

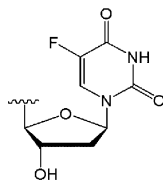
R^6 может представлять собой



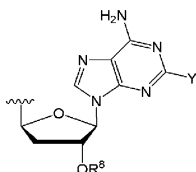
R^6 может представлять собой



R^6 может представлять собой

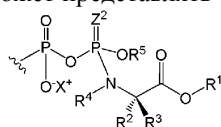


R^6 может представлять собой



Y может представлять собой H. Y может представлять собой F.

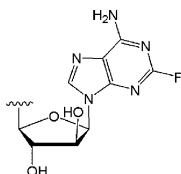
R^8 может представлять собой H. R^8 может представлять собой



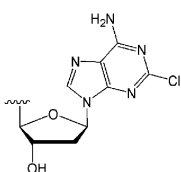
Z^2 может представлять собой S. Z^2 может представлять собой O.

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.

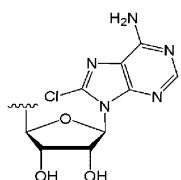
R^6 может представлять собой



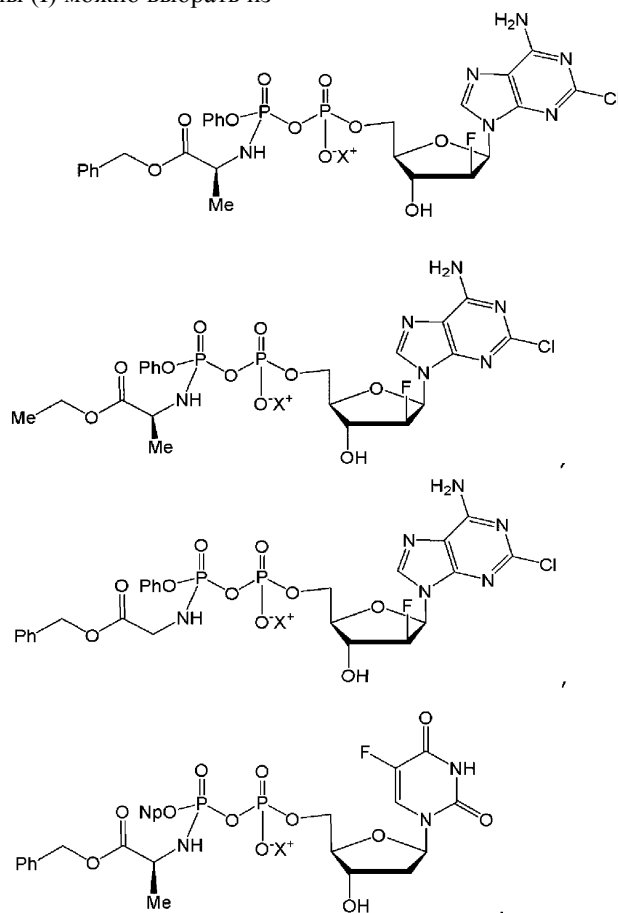
R^6 может представлять собой



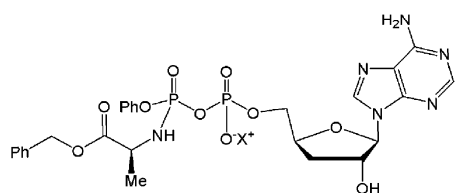
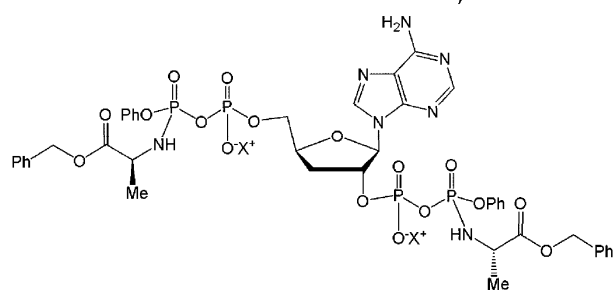
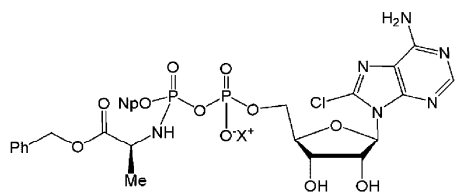
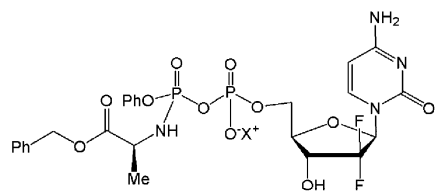
R^6 может представлять собой

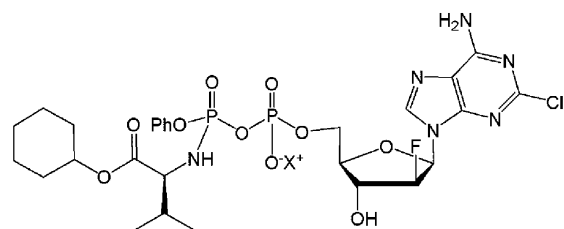
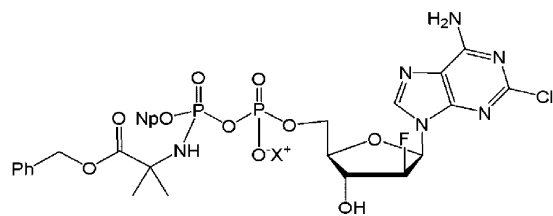
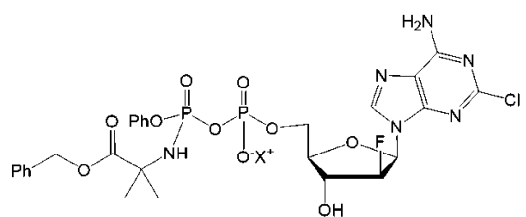
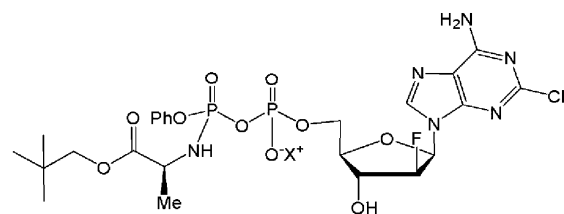
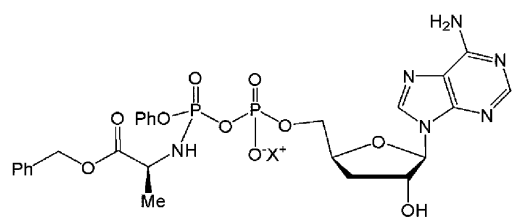


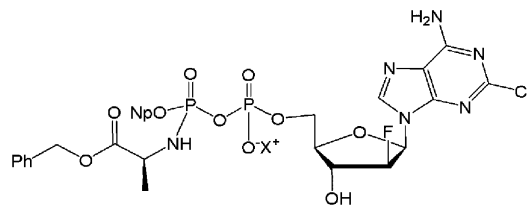
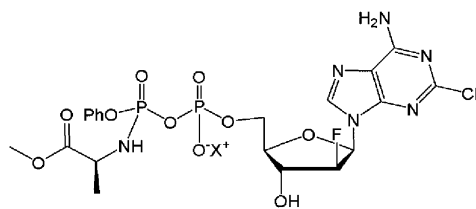
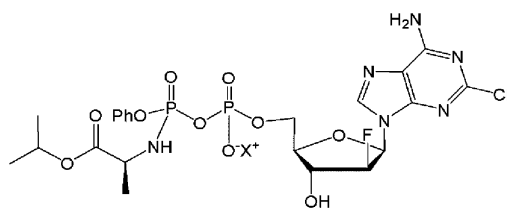
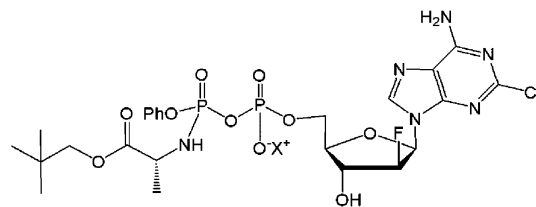
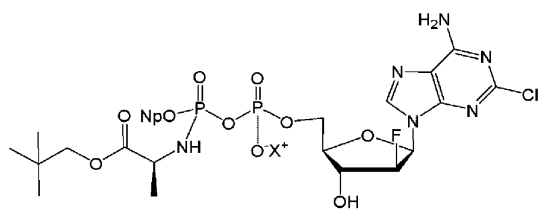
Соединение формулы (I) можно выбрать из

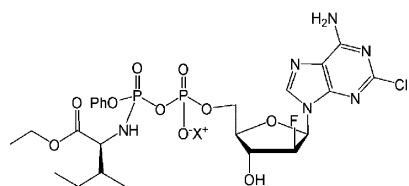
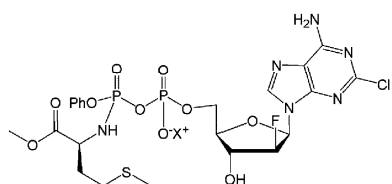
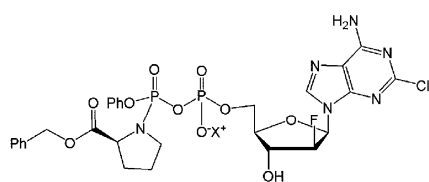
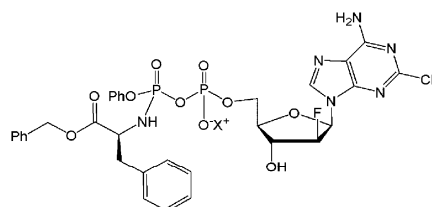
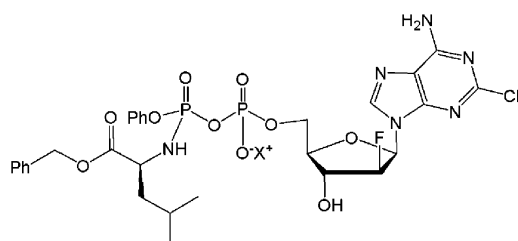
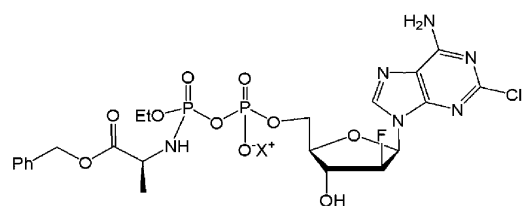
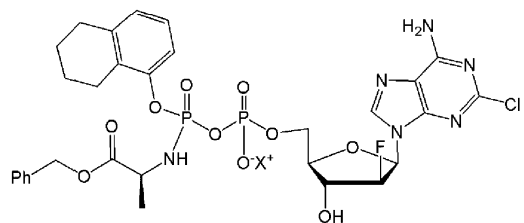
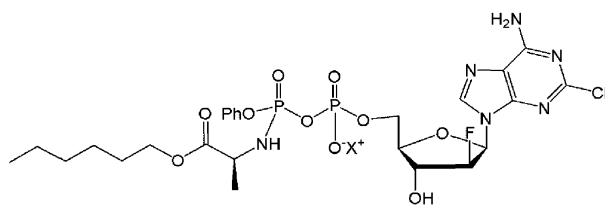


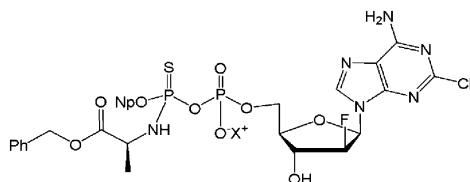
042712











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, катион триалкиламмония или катион аммония гетероцикла с азотом. Иллюстративные катионы включают катионы, полученные из катионов алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглюмина, оламина, калия, натрия, трометамина, триэтиламина и цинка. X^+ может представлять собой катион триэтиламина.

Соединения настоящего изобретения содержат хиральный центр по атому фосфора (β -фосфор), 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" для целей настоящего изобретения определяют как диастереомерная чистота более чем приблизительно 90%. При наличии в виде по существу диастереоизомерно чистой формы соединения может иметь диастереоизомерную чистоту более 95, 98, 99% или даже 99,5%. Альтернативно, соединение может присутствовать в виде смеси фосфатных диастереоизомеров.

(R)- и/или (S)-эпимеры соединения можно получить в по существу диастереомерно чистой форме хроматографией, например, ВЭЖХ, необязательно применяя хиральную колонку. Альтернативно, (R)- и/или (S)-эпимеры соединения можно получить в по существу диастереомерно чистой форме кристаллизацией из подходящего растворителя или системе растворителей.

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

В определенных вариантах осуществления, рак представляет собой лейкемию или лимфому.

Рак может представлять собой лейкемию.

Существует четыре основных типа лейкемии в зависимости от того, является ли она хронической или острой, и миелоидной или лимфоидной по происхождению. Это: острая миелобластная лейкемия (ОМЛ), острая лимфобластная лейкемия (ОЛЛ), хроническая миелогенная лейкемия (ХМЛ) и хроническая лимфоцитарная лейкемия (ХЛЛ).

Известны также смеси данных лейкемий; например, острая бифенотипическая лейкемия (BAL; которая представляет собой смесь ОМЛ и ОЛЛ).

В конкретных вариантах осуществления, лейкемия выбрана из группы, состоящей из острой миелобластной лейкемии (ОМЛ), острой лимфобластной лейкемии (ОЛЛ), хронической миелогенной лейкемии (ХМЛ), хронической лимфоцитарной лейкемии (ХЛЛ) и острой бифенотипической лейкемии (BAL; которая представляет собой смесь ОМЛ и ОЛЛ).

Хроническая лимфоцитарная лейкемия (ХЛЛ) включает подтипы: В-клеточная ХЛЛ (В-ХЛЛ), В-клеточная пролимфатическая лейкемия (ПЛЛ) и Т-клеточная хроническая пролимфатическая лейкемия (Т-ПЛЛ) и несколько подтипов, которые отличаются на генетическом уровне.

Острая лимфобластная лейкемия (ОЛЛ) включает подтипы: ОЛЛ предшественников В-клеток (В-ОЛЛ), ОЛЛ предшественников Т-клеток (Т-ОЛЛ), ОЛЛ типа Беркитта и положительную по филадельфийской хромосоме (BCR-ABL фьюжн) ОЛЛ.

Острая миелобластная лейкемия (ОМЛ) включает подтипы: миелоидная лейкемия, моноцитарная лейкемия и острая промиелоцитарная лейкемия (APL).

Хроническая миелогенная лейкемия (ХМЛ) включает подтипы: хроническую гранулоцитарную лейкемию (ХГЛ) (CGL), ювенильную ХМЛ (ЮХМЛ), хроническую нейтрофильную лейкемию (CNL), хроническую миелоцитарную лейкемию (ХМЦЛ) и атипичную ХМЛ (аХМЛ).

В конкретных вариантах осуществления, любой из подтипов выше ХЛЛ, ОЛЛ, ОМЛ и ХМЛ является пригодным для лечения соединениями настоящего изобретения или фармацевтическими композициями, содержащим их.

Другие формы лейкемии, которые можно считать находящимися вне этих четырех основных групп, включают эритролейкемию, возникающую из предшественников эритроцитов; и лимфому, которая происходит в крови.

Рак может представлять собой лимфому, например, солидную лимфому.

Существует два основных типа лимфомы: Лимфома Ходжкина и неходжкинская лимфома. В каждом из них есть различные подтипы.

В конкретных вариантах осуществления, лимфома выбрана из группы, состоящей из лимфомы

Ходжкина и неходжкинской лимфомы.

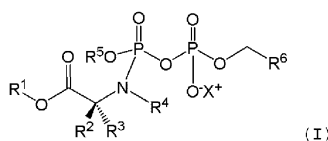
В конкретных вариантах осуществления, лимфома выбрана из группы, состоящей из лимфомы Беркитта (BL), лимфомы мантийных клеток (MCL), фолликулярной лимфомы (FL), малой лимфоцитарной лимфомы (SLL), вялотекущей В-клеточной неходжкинской лимфомы, гистиоцитарной лимфомы (также известной как иммунобластическая лимфома; IBL) и диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), включая диффузную В-крупноклеточную лимфому активированных клеток, (DLBCL-ABC) и В-клеточную диффузную В-крупноклеточную лимфому терминального центра (DLBCL-GCB).

Рак может быть рецидивирующим. Рак может быть метастатическим. Рак может быть ранее неподвергаемым лечению.

Рак может быть рефрактерным раком, который ранее лечился, но оказался невосприимчивым к предшествующему лечению. Альтернативно, пациент с раком может не переносить предыдущую терапию, например, у него могут развиваться побочные эффекты, которые делают пациента непереносимым дальнейшее лечение вводимым агентом.

Соединение формулы (I) может представлять собой, как описано в следующих пронумерованных пунктах.

1. В первом аспекте настоящего изобретения обеспечивают соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль



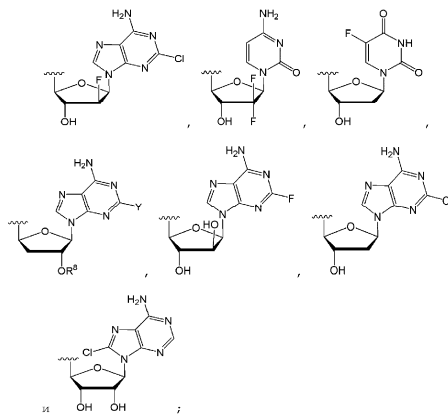
в котором R^1 независимо при каждом появлении выбран из C_1 - C_8 -алкила, C_0 - C_4 -алкилен- C_3 - C_8 -циклоалкила и C_0 - C_4 -алкиленарила;

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 ;

R^4 независимо при каждом появлении представляет собой H или R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 , и атомы, с которыми они соединены, могут образовывать 3-6-членную гетероциклоалкильную группу, содержащую 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из O, S и N;

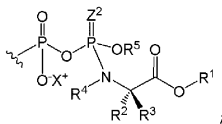
R^5 независимо при каждом появлении выбран из арила и C_1 - C_8 -алкила, причем арил необязательно конденсирован с C_6 - C_8 -циклоалкилом;

R^6 независимо выбран из



R^7 независимо при каждом появлении выбран из арила и SR^a ;

R^8 независимо выбран из H и



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

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

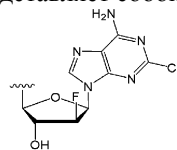
X^+ независимо при каждом появлении представляет собой фармацевтически приемлемый катион металла или катион аммония;

где любая арильная группа представляет собой или фенил или нафтил;

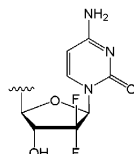
где когда любой из R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 или R^7 представляет собой алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил или арил или гетероарил, то алкильная, циклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группа необязательно замещена 1-4 заместителями, выбранными из галогена, нитро, циано, 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 и C_1 - C_4 -алкила и $C(O)$ - C_1 - C_4 -алкила.

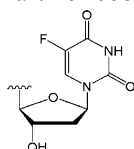
2. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



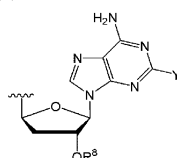
3. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



4. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



5. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



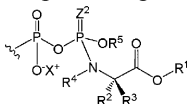
где Y и R^8 имеют значения, указанные в п.1.

6. Соединение по п.5, в котором Y представляет собой H.

7. Соединение по п.5, в котором Y представляет собой F.

8. Соединение по любому из пп.5-7, в котором R^8 представляет собой H.

9. Соединение по любому из пп.5-7, в котором R^8 представляет собой

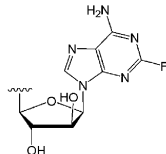


где R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , Z^2 и X^+ имеют значения, указанные в п.1.

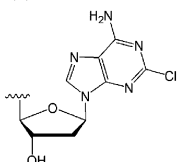
10. Соединение по п.9, в котором Z^2 представляет собой O.

11. Соединение по п.9, в котором Z^2 представляет собой S.

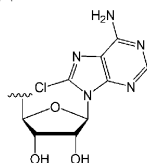
12. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



13. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



14. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой

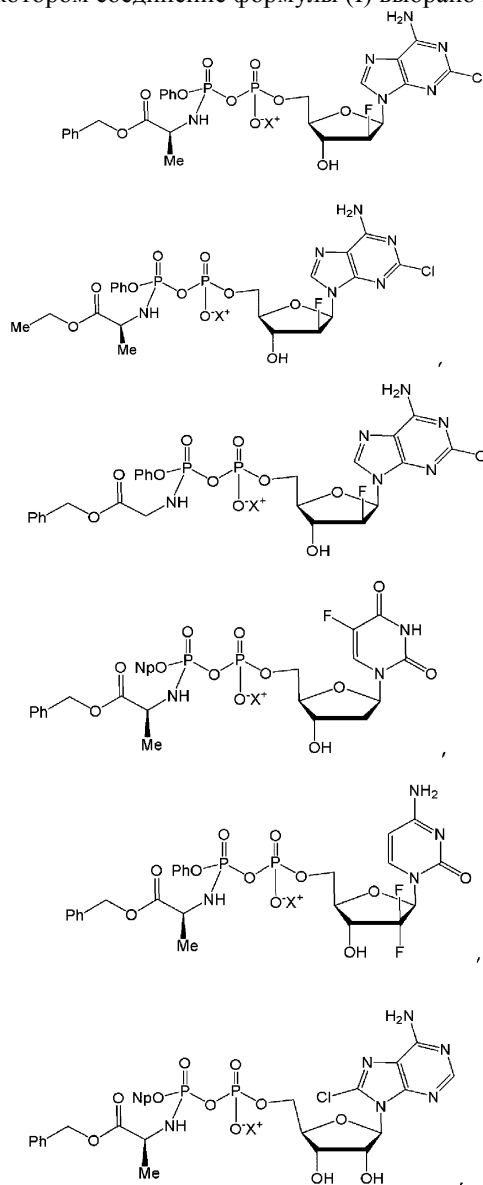


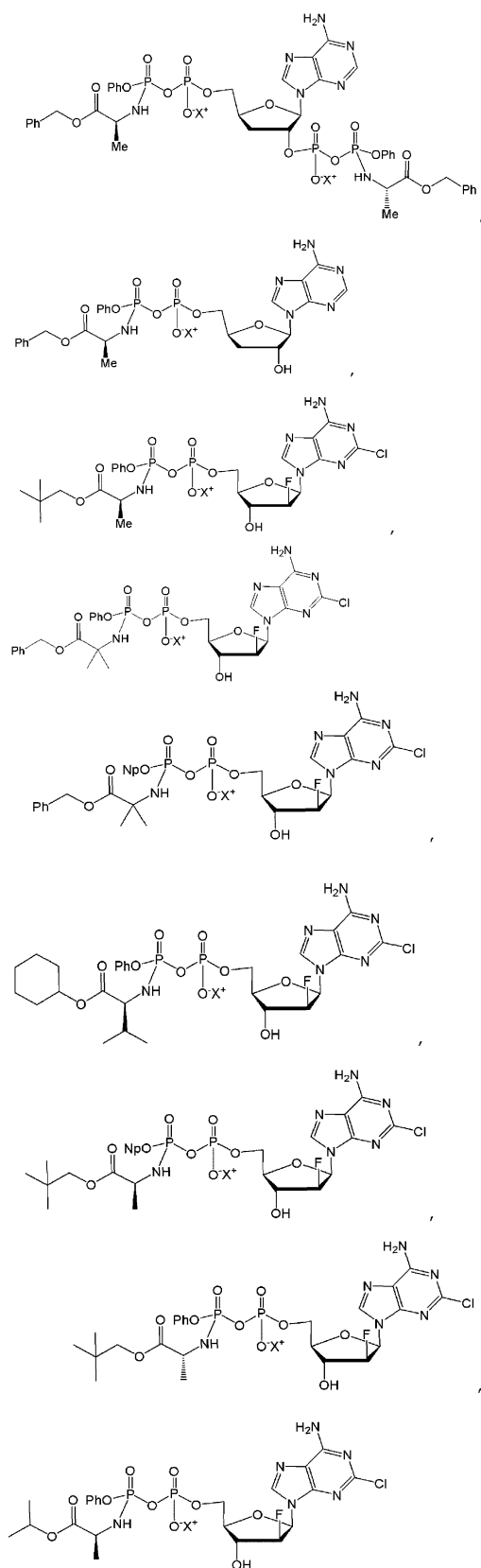
15. Соединение по любому из пп.1-14, в котором R^1 выбран из C_5 - C_7 -циклоалкила, C_1 - C_8 -алкила и бензила.

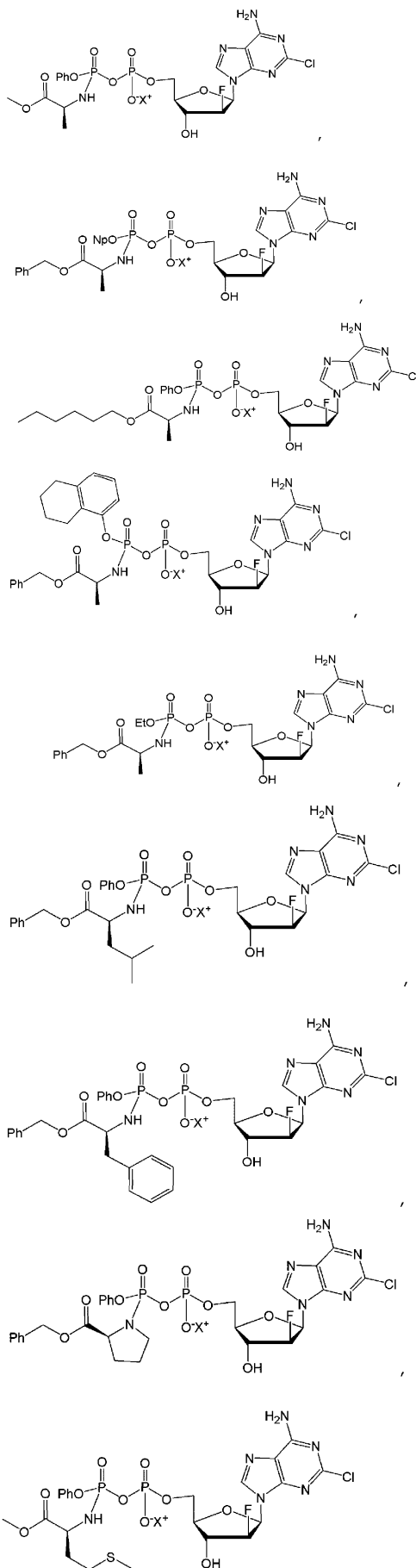
16. Соединение по п.15, в котором R^1 представляет собой бензил.

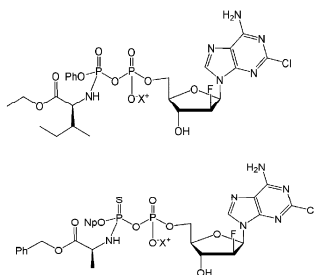
17. Соединение по п.15, в котором R^1 представляет собой C_1 - C_8 -алкил, например этил.

18. Соединение по любому из пп.1-17, в котором R^3 представляет собой H.
 19. Соединение по любому из пп.1-18, в котором R^2 представляет собой C_1 - C_4 -алкил.
 20. Соединение по любому из пп.1-18, в котором R^2 представляет собой H.
 21. Соединение по любому из пп.1-20, в котором R^5 представляет собой фенил.
 22. Соединение по любому из пп.1-20, в котором R^5 представляет собой нафтил.
 23. Соединение по п.1, в котором соединение формулы (I) выбрано из









где X^+ имеет значение, указанное в п. 1.

24. Применение соединения по любому из пп. 1-23 для лечения рака.

25. Применение по п. 24, в котором рак представляет собой лейкемию или лимфому.

26. Применение по п. 25, в котором рак представляет собой лейкемию, выбранную из группы, состоящей из острой миелоидной лейкемии (ОМЛ), острой лимфоидной лейкемии (ОЛЛ), хронической миелоидной лейкемии (ХМЛ), хронической лимфоидной лейкемии (ХЛЛ) и острой бифенотипической лейкемии (BAL).

27. Применение по п. 25, в котором рак представляет собой лимфому, выбранную из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы.

Краткое описание фигур

Варианты осуществления настоящего изобретения дополнительно описаны в настоящем описании со ссылкой на сопровождающие чертежи, на которых:

фиг. 1 показывает сигмоидальные кривые доза-эффект для (А) клофарабина, (В) примера 1 и (С) примера 2. Клофарабин и пример 1 показали самую большую активность. Все анализы проводили, применяя KG1a клетки, и данные представлены как среднее ($\pm$ SD) трех независимых экспериментов;

фиг. 2 показывает анализ способности направленно воздействовать на LSC клофарабина, примера 1 и примера 2. В условиях нормоксии, все соединения показали направленное воздействие на стволовые клетки при концентрациях выше 1×10^{-7} М. Все данные представляют собой среднее ($\pm$ SD) трех независимых экспериментов;

фиг. 3 показывает сравнение доли KG1a клеток, экспрессирующих LSC фенотип в условиях нормоксии и гипоксии. (А) KG1a клетки показывают зависящее от времени увеличение клеток, экспрессирующих LSC фенотип в условиях гипоксии, которое (В) обращалось, когда клетки переносили в условия нормоксии. Все данные представляют собой среднее ($\pm$ SD) четырех независимых экспериментов;

фиг. 4 показывает сравнение средних величин LD_{50} для (А) клофарабина, (В) примера 1 и (С) примера 2 в условиях нормоксии и гипоксии. Клофарабин показал значительное снижение активности в условиях гипоксии. Напротив, соединения настоящего изобретения сохраняли их активность в условиях гипоксии. Все данные представляют собой среднее ($\pm$ SD) трех независимых экспериментов;

фиг. 5 показывает сравнение повреждение ДНК, как измерено анализом на фосфорилирование γ H2A.X, стимулированного в очищенных LSC и клетках объемной опухоли после 2-часового воздействия (А) клофарабина, (В) примера 1 и (С) примера 2 в условиях гипоксии (5% O_2). Все данные представляют собой среднее ($\pm$ SD) трех независимых экспериментов.

Подробное описание

Термин "соляной раствор" предназначен для обозначения водного раствора хлорида натрия. Соляные растворы настоящего изобретения обычно будут стерильными и обычно будут в концентрации, подходящей для применения при парентеральном введении. Подходящие концентрации составляют до 2 или до 1 вес./об. Для оптимизации осмолярности в составах настоящего изобретения можно применять различные концентрации соляного раствора, например, 0,9 или 0,45%.

Составы настоящего изобретения можно применять в лечении тела человека. Их можно применять в лечении тела животного.

Соединения в составах настоящего изобретения можно получить, хранить и/или вводить в виде фармацевтически приемлемой соли. Подходящие 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, гидроксималиевая, фумаровая, яблочная, лимонная, молочная, муциновая, глюконовая, бензойная, янтарная, щавелевая, фенилуксусная, метансульфоновая, толуолсульфоновая, бензолсульфоновая, салициловая, сульфаниловая, аспарагиновая, глутаминовая, этилендиаминтетрауксусная, стеариновая, пальмитиновая, олеиновая, лауриновая, пантотеновая, дубильная, аскорбиновая и валериановая кислоты. Примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглюмина, оламина, калия, натрия, трометамин и цинка. Гемисоли кислот и оснований можно также получить, например, гемисульфатную, гемиоксалатную и гемикальциевую соли.

Для приведенных выше составов настоящего изобретения вводимая доза будет, конечно, изменяться в зависимости от применяемого соединения, точного способа введения, требуемого лечения и указанного заболевания. Ожидают, что уровни дозировки, частота введения и продолжительность лечения соединениями настоящего изобретения будут различаться в зависимости от состава и клинических показаний, возраста и сопутствующих заболеваний пациента. Размер дозы для терапевтических целей соединений настоящего изобретения будет естественно варьироваться в зависимости от характера и тяжести заболевания, возраста и пола животного или пациента и пути введения, в соответствии с хорошо известными принципами медицины.

Фармацевтический состав обычно может быть в виде композиции, в которой активные соединения или их фармацевтически приемлемые соли находятся в сочетании с фармацевтически приемлемыми адъювантом, разбавителем или носителем. Одним из таких фармацевтически приемлемых адъювантов, разбавителей или носителей в составе настоящего изобретения является полярный апротонный растворитель. Обычные способы выбора и получения подходящих фармацевтических составов описаны, например, в "Pharmaceuticals-The Science of Dosage Form Designs", M.E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

Составы могут быть пригодными для местного нанесения (например, на кожу или мочевой пузырь), для перорального введения или для парентерального введения (например, для внутривенного введения).

Любые растворители, применяемые в фармацевтических составах настоящего изобретения, должны быть фармацевтического качества, что означает, что они имеют профиль примесей, который делает их пригодными для введения (например, внутривенного введения) людям.

Для перорального введения составы настоящего изобретения могут содержать активное соединение, смешанные с адъювантом или носителем, например, лактозой, сахарозой, сорбитом, маннитом; 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 до таблеток. Если требуются таблетки с покрытием, ядра, полученные, как описано выше, можно покрывать концентрированным раствором сахара, который может содержать, например, аравийскую камедь, желатин, тальк и диоксид титана. Альтернативно, таблетку можно покрывать подходящим полимером, растворенным в легколетучем органическом растворителе.

Для получения мягких желатиновых капсул активные соединения можно смешивать, например, с растительным маслом или полиэтиленгликолем. Твердые желатиновые капсулы могут содержать гранулы соединения, применяя любые упомянутые выше вспомогательные вещества для таблеток. Также жидкие или полутвердые составы активных соединений можно помещать в твердые желатиновые капсулы.

Жидкие препараты для перорального применения могут быть в форме сиропов или суспензий, например, растворов, содержащих соединения настоящего изобретения, остаток которого представляет собой 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.

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. Примерные органические растворители включают диметилацетамид, этанол, этиленгликоль, N-метилпирролидон, диметилсульфоксид, диметилформамид и изопропанол. Примерные поверхностно-активные вещества включают полиэтоксилированные жирные кислоты и эфиры жирных кислот и их смеси. Подходящие поверхностно-активные вещества включают полиэтоксилированное касторовое масло (например, продаваемое под торговым названием Kolliphor® ELP); или полиэтоксилированную стеариновую кислоту (например, продаваемую под названиями Solutol® или Kolliphor® HS15); или моноолеат полиэтоксилированного (например, полиоксиэтилен (20)) сорбитана, (например, продаваемый под торговыми названиями Polysorbate 80 или Tween® 80).

Фармацевтическая композиция настоящего изобретения будет предпочтительно содержать 0,05-99 вес.% соединения настоящего изобретения, более предпочтительно 0,05-80 вес.% соединения настоящего изобретения, еще более предпочтительно 0,10-70 вес.% соединения настоящего изобретения, и даже более предпочтительно 0,10-50 вес.% соединения настоящего изобретения, причем все проценты представлены по весу относительно всей композиции.

Циклодекстрины, как показано, находят широкое применение для доставки 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. Циклодекстри-

ны могут содержать 6, 7 или 8 глюкопиранозных звеньев (обозначенных как α -, β - и γ -циклодекстрины, соответственно). Циклодекстрины, применяемые в фармацевтических составах, часто являются β -циклодекстринами. Боковые гидроксильные группы можно алкилировать C_1 - C_6 замещенными или незамещенными алкильными группами. Примеры циклодекстринов являются α -циклодекстрин, β -циклодекстрин, γ -циклодекстрин, 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин (HP-P-CD), натриевая соль сульфобутилового эфира β -циклодекстрина, частично метилированный β -циклодекстрин. Составы настоящего изобретения могут также содержать по меньшей мере один циклодекстрин.

Термин C_m - C_n относится к группе с m - n атомов углерода.

Термин "алкил" относится к линейной или разветвленной углеводородной группе. Алкильная группа является моновалентной. Например, C_1 - C_6 -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.

Термин "алкилен" относится к линейной углеводородной цепи. Алкиленовая группа является двухвалентной. Например, C_1 -алкилен может относиться к CH_2 группе. C_2 -алкилен может относиться к $-CH_2CH_2-$ группе. Алкиленовые группы являются предпочтительно незамещенными.

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 в любом положении углеводородной цепи. Например, C_1 - C_4 -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.

Термин "алкенил" относится к разветвленной или линейной углеводородной цепи, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь. Двойная связь (связи) может присутствовать в виде *E* или *Z* изомера. Двойная связь может быть в любом возможном положении углеводородной цепи. Например, " C_2 - C_4 -алкенил" может относиться к этенилу, аллилу и бутенилу. Алкенильные группы предпочтительно являются незамещенными.

Термин "алкинил" относится к разветвленной или линейной углеводородной цепи, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Тройная связь может быть по любому возможному положению углеводородной цепи. Например, " C_2 - C_6 -алкинил" может относиться к этинилу, пропилилу, бутинилу. Алкинильные группы являются предпочтительно незамещенными.

Термин "циклоалкил" относится к насыщенному углеводородному кольцевому соединению, содержащему 3, 4, 5 или 6 атомов углерода. Например, "3-6-членный циклоалкил" может относиться к циклопропилу, циклобутилу, цикlopентилу, циклогексилу. Циклоалкильные группы являются предпочтительно незамещенными.

Термин "гетероциклоалкил" может относиться к насыщенному или частично насыщенному моноциклическому соединению, содержащему 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.

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.

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

Некоторые изотопно-меченные соединения, например, соединения, которые содержат радиоактивный изотоп, являются пригодными в исследованиях распределения лекарственного средства и/или субстрата 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 средств обнаружения.

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 сниженными требованиями к дозировке, и, следовательно, может быть предпочтительной в некоторых обстоятельствах.

Изотопно-меченные соединения можно обычно получить общепринятыми способами, известными специалисту в данной области техники, или способами, аналогичными способом, описанным, применяя

подходящие изотопно-меченный реагент вместо ранее применяемого немеченного реагента.

Способ лечения или формулирования для применения в лечении рака, включая лимфому или лейкемию, может включать, в добавление к составам настоящего изобретения, обычную хирургию или лучевую терапию или химиотерапию. Данная химиотерапия может включать введение одного или нескольких других активных агентов.

Если дополнительный активный агент вводят как часть способа лечения настоящего изобретения, данное комбинированное лечение может быть достигнуто путем одновременного, последовательного или раздельного введения отдельных компонентов лечения. Данные комбинированные продукты применяют соединения настоящего изобретения в терапевтически эффективном диапазоне доз, описанном выше, и один или несколько других фармацевтически активных агентов в пределах их утвержденного диапазона доз.

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

Один или более других активных ингредиентов могут представлять собой один или более из следующих категорий противоопухолевых агентов:

(i) антипролиферативные/антибластные лекарственные средства и их комбинации, такие как алкилирующие агенты (например, циклофосфамид, азотистый иприт, бендамустин, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфан, темозоломид и нитрозомочевина); антиметаболиты (например, гемцитабин и антифолаты, такие как фторпиримидины, подобные 5-фторурацилу и тегафуру, релтитрексед, метотрексат, пеметрексед, цитозинарабинозид, и гидроксимочевина); антибиотики (например, антрациклины, такие как адриамицин, блеомицин, доксорубин, 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, такотер 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, фульвестрант, торемифен, ралоксифен, дролоксифен и йодоксифен), антиандрогены (например, бикалутамид, флутамид, нилутамид и ацетат ципротерона), антагонисты LHRH или агонисты LHRH (например, гозерелин, лейп-рорелин и бузерелин) прогестогены (например, ацетат мегестрола), ингибиторы ароматазы (например, анастрозол, летрозол, воразол и экземестан) и ингибиторы 5 α -редуктазы, такие как финастерид;

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

(iv) ингибиторы функции факторов роста: например, данные ингибиторы включают антитела к факторам роста и антитела к рецепторам факторов роста, например анти-erbB2 антитело трастузумаб [HerceptinTM], анти-EGFR антитело панитумаб, анти-erbB1 антитело цетуксимаб, ингибиторы тирозинкиназ, например, ингибиторы семейства эпидермального фактора роста (например, ингибиторы тирозинкиназы семейства EGFR, такие как gefitinib, эрлотиниб и 6-акриламидо-N-(3-хлор-4-фторфенил)-7-(3-морфолинопропокси)хиназолин-4-амин (CI 1033), ингибиторы erbB2 тирозинкиназы, такие как лапатиниб); ингибиторы семейства факторов роста гепатоцитов; ингибиторы семейства факторов роста инсулина; модуляторы белковых регуляторов клеточного апоптоза (например, ингибиторы Bcl-2); ингибиторы семейства тромбоцитарных факторов роста, такие как иматиниб и/или нилотиниб (AMN107); ингибиторы серин/треонинкиназ (например, ингибиторы передачи сигналов Ras/Raf, такие как ингибиторы фанезилтрансферазы, например, сорафениб, типифарниб и лонафарниб), ингибиторы клеточной передачи сигналов через MEK и/или AKT-киназы, ингибиторы c-kit, ингибиторы aB1-киназы, ингибиторы киназы PI3, ингибиторы киназы Plt3, ингибиторы киназы CSF-1R, рецептор IGF, ингибиторы киназы; 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 (AvastinTM); талидомид; леналидомид; и, например, ингибитор тирозинкиназы VEGF рецептора, такой как вандетаниб, ваталаниб, сунитиниб, акситиниб и пазопаниб];

(vi) подходы генной терапии, включая, например, подходы к замещению аберрантных генов, таких как аберрантный p53 или аберрантный BRCA1 или BRCA2;

(vii) подходы иммунотерапии, включая, например, адаптивный перенос клеток, такой как CAR T-клеточная терапия; терапия антителами, такая как алектумаб, ритуксимаб, ибритумаб тиуксетан (Zevalin[®]) и офатумаб; интерфероны, такие как интерферон α ; интерлейкины, такие как IL-2 (альдеслейкин); ингибиторы интерлейкина, например ингибиторы IRAK4; противораковые вакцины, включая профилактические и лечебные вакцины, такие как вакцины против ВПЧ, например, гардазил, церварикс, онкофаг и сипулейцел-Т (Provenge); и модуляторы toll-подобных рецепторов, например агонисты TLR-7

или TLR-9;

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

(ix) стероиды, такие как кортикостероиды, включая глюкокортикостероиды и минералокортикостероиды, например аклометазон, аклометазон дипропионат, альдостерон, амцинониды, беклометазон, беклометазон дипропионат, бетаметазон, бетаметазон дипропионат, бетаметазонфосфат натрия, бетаметазон валерат, будезонид, клобетазон, клобетазон бутират, клобетазол пропионат, клопреднол, кортизон, кортизон ацетат, кортивазол, дезоксикортон, дезонид, дезоксиметазон, дексаметазон, дексаметазонфосфат натрия, дексаметазон изоникотинат, дифторкортолон, флулклоролон, флуметазон, флунизол, флуоцинолон, флуоцинолон ацетонид, флуоцинонид, флуокортин бутил, фторкортизон, фторкортолон, флуокортолон капроит, флуокортолон пивалат, фторметолон, флупредниден, флупредниден ацетат, флурандренолон, флутиказон, флутиказон пропионат, халцинонид, гидрокортизон, гидрокортизон ацетат, гидрокортизон бутират, гидрокортизон ацепонат, гидрокортизон бупрат, гидрокортизон валерат, икометазон, икометазон энбутат, мепреднизон, метилпреднизолон, мометазон параметазон, мометазонфуроат моногидрат, предникарбат, преднизолон, преднизон, тиксокортол, тиксокортол пивалат, триамцинолон, триамцинолон ацетонид, триамцинолоновый спирт и их соответствующих фармацевтический приемлемые производные. Можно применять комбинацию стероидов, например, комбинацию двух или более стероидов, приведенных в данном параграфе;

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

Один или более других активных ингредиентов могут также представлять собой антибиотик.

Во всем описании и формуле изобретения данного описания слово "содержат" и его вариации обозначает "включая, но не ограничиваясь", и оно не предназначено (и не исключает) другие группы, добавки, компоненты, целые числа или стадии. Во всем описании и формуле изобретения данного описания единственное число охватывает множественное число, если контекст не требует иного. В частности, когда применяют неопределенный артикль, описание следует понимать как рассматривающее множественность, а также единственность, если контекст не требует иного.

Признаки, целые числа, характеристики, соединения, химические фрагменты или группы, описанные в связи с конкретным аспектом, вариантом осуществления или примером настоящего изобретения должны быть поняты как применимые к любому другому аспекту, варианту осуществления или примеру, описанному в данном документе, если они не несовместимы с ним. Все признаки, описанные в настоящем изобретении (включая любую прилагаемую формулу изобретения, реферат и чертежи) и/или все из стадий любого таким образом описанного способа, можно объединять в любой комбинации, кроме комбинаций, где, по меньшей мере, некоторые из данных признаков/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 сопроводительную формулу изобретения, реферат и чертежи), или на любой новый, или любую новую комбинацию стадий любого таким образом описанного способа.

Внимание читателя направлено на все статьи и документы, которые поданы одновременно или предшествуют данной спецификации в связи с настоящей заявкой и которые открыты для публичного ознакомления с данной спецификацией, и содержание всех данных статей и документов включено в настоящее изобретение с помощью ссылки.

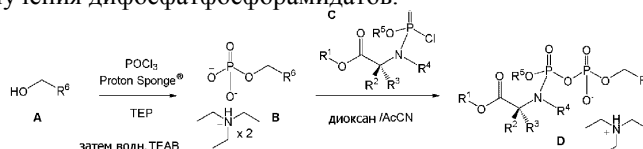
Примеры

Во всем описании данные сокращения имеют следующие значения.

AcCN	ацетонитрил	MS	Масс-спектрометрия
aq	Водный	NMR	Ядерный магнитный резонанс
DCM	дихлорметан	Np	1-нафтил
DMSO	диметилсульфоксид	rt	Комнатная температура
EC ₅₀	Полумаксимальная эффективная концентрация	TEA	триэтиламин
eq.	эквиваленты	TEAB	Буфер на основе бикарбоната триэтиламмония
HPLC	Жидкостная хроматография	TEP	триэтилфосфат

	высокого давления		
h	Часов	t_R	Время удерживания
IC ₅₀	Полумаксимальная ингибирующая концентрация		

Общий способ получения дифосфатфосфорамидатов.



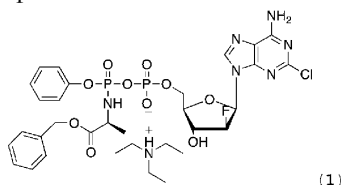
Сухой нуклеозид А (~1,0 ммоль, 1,0 экв.) растворяли в 5 мл триэтилфосфата (ТЕР) и перемешивали в течение 5 мин при комнатной температуре. Реакционную смесь охлаждали до 4°C и добавляли сухой 1,8-бис-(диметиламино)нафталин (Proton Sponge®, 1,5 экв.), с последующим добавлением по каплям POCl₃ (1,3 экв.). Полученную в результате суспензию перемешивали при 4°C в течение 2-3 ч. После данного времени, к реакционной смеси добавляли холодный 0,5 М водн. триэтиламмонийбикарбонатный буфер (ТЕАВ) (рН 7,5), и полученную смесь перемешивали в течение 30 минут, и затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение дополнительного 1 ч. ТЕР экстрагировали трет-бутилметилловым эфиром (4×50 мл), и водный раствор упаривали и сушили при высоком вакууме в течение ночи, получая соответствующую триэтиламмониевую соль нуклеозид 5'-монофосфата В в виде стеклообразного бесцветного масла или белого порошка, который применяли в следующей стадии без дополнительной очистки. Образование нуклеозид 5'-монофосфата подтверждали масс-спектрометрией в режиме детекции отрицательных ионов.

0,5 М раствор ТЕАВ получали барботированием CO₂ через 0,5 М раствор триэтиламина (ТЕА) в воде при 0-4°C в течение 30-45 мин (рН приблизительно 7,4-7,6, если не указано иначе).

Получение триэтиламмониевой соли нуклеозид 5'-монофосфата на первой стадии осуществляли, следуя модифицированной ссылке: El-Tayeb A. et al., J. Med. Chem. 2006, 49(24), 7076-7087.

Смесь триэтиламмониевой соли нуклеозид 5'-монофосфата В (1 ммоль) в 1:1 смеси 1,4-диоксан/ацетонитрил (20 мл) перемешивали при комнатной температуре (rt) в атмосфере аргона и добавляли по каплям подходящий фосфорхлоридат С (1,0 экв.), растворенный в безводном ацетонитриле. Полученную в результате реакционную смесь перемешивали в течение 18 ч при комнатной температуре. Неочищенную смесь упаривали при пониженном давлении, и остаток растворяли в DCM и наносили на силикагель, дезактивированный ТЕА (3%), в смеси DCM/MeOH (92/5%). Очистка неочищенного материала (полученного для сухой загрузки) автоматической Biotage Isolera One на SNAP Ultra 50 г картридже, предварительно обработанном 3CV ТЕА (3%) в смеси DCM/MeOH (92/5%) с градиентом MeOH в DCM (2-20%, поток 50 мл/мин) давала требуемые соединения, которые дополнительно очищали на Biotage Isolera One (C18 SNAP Ultra 30 г картридж с градиентом 0,1 М ТЕАВ в AcCN (ацетонитрил) от 100 до 0% в качестве элюента в течение 60 мин, поток 15 мл/мин) или ВЭЖХ на полупрепаративной колонке (Varian Pursuit XRs 5C18, 150×21,22 мм), применяя градиент 0,1 М ТЕАВ в AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин.

Пример 1. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксигуанозил)-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[фенил(бензоксигуанидинил)]дифосфата.



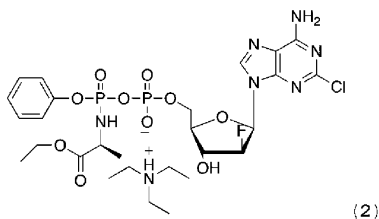
Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксигуанозил)-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,58 г, 0,98 ммоль), фенил(бензоксигуанидинил)фосфорхлоридата (0,35 г, 0,98 ммоль) в виде белой пены (0,04 г, 6%).

³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_p-7,73 (д, J=21,0 Гц), -7,93 (д, J=21,2 Гц), -11,96 (д, J=18,4 Гц), -12,06 (д, J=20,8 Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_H 8,29, 8,28 (2×0,5H, H-8), 7,33-7,24 (9H, м, H-Ar), 7,18-7,14 (1H, м, H-Ar), 6,44, 6,41 (2×0,5H, 2×д, J=3,5 Гц, H-1'), 5,20-5,19 (0,5H, м, H-2'), 5,11 (2H, условный с, OCH₂Ph), 5,10-5,08 (0,5H, м, H-2'), 4,58-4,54 (1H, м, H-3'), 4,26-4,24 (2H, м, 2×H-5'), 4,16-4,13 (2H, м, H-4', NHCH₂CH₃), 3,08 (6H, кв, J=7,0 Гц, 3×CH₂CH₃), 1,39, 1,35 (3H, 2×д, J=7,0 Гц, NHCH₂CH₃), 1,26 (9H, т, J=7,0 Гц, 3×CH₂CH₃). MS (ES) отрицательный режим m/z. 699 ([M-H]⁻), точная масса: C₂₅H₂₈ClFN₆O₁₀P₂ тре-

буемая 700,93, найдено 699,20 ([M-H]⁻). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, t_R=14,05 мин.

Пример 2. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[фенил(этоксид-L-аланинил)]дифосфата.

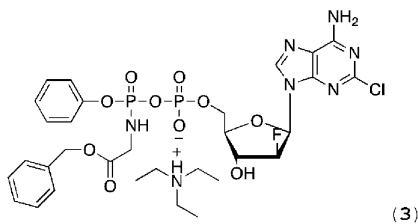


Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,58 г, 0,98 ммоль), фенил(этоксид-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,28 г, 0,98 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,07 г, 10%).

³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_P -7,72 (д, J=20,2 Гц), -7,89 (д, J=20,2 Гц), -11,94 (д, J=18,2 Гц), -12,10 (д, J=18,2 Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_H 8,29 (1H, с, Н-8), 7,34-7,27 (4H, м, Н-Аг), 7,17-7,15 (1H, м, Н-Аг), 6,45, 6,42 (2×0,5H, 2× условный т, J=1,5 Гц, Н-1'), 5,24, 5,10 (2×0,5H, 2× условный т, J=1,5 Гц, Н-2'), 4,59, 4,55 (2×0,5H, 2× условный т, J=2,0 Гц, Н-3'), 4,26-4,24 (2H, м, ОСН₂СН₃), 4,17-4,07 (4H, м, Н-5', NHCHCH₃, Н-4'), 3,05 (6H, кв, J=7,0 Гц, 3×СН₂СН₃), 1,39, 1,34 (2×1,5H, 2×д, J=7,0 NHCHCH₃), 1,26-1,20 (12H, м, ОСН₂СН₃, 3×СН₂СН₃). MS (ES) отрицательный режим m/z: 637 ([M-H]⁻), точная масса: C₂₁H₂₆ClFN₆O₁₀P₂ требуемая 638,86, найдено 637,12 ([M-H]⁻). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя Н₂О/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, X=254 нм, два пика для двух диастереоизомеров с t_R=14,20 мин.

Пример 3. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[фенил(бензоксид-L-глицинил)]дифосфата.

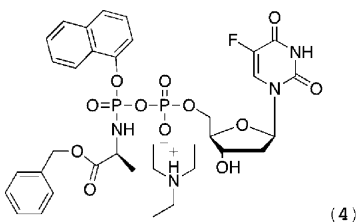


Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,58 г, 0,98 ммоль), фенил(бензоксид-L-глицинил)фосфорхлоридата (0,335 г, 0,98 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,10 г, 13%).

³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_P -6,70 (д, J=20,2 Гц), -11,86 (д, J=22,2 Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_H 8,30, 8,29 (2×0,5H, 2×д, J=2,0 Гц, Н-8), 7,36-7,28 (9H, м, Н-Аг), 7,18-7,14 (1H, м, Н-Аг), 6,44, 6,41 (2×0,5H, 2×д, J=4,5 Гц, Н-1'), 5,20-5,18 (0,5H, м, Н-2'), 5,16 (2H, условный с, ОСН₂Ph), 5,09-5,07 (0,5H, м, Н-2'), 4,61-4,55 (1H, м, Н-3'), 4,29-4,25 (2H, м, 2× Н-5'), 4,17-4,13 (1H, м, Н-4'), 3,96-3,84 (2H, м, NHCH₂), 2,89 (6H, кв, J=7,0 Гц, 3×СН₂СН₃), 1,19 (9H, т, J=7,0 Гц, 3×СН₂СН₃). MS (ES) отрицательный режим m/z: 685 ([M-H]⁻), точная масса: C₂₅H₂₆ClFN₆O₁₀P₂ требуемая 686, найдено 685,119 ([M-H]⁻). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, t_R=13,6 мин.

Пример 4. Триэтиламмониевая соль 5-фтор-2'-дезоксидуридин-5'-О-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]дифосфата.



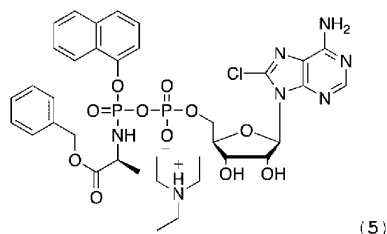
Получали согласно общему способу из ТЕА соли 5-фтор-2'-дезоксидуридин-5'-монофосфата (1,07 г, 2,03 ммоль), 1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,82 г, 2,03 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,16 г, 10%).

³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_P -7,43 (д, J=22,2 Гц), -7,79 (д, J=22,2 Гц), -11,89 (д, J=20,2 Гц), -12,02 (д, J=20,2 Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, MeOD) δ_H 8,39-8,35 (1H, м, Н-Аг), 7,99 (1H, условный т, J=6,0 Гц, Н-Аг), 7,87-7,86 (1H, м, Н-Аг), 7,69 (1H, т, J=7,0 Гц, Н-Аг), 7,58 (1H, условный д, J=7,0 Гц, Н-Аг), 7,53-7,51 (2H, м,

H-Ar, H-6), 7,43-7,36 (1H, м, H-Ar), 7,29-7,26 (5H, м, H-Ar), 6,26 (1H, apparent q, $J=6,5$ Гц, H-1'), 5,02-4,94 (2H, 2×условный д, $J=13,5$, $J=12,5$ Гц, OCH_2Ph), 4,46-4,43 (1H, м, H-3'), 4,24-4,16 (3H, м, 3H, 2×H-5', NHCHCH_3), 4,03 (1H, условный с, H-4'), 3,09 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $3\times\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,22-2,19 (1H, м, H-2'), 2,16-2,4 (1H, м, H-2'), 1,37 (1,5H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3), 1,29 (1,5H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3), 1,26 (9H, т, $J=7,0$ Гц, $3\times\text{CH}_2\text{CH}_3$). MS (ES) отрицательный режим m/z : 692 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), точная масса: $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{FN}_3\text{O}_{12}\text{P}_2$ требуемая 693, найдено 692,128 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/ACN 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_R=4,24$ мин, 14,34 мин.

Пример 5. Триэтиламмониевая соль 8-хлораденозин-5'-O-[1-нафтил(бензоксип-1-аланинил)]дифосфата.



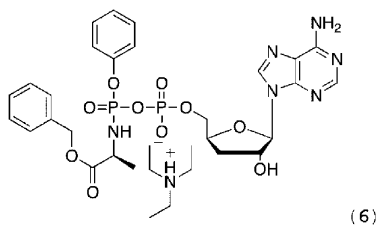
Получали согласно общему способу из TEA соли 8-хлораденозин-5'-монофосфата (0,46 г, 0,795 ммоль), 1-нафтил(бензоксип-1-аланинил)фосфорхлоридата (0,32 г, 0,795 ммоль) полсе двух очисток на Biotage Isolera One (C18 30 г картридже) и ВЭЖХ (полупрепаративная C18 колонка) в виде белого твердого остатка (0,02 г, 4%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_P -7,58 (д, $J=22,2$ Гц), -8,0 (д, $J=20,2$ Гц), -11,85 (д, $J=22,2$ Гц), -12,05 (д, $J=20,2$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_H 8,36-8,33 (1H, м, H-Ar), 8,14, 8,10 (2×0,5H, 2×s, H-2), 7,86-7,84 (1H, м, H-Ar), 7,66 (1H, д, $J=8,0$ Гц, H-Ar), 7,56-7,45 (3H, м, H-Ar), 7,38-7,33 (1H, м, H-Ar), 7,29-7,24 (5H, м, H-Ar), 6,02 (1H, т, $J=6,0$ Гц, H-1'), 5,35-5,32 (1H, м, H-2'), 5,00, 4,98, 4,97, 4,94 (2H, AB, $J_{AB}=12,3$ Гц, OCH_2Ph), 4,54-4,50 (1H, м, H-3'), 4,40-4,33 (1H, м, H-5'), 4,26-4,13 (3H, м, H-5', H-4', NHCHCH_3), 3,06 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $3\times\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,36 (1,5H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3), 1,26 (1,5H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3), 1,25 (9H, т, $J=7,0$ Гц, $3\times\text{CH}_2\text{CH}_3$). MS (ES) отрицательный режим m/z : 747 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), точная масса: $\text{C}_{30}\text{H}_{31}\text{ClN}_6\text{O}_{11}\text{P}_2$ требуемая 749, найдено 747,1102 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/ACN 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_R=14,32$, 14,48 мин.

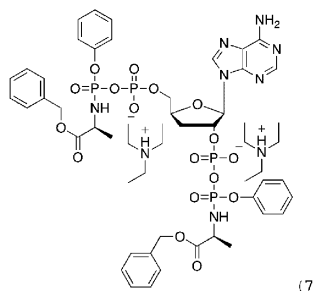
Примеры 6 и 7. Триэтиламмониевая соль 3'-дезоксааденозин-5'-O-[фенил(бензоксип-1-аланинил)]дифосфата (6) и триэтиламмониевая соль 3'-дезоксааденозин-5',2'-бис-O-[фенил(бензоксип-1-аланинил)]дифосфата (7).

Получали согласно общему способу из TEA соли 3'-дезоксааденозин-5'-монофосфата (0,63 г, 1,186 ммоль), фенил(бензоксип-1-аланинил)фосфорхлоридата (0,42 г, 1,186 ммоль). Выделяли два продукта: триэтиламмониевую соль 3'-дезоксааденозин-5',2'-O-[фенил(бензоксип-1-аланинил)]дифосфата (0,05 г, 5%) и 3'-дезоксааденозин-5'-O-[фенил(бензоксип-1-аланинил)]дифосфат в виде бесцветной пленки (0,01 г, 1,3%).



^{31}P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_P -7,76 (д, $J=21,0$ Гц), -8,03 (д, $J=21,8$ Гц), -11,70 (д, $J=20,4$ Гц), -11,81 (д, $J=16,76$ Гц).

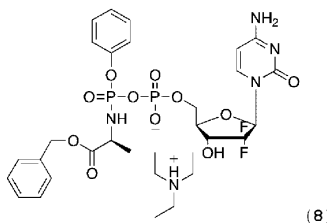
^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_H 8,45 (1H, с, H-8), 8,21 (1H, с, H-2), 7,34-7,23 (9H, м, H-Ar), 7,14-7,11 (1H, м, H-Ar), 6,02 (1H, условный с, H-1'), 5,10 (2H, AB система условный т, $J_{AB}=16,5$ Гц, OCH_2Ph), 4,66-4,60 (2H, м, H-2', H-4'), 4,29-4,27 (1H, м, H-5'), 4,19-4,13 (2H, м, H-5', NHCHCH_3), 3,06 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $3\times\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,42-2,33 (1H, м, H-3'), 2,11-2,06 (1H, м, H-3'), 1,40 (1,5H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3), 1,35 (1,5H, д, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3), 1,25 (9H, т, $J=7,0$ Гц, $3\times\text{CH}_2\text{CH}_3$). MS (ES) отрицательный режим m/z : 647 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), точная масса: $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая 648, найдено 647,154 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/ACN 90/10-0/100 в течение 20 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_R=8,20$ мин.



^{31}P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_{P} -7,78 (д, $J=20,4$ Гц), -7,84 (д, $J=22,08$ Гц), -8,01 (д, $J=21,0$ Гц), -12,08 (д, $J=21,6$ Гц), -12,18 (д, $J=22,0$ Гц), -13,50 (д, $J=20,6$ Гц), -13,56 (д, $J=20,2$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,20 (0,5H, с, Н-8), 8,19 (0,5H, с, Н-8), 8,04 (1H, с, Н-2), 7,21-7,19 (12H, м, Н-Аг), 7,14-6,97 (8H, м, Н-Аг), 6,16 (0,5H, с, Н-1'), 6,15 (0,5H, с, Н-1'), 5,27 (0,5H, условный т, $J=7,0$ Гц, Н-2'), 5,15 (0,5H, условный т, $J=5,0$ Гц, Н-2'), 5,0-4,94 (4H, м, $2 \times \text{OCH}_2\text{Ph}$), 4,48-4,60 (1H, м, Н-4'), 4,13-4,08 (1H, м, Н-5'), 4,05-3,95 (3H, м, Н-5', $2 \times \text{NHCHCH}_3$), 3,06 (12H, кв, $J=7,0$ Гц, $3 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 2,50-2,42 (1H, м, Н-3'), 2,27-2,20 (1H, м, Н-3'), 1,26-1,17 (6H, м, $2 \times \text{NHCHCH}_3$), 1,25 (18H, т, $J=7,0$ Гц, $3 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$). MS (ES) отрицательный режим m/z : 1044 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), точная масса: $\text{C}_{42}\text{H}_{47}\text{N}_7\text{O}_{17}\text{P}_4$ требуемая 1045, найдено 1044,232 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_{\text{R}}=9,75$ мин, 10,37 мин.

Пример 8. Триэтиламмониевая соль 2'-дезоксидефтор-О-цитидин-5'-О-[фенил(бензоксидефтор-О-аланинил)]дифосфата.

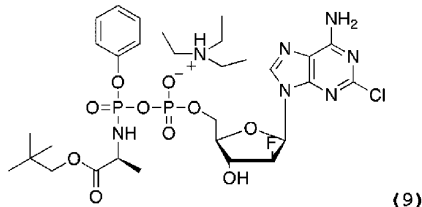


Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2'-дезоксидефтор-О-цитидин 5'-монофосфата (0,62 г, 1,13 ммоль), фенил(бензоксидефтор-О-аланинил)фосфорхлоридата (0,40 г, 1,13 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,05 г, 6%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_{P} -7,65 (д, $J=21,0$ Гц), -7,87 (д, $J=21,0$ Гц), -12,12 (д, $J=16,9$ Гц), -12,21 (д, $J=21,4$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_{H} 7,83 (1H, д, $J=7,5$ Гц, Н-6), 7,35-7,25 (9H, м, Н-Аг), 7,16 (1H, условный т, $J=7,0$ Гц, Н-Аг), 6,27-6,24 (1H, м, Н-1'), 5,96, 5,95 (1H, $2 \times$ д, $J=5,0$ Гц, Н-5), 5,13 (2H, АВ система, условный с, OCH_2Ph), 4,37-4,25 (3H, м, $2 \times$ Н-5', Н-3'), 4,18-4,12 (1H, м, Н-4'), 4,00-3,97 (1H, м, NHCHCH_3), 3,20 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $3 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,40, 1,35 (3H, $2 \times$ д, $J=7,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $3 \times \text{CH}_2\text{CH}_3$). MS (ES) отрицательный режим m/z : 659 ($[\text{M}-\text{H}]^-$), точная масса: $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{F}_2\text{N}_4\text{O}_{11}\text{P}_4$ требовалась 660, найдено 659 ($[\text{M}-\text{H}]^-$). Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_{\text{R}}=2,55$ мин, 12,85 мин.

Пример 9. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксидефтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[фенил(неопентоксидефтор-О-аланинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соль 2-хлор-9-(2'-дезоксидефтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,77 г, 1,32 ммоль), фенил(неопентоксидефтор-О-аланинил)фосфорхлоридата (0,43 г, 1,32 ммоль) и ТЕА (0,53 мл, 3,81 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,065 г, 6%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,67 (д, $J=21,0$ Гц), -7,93 (д, $J=21,0$ Гц), -11,93 (д, $J=21,21$ Гц), -12,04 (д, $J=21,21$ Гц).

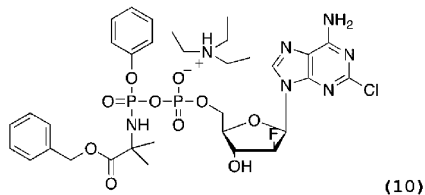
^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,18 (0,5H, с, Н-8), 8,17 (0,5H, с, Н-8), 7,22-7,15 (4H, м, Н-Аг), 7,12-7,09 (1H, м, Н-Аг), 6,33 (0,5H, т, $J=1,5$ Гц, Н-1'), 6,30 (0,5H, т, $J=1,5$ Гц, Н-1'), 5,08 (0,5H, условный т, $J=1,5$ Гц, Н-2'), 4,96 (0,5H, условный т, $J=1,5$ Гц, Н-2'), 4,46 (0,5H, условный т, $J=2,0$ Гц, Н-3'), 4,43 (0,5H, условный т, $J=2,0$ Гц, Н-3'), 4,15-4,11 (2H, м, Н-5'), 4,05-3,99 (2H, м, NHCHCH_3 , Н-4'), 3,72, 3,69, 3,63, 3,61 (2H, АВ система, $J=10,50$ Гц, $\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3,05 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,31, 1,25 ($2 \times$ 1,5H, $2 \times$ д,

$J=7,0$ ННCHCH₃), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, N(CH₂CH₃)₃), 0,80 (9H, с, OCH₂C(CH₃)₃).

¹³C ЯМР (125 МГц, CD₃OD): δ_C 175,10 (д, ³J_{C-P}=6,4 Гц, C=O, эфир), 173,56 (д, ³J_{C-P}=6,4 Гц, C=O, эфир), 156,72 (C-6), 154,16 (C-2), 153,42 (д, ²J_{C-P}=3,8 Гц, C-Ar), 150,90 (д, ²J_{C-P}=5,8 Гц, C-Ar), 150,26 (C-4), 142,68 (C-8), 129,26, 128,73, 124,65, 124,60, 122,40 (CH-Ar), 120,38, 120,15 (2×д, ³J_{C-P}=4,6 Гц, CH-Ar), 117,15 (C-5), 94,99 (д, ¹J_{C-F}=191,4 Гц, C-2'), 82,92 (д, ³J_{C-F}=8,25 Гц, C-4'), 82,78 (д, ²J_{C-F}=8,5 Гц, C-1'), 73,96, 73,66 (OCH₂C(CH₃)₃), 73,61 (д, ²J_{C-F}=24,5 Гц, C-3'), 65,05 (C-5'), 50,59, 50,29 (NHCHCH₃), 46,26 (N(CH₂CH₃)₃), 30,91 (OCH₂C(CH₃)₃), 25,36 (OCH₂C(CH₃)₃), 19,75, 19,63 (2×д, ³J_{C-P}=5,4 Гц, NHCHCH₃), 7,84 (N(CH₂CH₃)₃). C₂₄H₃₂ClFN₆O₁₀P₂ требуемая масса m/z 680,94; найденная MS (ES⁺) m/z : 679,19 ([M-H]⁺).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_R=15,83$ мин.

Пример 10. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[фенил(бензоксидиметилглицинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,96 г, 1,64 ммоль), фенил(бензоксидиметилглицинил)фосфорхлоридата (0,60 г, 1,64 ммоль) и ТЕА (0,66 мл, 4,75 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,085 г, 6%).

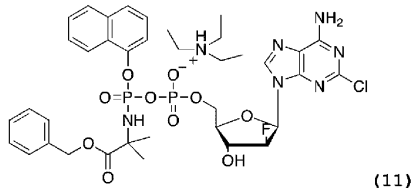
³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -9,79 (д, $J=22,6$ Гц), -9,82 (д, $J=22,6$ Гц), -12,17 (д, $J=21,20$ Гц), -12,20 (д, $J=21,0$ Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,29 (0,5H, с, H-8), 8,27 (0,5H, с, H-8), 7,36-7,26 (9H, м, H-Ar), 7,16-7,13 (1H, м, H-Ar), 6,43 (0,5H, д, $J=1,5$ Гц, H-1'), 6,39 (0,5H, д, $J=1,5$ Гц, H-1'), 5,20-5,17 (0,5H, м, H-2'), 5,15-5,13 (2H, м, OCH₂Ph), 5,11-5,07 (0,5H, м, H-2'), 4,60-4,52 (1H, м, H-3'), 4,26-4,23 (2H, м, H-5'), 4,15-4,11 (1H, м, H-4'), 3,05 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, N(CH₂CH₃)₃), 1,54 (6H, с, NHC(CH₃)₂), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, N(CH₂CH₃)₃).

¹³C ЯМР (125 МГц, CD₃OD): δ_C 174,96 (д, ³J_{C-P}=6,6 Гц, C=O, эфир), 156,69 (C-6), 154,13 (C-2), 151,06 (д, ²J_{C-P}=7,3 Гц, C-Ar), 150,22 (C-4), 140,21 (C-8), 136,04 (C-Ar), 129,15, 128,12, 127,76, 127,68, 124,48, 120,47, 120,43 (CH-Ar), 117,12 (C-5), 95,49 (д, ¹J_{C-F}=192,5 Гц, C-2'), 82,84 (д, ³J_{C-F}=3,6 Гц, C-4'), 82,68 (д, ²J_{C-F}=11,5 Гц, C-1'), 73,59 (д, ²J_{C-F}=11,5 Гц, C-3'), 73,41 (д, ²J_{C-F}=10,5 Гц, C-3'), 66,74 (OCH₂Ph), 64,90 (C-5'), 48,47 (NHC(CH₃)₂), 46,35 (N(CH₂CH₃)₃), 26,14, 26,12 (NHC(CH₃)₂), 9,85 (N(CH₂CH₃)₃). C₂₇H₃₀ClFN₆O₁₀P₂ требуемая масса m/z 714,96; найденная MS (ES⁺) m/z : 713,13 ([M-H]⁺).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_R=14,51$ мин.

Пример 11. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[1-нафтил(бензоксидиметилглицинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,96 г, 1,64 ммоль), 1-нафтил(бензоксидиметилглицинил)фосфорхлоридата (0,68 г, 1,64 ммоль) и ТЕА (0,66 мл, 4,75 ммоль) в виде белого твердого остатка, который дополнительно очищали препаративной ВЭЖХ (0,14 г, 10%).

³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -9,79 (д, $J=22,6$ Гц), -9,82 (д, $J=22,6$ Гц), -12,17 (д, $J=21,20$ Гц), -12,20 (д, $J=21,0$ Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,38-8,34 (2H, м, H-Ar), 8,24 (0,5H, д, ⁵J_{H-F}=2,0 Гц, H-8), 8,22 (0,5H, д, ⁵J_{H-F}=2,0 Гц, H-8), 7,85-7,83 (2H, м, H-Ar), 7,65-7,60 (3H, м, H-Ar), 7,48-7,44 (3H, м, H-Ar), 7,38-7,29 (2H, м, H-Ar), 6,39 (0,5H, т, $J=1,5$ Гц, H-1'), 6,36 (0,5H, т, $J=1,5$ Гц, H-1'), 5,17-5,15 (0,5H, м, H-2'), 5,14-5,07 (2H, м, OCH₂Ph), 5,05-5,02 (0,5H, м, H-2'), 4,57-4,50 (1H, м, H-3'), 4,27-4,24 (2H, м, H-5'), 4,15-4,10 (1H, м, H-4'), 3,05 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, N(CH₂CH₃)₃), 1,90 (6H, с, NHC(CH₃)₂), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, N(CH₂CH₃)₃).

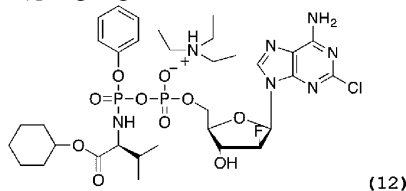
¹³C ЯМР (125 МГц, CD₃OD): δ_C 176,53, 174,95 (2×д, ³J_{C-P}=6,7 Гц, C=O, эфир), 156,64 (C-6), 154,08 (C-2), 150,16, 149,36 (2×д, ³J_{C-P}=7,0 Гц, C-Ar), 146,91, 146,85 (C-4), 142,89 (C-8), 136,23, 135,99, 134,79 (C-Ar), 128,07, 127,70, 127,65, 127,61, 127,16, 126,99, 126,18, 125,83, 125,59, 125,43, 125,06, 124,76, 124,20,

122,57, 122,25, 122,20, 121,44 (CH-Ar), 117,07 (C-5), 115,9 (д, $^4J_{C-P}=3,2$ Гц, CH-Ar), 113,15 (д, $^4J_{C-P}=3,2$ Гц, CH-Ar), 94,98, 94,95 (2×д, $^1J_{C-F}=191,5$ Гц, C-2'), 82,80 (д, $^3J_{C-F}=3,8$ Hz C-4'), 82,68 (д, $^2J_{C-F}=24,5$ Hz C-1'), 73,57, 73,45 (2×д, $^2J_{C-F}=24,5$ Гц, C-3'), 66,69, 66,37 (OCH₂Ph), 64,94 (C-5'), 56,95, 55,87 (NHC(CH₃)₂), 46,28 (N(CH₂CH₃)₃), 26,10 (д, $^3J_{C-P}=4,1$ Гц, NHC(CH₃)₂), 7,86 (N(CH₂CH₃)₃).

C₃₁H₃₂ClFN₆O₁₀P₂ требуемая масса m/z 764,13; найденная MS (ES⁻) m/z: 763,15 ([M-H]⁻).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, один пик для двух диастереоизомеров с t_R=14,85 мин.

Пример 12. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[фенил(циклогексокси-L-валинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,96 г, 1,64 ммоль), фенил(циклогексокси-L-валинил)фосфорхлоридата (0,61 г, 1,64 ммоль) и TEA (0,66 мл, 4,75 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,19 г, 14%).

³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -6,74 (д, J=21,2 Гц), -6,78 (д, J=21,0 Гц), -12,0 (д, J=21,4 Гц).

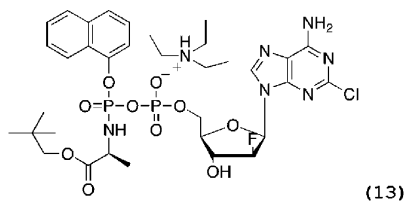
¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,18 (0,5H, д, $^5J_{H-F}=1,0$ Гц, H-8), 8,17 (0,5H, д, $^5J_{H-F}=1,0$ Гц, H-8), 7,22-7,15 (4H, м, H-Ar), 7,01-6,98 (1H, м, H-Ar), 6,34 (0,5H, т, J=1,5 Гц, H-1'), 6,30 (0,5H, т, J=1,5 Гц, H-1'), 5,08-5,06 (0,5H, м, H-2'), 4,97-4,96 (0,5H, м, H-2'), 4,62-4,54 (1H, м, OCH), 4,46 (0,5H, условный т, J=2,0 Гц, H-3'), 4,43 (0,5H, условный т, J=2,0 Гц, H-3'), 4,15-4,12 (2H, м, H-5'), 4,06-4,02 (1H, м, H-4'), 3,68 (0,5H, условный дд, J=10,0 Гц, J=5,5 Гц, NHCHCH(CH₃)₂), 3,64 (0,5H, условный дд, J=10,0 Гц, J=5,5 Гц, NHCHCH(CH₃)₂), 3,05 (6H, кв, J=7,0 Гц, N(CH₂CH₃)₃), 1,91-1,80 (1H, м, NHCHCH(CH₃)₂), 1,67-1,58 (5H, м, CH₂), 1,39-1,37 (1H, м, CH₂), 1,36-1,31 (3H, м, CH₂), 1,31 (9H, т, J=7,5 Гц, N(CH₂CH₃)₃), 0,86-0,78 (6H, м, NHCHCH(CH₃)₂).

¹³C ЯМР (125 МГц, CD₃OD): δ_C 171,98, 171,95 (2×д, $^3J_{C-P}=4,5$ Гц, C=O, эфир), 156,69 (C-6), 154,14 (C-2), 151,02 (д, $^2J_{C-P}=3,8$ Гц, C-Ar), 150,23 (C-4), 142,25 (C-8), 129,16, 128,60, 124,56, 124,47, 120,44 (CH-Ar), 117,13 (C-5), 94,96 (д, $^1J_{C-F}=191,4$ Гц, C-2'), 82,90 (д, $^3J_{C-F}=3,8$ Hz C-4'), 82,81 (д, $^2J_{C-F}=32,5$ Hz C-1'), 73,59, (д, $^2J_{C-F}=24,5$ Гц, C-3'), 73,42 (д, $^2J_{C-F}=16,8$ Гц, C-3'), 62,88 (д, $^2J_{C-P}=7,5$ Гц, C-C-5'), 60,45, 60,20 (NHCHCH(CH₃)₂), 46,42 (N(CH₂CH₃)₃), 32,56, 32,09 (NHCHCH(CH₃)₂), 31,14 (CH₂), 25,00 (CH₂), 23,25 (CH₂), 17,79, 16,76 (NHCHCH(CH₃)₂), 7,82 (N(CH₂CH₃)₃).

C₂₇H₃₆ClFN₆O₁₀P₂ требуемая масса m/z 720,16; найденная MS (ES⁻) m/z: 719,17 ([M-H]⁻).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, один пик для двух диастереоизомеров с t_R=15,73 мин.

Пример 13. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[1-нафтил(неопентокси-L-аланинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,57 г, 0,97 ммоль), 1-нафтил(неопентокси-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,37 г, 0,97 ммоль) и TEA (0,39 мл, 2,86 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,13 г, 16%).

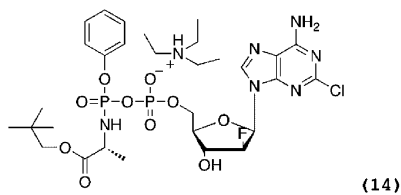
³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,41 (д, J=23,5 Гц), -7,82 (д, J=22,5 Гц), -11,82 (д, J=22,69 Гц), -11,95 (д, J=21,80 Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,36-8,25 (2H, м, H-Ar), 7,85-7,79 (2H, м, H-Ar), 7,68-7,65 (2H, м, H-8), 7,58-7,36 (2H, м, H-Ar), (6H, м, H-Ar), 6,4 (1H, дд, J=16,68 Гц, 4,1 Гц, H-1'), 5,19-5,05 (1H, м, H-2'), 4,58-4,53 (1H, м, H-3'), 4,29-4,25 (2H, м, H-5'), 4,17-4,14 (1,5H, м, H-4' и NHCHCH₃), 4,06-4,01 (0,5H, м, NHCHCH₃), 3,75-3,66 (2H, м, OCH₂C(CH₃)₃), 3,14 (6H, кв, J=7,0 Гц, N(CH₂CH₃)₃), 1,31-1,26 (12H, м, NHCHCH₃, M(CH₂CH₃)₃).

C₂₈H₃₄ClFN₆O₁₀P₂ требуемая масса m/z 730,15; найденная MS (ES⁻) m/z: 729,09 ([M-H]⁻).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB (pH 7,2) /AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, один пик для двух диастереоизомеров с t_R=14,63 мин.

Пример 14. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[фенил(неопентокси-D-аланинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(неопентокси-D-аланинил)фосфорхлоридата (0,49 г, 1,48 ммоль) и ТЕА (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,16 г, 14%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,68 (д, $J=21,0$ Гц), -7,91 (д, $J=21,0$ Гц), -12,04 (д, $J=20,08$ Гц), -12,14 (д, $J=20,08$ Гц).

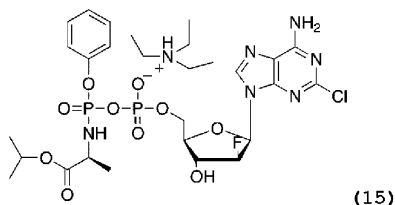
^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,30 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 8,29 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,35-7,27 (4H, м, H-Ar), 7,18-7,14 (1H, м, H-Ar), 6,45 (0,5H, т, $J=3,5$ Гц, H-1'), 6,42 (0,5H, т, $J=3,5$ Гц, H-1'), 5,20 (0,5H, условный т, $J=3,5$ Гц, H-2'), 5,09 (0,5H, условный т, $J=3,5$ Гц, H-2'), 4,61-4,54 (1H, м, H-3'), 4,27-4,23 (2H, м, H-5'), 4,17-4,10 (2H, м, NHCH_2CH_3 , H-4'), 3,80-3,72 (2H, м, $\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3,33 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,42 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCH_2CH_3), 1,36 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCH_2CH_3), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 0,80 (9H, с, $\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δ_{C} 173,56, 173,48 (условный т, $^3J_{\text{C-P}}=7,6$ Гц, C=O, эфир), 156,70 (C-6), 154,13 (C-2), 150,89 (условный т, $^2J_{\text{C-P}}=6,6$ Гц, C-Ar), 150,24 (C-4), 142,68 (C-8), 129,22, 128,67, 124,65, 124,60, 122,34 (CH-Ar), 120,38, 120,36 (2хд, $^3J_{\text{C-P}}=4,6$ Гц, CH-Ar), 117,14 (C-5), 95,0, 94,99 (2хд, $^1J_{\text{C-F}}=191,6$ Гц, C-2'), 82,76 (д, $^3J_{\text{C-F}}=8,25$ Гц, C-4'), 82,68 (д, $^2J_{\text{C-F}}=8,5$ Гц, C-1'), 73,95, 73,92 ($\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 73,58, 73,50 (2хд, $^2J_{\text{C-F}}=24,5$ Гц, C-3'), 64,98, 64,86 (2хд, $^2J_{\text{C-P}}=4,6$ Гц, C-5'), 50,36, 50,27 (2хд, $^3J_{\text{C-P}}=2,4$ Гц, NHCH_2CH_3), 46,36 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 30,92, 30,89 ($\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 25,35, 25,33 ($\text{OCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 19,75, 19,61 (2хд, $^3J_{\text{C-P}}=5,6$ Гц, NHCH_2CH_3), 7,82 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 680,94; найденная MS (ES $^-$) m/z : 679,19 ([M-H] $^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_{\text{R}}=14,23$ мин.

Пример 15. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-фенил(изопропокси-L-аланинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(изопропокси-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,45 г, 1,48 ммоль) и ТЕА (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,126 г, 11%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,62 (д, $J=21,0$ Гц), -7,85 (д, $J=21,0$ Гц), -12,14 (условный т, $J=20,2$ Гц).

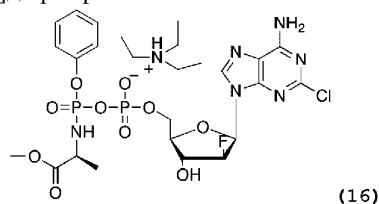
^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,30 (1H, д, $^5J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,35-7,27 (4H, м, H-Ar), 7,18-7,14 (1H, м, H-Ar), 6,45 (0,5H, т, $J=3,5$ Гц, H-1'), 6,42 (0,5H, т, $J=3,5$ Гц, H-1'), 5,22 (0,5H, кв, $J=3,5$ Гц, H-2'), 5,13 (0,5H, кв, $J=3,5$ Гц, H-2'), 4,96-4,94 (1H, м, $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 4,61-4,58 (0,5H, м, H-3'), 4,57-4,55 (0,5H, м, H-3'), 4,29-4,25 (2H, м, H-5'), 4,19-4,15 (1H, м, NHCH_2CH_3), 4,07-4,00 (1H, м, H-4'), 3,33 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,38 (1H, д, $J=7,5$ Гц, NHCH_2CH_3), 1,33 (2H, дд, $J=7,5$ Гц, NHCH_2CH_3), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,20 (6H, условный т, $J=6,0$ Гц, $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δ_{C} 173,10 (д, $^3J_{\text{C-P}}=7,1$ Гц, C=O, эфир), 173,02 (C=O, эфир), 156,73 (C-6), 154,16 (C-2), 150,92, 150,86 (2хд, $^2J_{\text{C-P}}=5,2$ Гц, C-Ar), 150,24 (C-4), 142,55 (C-8), 129,26, 124,64, 124,62 (CH-Ar), 120,34 (д, $^3J_{\text{C-P}}=4,5$ Гц, CH-Ar), 117,16 (C-5), 95,00 (д, $^1J_{\text{C-F}}=191,5$ Гц, C-2'), 82,90 (д, $^3J_{\text{C-F}}=6,5$ Гц, C-4'), 82,80, 82,76 (2хд, $^2J_{\text{C-F}}=10,5$ Гц, C-1'), 73,60, 73,59 (2хд, $^2J_{\text{C-F}}=24,5$ Гц, C-3'), 68,71 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 65,08 (д, $^2J_{\text{C-P}}=4,2$ Гц, C-5'), 50,39, 50,34 (2хд, $^2J_{\text{C-P}}=1,8$ Гц, NHCH_2CH_3), 46,23 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 20,61, 20,54 ($\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$), 19,60, 19,47 (2хд, $^3J_{\text{C-P}}=6,0$ Гц, NHCH_2CH_3), 7,86 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 652,10; найденная MS (ES $^-$) m/z : 651,13 ([M-H] $^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_{\text{R}}=12,32$ мин.

Пример 16. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксис-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-фенил(метокси-L-аланинил)]дифосфата.



(16)

Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксис-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(метокси-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,41 г, 1,48 ммоль) и TEA (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,182 г, 17%).

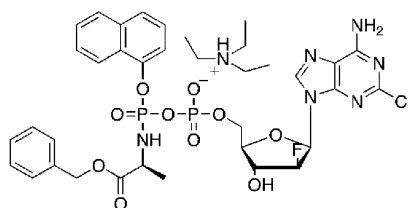
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,73 (д, $J=20,7$ Гц), -7,84 (д, $J=20,8$ Гц), -12,04 (д, $J=21,0$ Гц), -12,11 (д, $J=20,8$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,31 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,5$ Гц, H-8), 8,30 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,35-7,27 (4H, м, H-Ar), 7,18-7,14 (1H, м, H-Ar), 6,44 (0,5H, дд, $J_{\text{H-F}}=16,4$ Гц, $J=3,9$ Гц, H-1'), 6,42 (0,5H, дд, $J_{\text{H-F}}=16,4$ Гц, $J=3,7$ Гц, H-1'), 5,20-5,09 (1H, м, H-2'), 4,68-4,52 (1H, м, H-3'), 4,28-4,24 (2H, м, H-5'), 4,18-4,15 (1H, м, H-4'), 4,12-4,07 (1H, м, NHCHCH_3), 3,66 (1,5H, с, OCH_3), 3,65 (1,5H, с, OCH_3), 3,78 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,37 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,32 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,14 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 724,07; найденная MS (ES^-) m/z : 723,01 ($[\text{M-H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_{\text{R}}=12,24$ мин.

Пример 17. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксис-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-1-нафтил(бензоксис-L-аланинил)]дифосфата.



(17)

Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксис-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), 1-нафтил(бензоксис-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,59 г, 1,48 ммоль) и TEA (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,226 г, 18%).

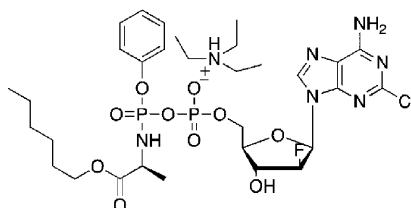
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,26 (д, $J=20,2$ Гц), -7,61 (д, $J=20,2$ Гц), -12,07 (д, $J=20,40$ Гц), -12,27 (д, $J=20,40$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,19-8,17 (2H, м, H-Ar), 8,13 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 8,12 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,72-7,68 (2H, м, H-Ar), 7,54-7,52 (1H, условный д, $J=9,5$ Гц, H-Ar), 7,44-7,40 (4H, м, H-Ar), 7,37-7,35 (1H, м, H-Ar), 6,28 (0,5H, т, $J=4,0$ Гц, H-1'), 6,25 (0,5H, т, $J=4,0$ Гц, H-1'), 5,06-5,02 (0,5H, м, H-2'), 4,95-4,93 (0,5H, м, H-2'), 4,89-4,80 (2H, OCH_2Ph), 4,43-4,43 (0,5H, м, H-3'), 4,41-4,40 (0,5H, м, H-3'), 4,15-4,12 (2H, м, H-5'), 4,09-4,06 (1H, м, NHCHCH_3), 4,03-4,01 (1H, м, H-4'), 3,33 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,23 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,20 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 750,99; найденная MS (ES^-) m/z : 749,19 ($[\text{M-H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_{\text{R}}=14,69$, 14,81 мин.

Пример 18. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксис-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-фенил(гексокси-L-аланинил)]дифосфата.



(18)

Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксис-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), 1-фенил(гексокси-L-

аланинил)фосфорхлоридата (0,51 г, 1,48 ммоль) и TEA (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,235 г, 20%).

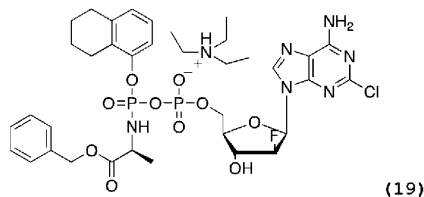
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,55 (д, $J=23,00$ Гц), -7,77 (д, $J=19,40$ Гц), -12,09 (д, $J=19,40$ Гц), -12,19 (д, $J=20,10$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,18 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 8,17 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,23-7,11 (4H, м, H-Ar), 7,08-7,03 (1H, м, H-Ar), 6,33 (0,5H, дд, $J=4,0, 1,5$ Гц, H-1'), 6,29 (0,5H, дд, $J=4,0$ Гц, $J=1,5$ Гц, H-1'), 5,08-5,06 (0,5H, м, H-2'), 4,98-4,96 (0,5H, м, H-2'), 4,47-4,45 (0,5H, м, H-3'), 4,44-4,42 (0,5H, м, H-3'), 4,15-4,11 (2H, м, H-5'), 4,06-4,03 (1H, м, NHCHCH_3), 3,97-3,90 (5H, м, H-4', $2\times\text{CH}_2$, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$), 3,84-3,78 (1H, м, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$), 3,33 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,50-1,43 (4H, м, $2\times\text{CH}_2$, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$), 1,31-1,22 (6H, м, CH_2 , $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$, NHCHCH_3), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 0,81-0,76 (3H, м, $\text{OCH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$).

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 694,97; найденная MS (ES^-) m/z : 693,14 ($[\text{M-H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_{\text{R}}=15,13$ и 15,21 мин.

Пример 19. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-5,6,7,8-тетрагидро-1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]дифосфата.



(19)

Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), 5,6,7,8-тетрагидро-1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,603 г, 1,48 ммоль) и TEA (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,19 г, 15%).

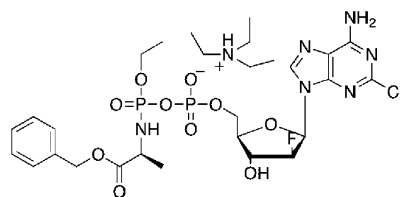
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -7,06 (д, $J=24,0$ Гц), -7,55 (д, $J=21,2$ Гц), -11,24 (д, $J=21,2$ Гц), -11,38 (д, $J=24,0$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,27 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 8,25 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,33-7,30 (3H, м, H-Ar), 7,22-7,18 (2H, м, H-Ar), 7,00-6,93 (2H, м, H-Ar), 6,84 (1H, условный т, $J=6,5$ Гц, H-Ar), 6,72 (1H, условный д, $J=7,5$ Гц, H-Ar), 6,43 (0,5H, дд, $J=4,0$ Гц, $J=2,0$ Гц, H-1'), 6,39 (0,5H, дд, $J=4,0$ Гц, $J=2,0$ Гц, H-1'), 5,19-5,16 (0,5H, м, H-2'), 5,09-5,06 (0,5H, м, H-2'), 5,06-5,03 (2H, м, OCH_2Ph), 4,56-4,49 (1H, м, H-3'), 4,27-4,10 (3H, м, H-5', H-4'), 4,02-3,97 (1H, м, NHCHCH_3), 3,33 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 2,73 (4H, bt, $2\times\text{CH}_2$), 1,75-1,72 (4, м, $2\times\text{CH}_2$), 1,42 (1,5H, д, $J=7,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,38 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, NHCHCH_3), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{30}\text{H}_{34}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 754,15; найденная MS (ES^-) m/z : 753,23 ($[\text{M-H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, $t_{\text{R}}=15,32$ и 15,44 мин.

Пример 20. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-этил(бензоксид-L-аланинил)]дифосфата.



(20)

Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), этил(бензоксид-L-аланинил)фосфорхлоридата (0,45 г, 1,48 ммоль) и TEA (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,218 г, 20%).

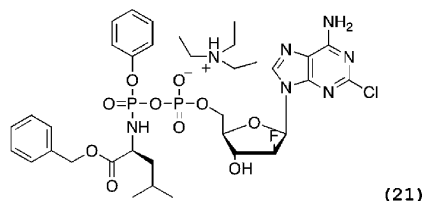
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -2,73 (д, $J=20,2$ Гц), -3,04 (д, $J=20,4$ Гц), -11,96 (д, $J=20,2$ Гц), -12,07 (д, $J=20,04$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,32 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 8,31 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,37-7,27 (5H, м, H-Ar), 6,46 (0,5 H, дд, $J=4,0$ Гц, $J=2,0$ Гц, H-1'), 6,43 (0,5H, дд, $J=4,0$ Гц, $J=2,0$ Гц, H-1'), 5,24-5,22 (0,5H, м, H-2'), 5,20-5,14 (2H, м, OCH_2Ph), 5,13-5,11 (0,5H, м, H-2'), 4,62-4,60 (0,5H, м, H-3'), 4,59-4,57 (0,5H, м, H-3'), 4,29-4,26 (2H, м, H-5'), 4,19-4,17 (2H, м, NHCHCH_3), 4,12-4,04 (3H, м, H-4', OCH_2CH_3), 2,86 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,43 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,42 (1,5H, дд, $J=7,0$ Гц, $J=0,5$ Гц, NHCHCH_3), 1,27-1,23 (3H, м, OCH_2CH_3), 1,19 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 652,89; найденная MS (ES^-) m/z : 651,15 ($[\text{M-H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСN 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_R=14,12$ мин.

Пример 21. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксиг-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-фенил(бензоксиг-L-лейцинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксиг-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(бензоксиг-L-лейцинил)фосфорхлоридата (0,58 г, 1,48 ммоль) и ТЕА (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,30 г, 24%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_P -7,28 (д, J=21,4 Гц), -7,57 (д, J=21,6 Гц), -12,18 (д, J=21,6 Гц).

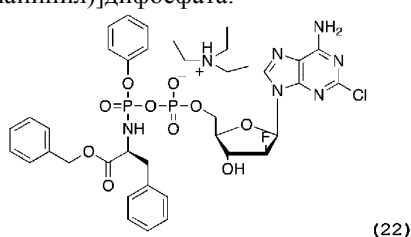
^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_H 8,18 (1H, с, Н-8), 7,19-7,10 (8H, м, Н-Ar), 7,06-6,99 (2H, м, Н-Ar), 6,32 (0,5H, т, J=3,5 Гц, Н-1'), 6,29 (0,5H, т, J=3,5 Гц, Н-1'), 5,10-5,08 (0,5H, м, Н-2'), 4,97-4,88 (2,5H, м, Н-2', OCH_2Ph), 4,46 (0,5H, условный т, J=3,5 Гц, Н-3'), 4,43 (0,5H, условный т, J=3,5 Гц, Н-3'), 4,17-4,13 (2H, м, Н-5'), 4,06-4,04 (1H, м, Н-4'), 3,94-3,88 (1H, м, $\text{NHCHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,33 (6H, кв, J=7,0 Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,13 (9H, т, J=7,5 Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,43-1,37 (3H, м, $\text{NHCHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,75-0,72 (3H, м, $\text{NHCHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,65-0,64 (3H, условный дд, J=14,0 Гц, J=6,0 Гц, $\text{NHCHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δ_C 173,43, 173,22 (2хд, $^3J_{C-P}=3,5$ Гц, C=O, эфир), 156,78, 156,72 (C-6), 154,16 (C-2), 150,92 (д, $^2J_{C-P}=7,0$ Гц, C-Ar), 150,24 (C-4), 135,84, 84, 135,81 (C-8), 129,26, 128,74, 128,26, 128,13, 127,95, 127,90, 127,88, 127,83, 124,68, 124,57, 122,30 (CH-Ar), 120,44 (д, $^3J_{C-P}=4,6$ Гц, CH-Ar), 120,27 (д, $^3J_{C-P}=5,2$ Гц, CH-Ar), 119,98, 119,94 (CH-Ar), 117,17 (C-5), 95,00 (д, $^1J_{C-F}=191,6$ Гц, C-2'), 82,90 (д, $^3J_{C-F}=4,1$ Hz C-4'), 82,74 (д, $^2J_{C-F}=11,0$ Hz C-1'), 73,63, 73,58 (2хд, $^2J_{C-F}=24,5$ Гц, C-3'), 66,43, 66,05 (OCH_2Ph), 65,10 (д, $^2J_{C-P}=5,5$ Гц, C-5'), 53,70 (NHCH), 53,31 (д, $^2J_{C-P}=5,5$ Гц, NHCH), 46,21 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 43,20, 43,00 (2хд, $^3J_{C-P}=7,0$ Гц, NHCHCH_2), 24,13, 24,08 ($\text{NHCHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 21,66, 21,45, 21,07, 20,99 ($\text{NHCHCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 7,83 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса m/z 742,15; найденная MS (ES^-) m/z: 741,18 ($[\text{M}-\text{H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСN 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_R=14,91$ мин.

Пример 22. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксиг-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-фенил(бензоксиг-L-фенилаланинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксиг-2'-фтор- β -D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(бензоксиг-L-фенилаланинил)фосфорхлоридата (0,63 г, 1,48 ммоль) и ТЕА (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,185 г, 14%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_P -7,88 (д, J=20,6 Гц), -7,98 (д, J=20,0 Гц), -12,00 (д, J=21,21 Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_H 8,17 (0,5H, д, $J_{H-F}=2,5$ Гц, Н-8), 8,14 (0,5H, д, $J_{H-F}=2,5$ Гц, Н-8), 7,18-7,08 (10, м, Н-Ar), 6,97-6,87 (5H, м, Н-Ar), 6,30 (0,5 H, дд, J=4,0 Гц, J=1,5 Гц, Н-1'), 6,27 (0,5H, дд, J=4,0 Гц, J=1,5 Гц, Н-1'), 5,08-5,05 (0,5H, м, Н-2'), 4,97-4,95 (0,5H, м, Н-2'), 4,86-4,77 (4H, м, OCH_2Ph , NHCHCH_2Ph), 4,46-4,44 (0,5H, м, Н-3'), 4,43-4,41 (0,5H, м, Н-3'), 4,25-4,17 (1H, м, NHCHCH_2Ph), 4,16-4,12 (2H, м, Н-5'), 4,10-4,05 (1H, м, Н-4'), 3,33 (6H, кв, J=7,0 Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,31 (9H, т, J=7,5 Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

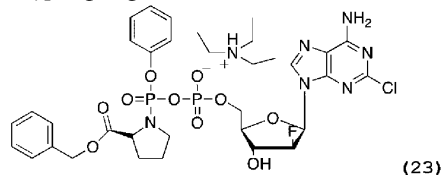
^{13}C ЯМР (125 МГц, CD_3OD): δ_C 173,46 (д, $^3J_{C-P}=4,6$ Гц, C=O, эфир), 172,05 (д, $^3J_{C-P}=4,5$ Гц, C=O, эфир), 156,68 (C-6), 154,13 (C-2), 153,36 (д, $^2J_{C-P}=7,1$ Гц, C-Ar), 150,85, 150,83 (C-4), 150,23 (C-Ar), 136,73, 136,11 (д, $^2J_{C-P}=4,7$ Гц, C-Ar), 135,69 (C-8), 135,52, 135,50 (C-Ar), 129,20 (д, $^3J_{C-P}=3,1$ Гц, CH-Ar), 128,74, 128,09, 128,05 (д, $^3J_{C-P}=2,8$ Гц, CH-Ar), 127,90, 127,84, 127,78, 126,44, 126,25, 124,59, 122,40, 120,38, 120,34, 120,30, 120,26, 120,15, 120,11 (CH-Ar), 117,15 (C-5), 95,01 (д, $^1J_{C-P}=191,0$ Гц, C-2'), 95,00 (д, $^1J_{C-F}=191,0$ Гц, C-2'), 82,84 (д, $^3J_{C-F}=3,8$ Hz C-4'), 82,68 (д, $^2J_{C-F}=32,5$ Hz C-1'), 73,58 (д, $^2J_{C-F}=24,5$ Hz C-3'), 66,45, 66,44 (OCH_2Ph), 66,11 (OCH_2Ph), 65,04 (д, $^2J_{C-P}=4,8$ Гц, C-5'), 56,44 (NHCHCH_2Ph), 56,19

(NHCHCH₂Ph), 46,21 (N(CH₂CH₃)₃), 40,79, 40,74 (CH₂Ph), 9,85 (N(CH₂CH₃)₃).

C₃₂H₃₂ClFN₆O₁₀P₂ требуемая масса m/z 776,13; найденная MS (ES⁺) m/z: 775,17 ([M-H]⁺).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, один пик для двух диастереоизомеров с t_R=24,28 мин.

Пример 23. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[1-фенил(бензоксид-L-пролинил)]дифосфата.



Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(бензоксид-L-пролинил)фосфорхлоридата (0,55 г, 1,48 ммоль) и ТЕА (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,17 г, 14%).

³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -9,05 (д, J=17,6 Гц), -9,72 (д, J=21,6 Гц), -11,75 (д, J=17,6 Гц), -12,12 (д, J=21,6 Гц).

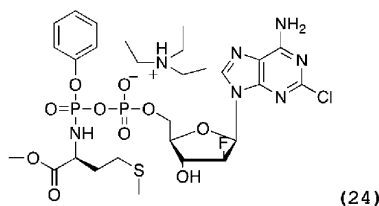
¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,17 (0,5H, д, J_{H-F}=2,5 Гц, H-8), 8,16 (0,5H, д, J_{H-F}=2,5 Гц, H-8), 7,21-7,15 (8H, м, H-Ar), 7,11-7,09 (1H, м, H-Ar), 7,04-7,00 (1H, м, H-Ar), 6,32 (0,5H, д, J=4,0 Гц, H-1'), 6,31 (0,5H, д, J=4,0 Гц, H-1'), 5,08-5,06 (0,5H, м, H-2'), 5,01-4,99 (0,5H, м, H-2'), 4,98-4,91 (2H, м, OCH₂Ph), 4,48-4,45 (1H, м, NCH), 4,43-4,41 (0,5H, м, H-3'), 4,34-4,30 (0,5H, м, H-3'), 4,16-4,09 (2H, м, H-5'), 4,05-4,00 (1H, м, H-4'), 3,46-3,38 (2H, м, NCH₂), 2,21-2,05 (1H, м, 1×H, NCH₂CH₂), 1,85-1,76 (3H, м, 1×H, NCH₂CH₂, 2×H, NCH₂CH₂CH₂), 3,33 (6H, кв, J=7,0 Гц, N(CH₂CH₃)₃), 1,31 (9H, т, J=7,5 Гц, N(CH₂CH₃)₃).

¹³C ЯМР (125 МГц, CD₃OD): δ_C 173,60, 173,31 (C=O, эфир), 156,69 (C-6), 154,14 (C-2), 150,78 (д, ²J_{C-P}=3,8 Гц, C-Ar), 150,22 (C-4), 136,37 (C-8), 136,03, 135,96 (C-Ar), 129,29, 129,23, 128,13, 127,80, 127,76, 127,67, 124,57 (CH-Ar), 120,15 (д, ³J_{C-P}=5,2 Гц, CH-Ar), 119,96 (д, ³J_{C-P}=5,2 Гц, CH-Ar), 117,14 (C-5), 95,02 (д, ¹J_{C-F}=191,7 Гц, C-2'), 94,99 (д, ¹J_{C-F}=191,7 Гц, C-2'), 82,85 (д, ³J_{C-F}=5,6 Гц, C-4'), 82,71 (д, ²J_{C-F}=32,5 Гц, C-1'), 73,59 (д, ²J_{C-F}=24,5 Гц, C-3'), 73,55 (д, ²J_{C-F}=24,5 Гц, C-3'), 66,32, 66,25 (OCH₂Ph), 65,02 (д, ²J_{C-P}=4,0 Гц, C-5'), 64,90 (д, ²J_{C-P}=4,0 Гц, C-5'), 60,72 (²J_{C-P}=7,75 Гц, NCH), 60,35 (²J_{C-P}=7,75 Гц, NCH), 46,31 (N(CH₂CH₃)₃), 30,99 (²J_{C-P}=11,0 Гц, NCH₂), 30,89 (²J_{C-P}=11,0 Гц, NCH₂), 24,84 (³J_{C-P}=9,0 Гц, NCH₂CH₂), 24,40 (³J_{C-P}=9,0 Гц, NCHCH₂), 7,85 (N(CH₂CH₃)₃).

C₂₈H₃₀ClFN₆O₁₀P₂ требуемая масса m/z 726,97; найденная MS (ES⁺) m/z: 725,67 ([M-H]⁺).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, один пик для двух диастереоизомеров с t_R=15,39 мин.

Пример 24. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-О-[1-фенил(метоксид-L-метионил)]дифосфата.



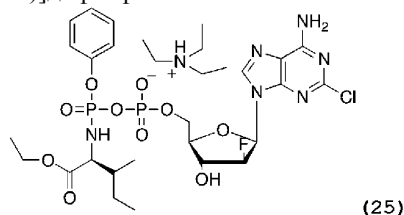
Получали согласно общему способу из ТЕА соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(метоксид-L-метионил)фосфорхлоридата (0,49 г, 1,48 ммоль) и ТЕА (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,25 г, 22%).

³¹P ЯМР (202 МГц, CD₃OD): δ_P -7,41 (д, J=21,33 Гц), -7,69 (д, J=21,6 Гц), -12,29 (д, J=20,6 Гц).

¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ_H 8,19 (0,5H, д, J_{H-F}=2,1 Гц, H-8), 8,18 (0,5H, д, J_{H-F}=2,0 Гц, H-8), 7,21-7,16 (4H, м, H-Ar), 7,09-7,02 (1H, м, H-Ar), 6,32 (0,5H, дд, J_{H-F}=16,6 Гц, J=4,3 Гц, H-1'), 6,31 (0,5H, дд, J_{H-F}=16,6 Гц, J=4,2 Гц, H-1'), 5,02 (0,5H, дд, J_{H-F}=51,9 Гц, J_{H-F}=2,2 Гц, H-2') 5,00 (0,5H, дд, J_{H-F}=51,9 Гц, J_{H-F}=2,2 Гц, H-2'), 4,48-4,43 (1H, м, H-3'), 4,17-4,13 (2H, м, H-5'), 4,08-4,00 (м, 2H, NHCHCH₃, H-4'), 3,56, 3,43 (3H, 2s, OCH₃), 2,80 (6H, кв, J=7,0 Гц, N(CH₂CH₃)₃), 2,42-2,39 (1H, м, CH₃SCH₂CH_{2a}), 2,28-2,24 (1H, м, CH₃SCH₂CH_{2b}), 1,90, 1,86 (3H, 2×s, SCH₃), 1,90-1,71 (2H, м, CH₃SCH₂CH_{2a}). C₂₂H₂₈ClFN₆O₁₀P₂S требуемая масса 684,96; найденная MS (ES⁺) m/z: 683 ([M-H]⁺).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М ТЕАВ/АсСН 90/10-0/100 в течение 30 мин, F=1 мл/мин, λ=254 нм, один пик для двух диастереоизомеров с t_R=12,28 мин.

Пример 25. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-фенил(этокси-L-изолейцинил)]дифосфата.



(25)

Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), фенил(этокси-L-изолейцинил)фосфорхлорида (0,49 г, 1,48 ммоль) и TEA (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,26 г, 23%).

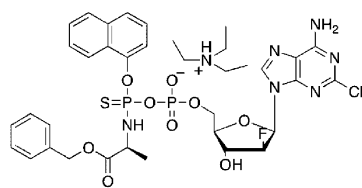
^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} -6,84 (д, $J=21,5$ Гц), -6,99 (д, $J=22,3$ Гц), -12,00 (д, $J=21,6$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,30, (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,4$ Гц, H-8), 8,29 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,3$ Гц, H-8), 7,35-7,23 (4H, м, H-Ar), 7,19-7,13 (1H, м, H-Ar), 6,44 (0,5H, дд, $J_{\text{H-F}}=16,7$ Гц, $J=3,9$ Гц, H-1'), 6,43 (0,5H, дд, $J_{\text{H-F}}=16,7$ Гц, $J_{\text{H-H}}=4,2$ Гц, H-1'), 5,21-5,08 (1H, м, H-2'), 4,59-4,54 (1H, м, H-3'), 4,28-4,25 (2H, м, OCH_2CH_3), 4,18-4,07 (3H, м, H-5', H-4', NHCHCH_3), 3,83 (0,5H, дд, $J=9,8$ Гц, $J=5,7$ Гц, H-5'b), 3,82 (0,5H, дд, $J=9,8$ Гц, $J=5,7$ Гц, H-5'b), 3,33 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,77-1,68 (1H, м, CHCH_3), 1,55-1,42 (1H, м, $\text{CHCH}_{2\text{a}}$), 1,15-1,09 (1H, м, $\text{CHCH}_{2\text{b}}$), 1,27-1,20 (12H, м, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$, OCH_2CH_3), 0,91-0,82 (6H, CHCH_3 , CH_2CH_3).

$\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{ClFN}_6\text{O}_{10}\text{P}_2$ требуемая масса 680,14; найденная MS (ES^-) m/z : 680,18 ($[\text{M-H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_{\text{R}}=13,57$ мин.

Пример 26. Триэтиламмониевая соль 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-O-[1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)]фосфортиолфосфата.



(26)

Получали согласно общему способу из TEA соли 2-хлор-9-(2'-дезоксид-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденин-5'-монофосфата (0,86 г, 1,48 ммоль), 1-нафтил(бензоксид-L-аланинил)фосфортиолхлорида (0,62 г, 1,48 ммоль) и TEA (0,59 мл, 4,25 ммоль) в виде белого твердого остатка (0,054 г, 4%).

^{31}P ЯМР (202 МГц, CD_3OD): δ_{P} 55,05 (д, $J=28,5$ Гц), 53,71 (д, $J=28,5$ Гц), -12,24 (уш д, $J=28,7$ Гц).

^1H ЯМР (500 МГц, CD_3OD): δ_{H} 8,37-8,34 (1H, м, H-Ar), 8,28 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 8,26 (0,5H, д, $J_{\text{H-F}}=2,0$ Гц, H-8), 7,85-7,82 (1H, м, H-Ar), 7,66-7,64 (2H, м, H-Ar), 7,50-7,43 (2H, м, H-Ar), 7,38-7,19 (5H, м, H-Ar), 6,42 (0,5H, т, $J=4,0$ Гц, H-1'), 6,39 (0,5H, т, $J=4,0$ Гц, H-1'), 5,19-5,16 (1H, м, H-2'), 5,11-5,02 (2H, м, OCH_2Ph), 4,60-4,57 (0,5H, м, H-3'), 4,56-4,54 (0,5H, м, H-3'), 4,44-4,28 (3H, м, H-5', NHCHCH_3), 4,20-4,17 (1H, м, H-4'), 3,33 (6H, кв, $J=7,0$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$), 1,47-1,41 (3H, м, NHCHCH_3), 1,31 (9H, т, $J=7,5$ Гц, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_3$).

$\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{ClFN}_6\text{O}_9\text{P}_2\text{S}$ требуемая масса m/z 767,06; найденная MS (ES^-) m/z 766,12 ($[\text{M-H}]^-$).

Обращено-фазовая ВЭЖХ, элюируя 0,1 М TEAB/AcCN 90/10-0/100 в течение 30 мин, $F=1$ мл/мин, $\lambda=254$ нм, один пик для двух диастереоизомеров с $t_{\text{R}}=16,39$ мин.

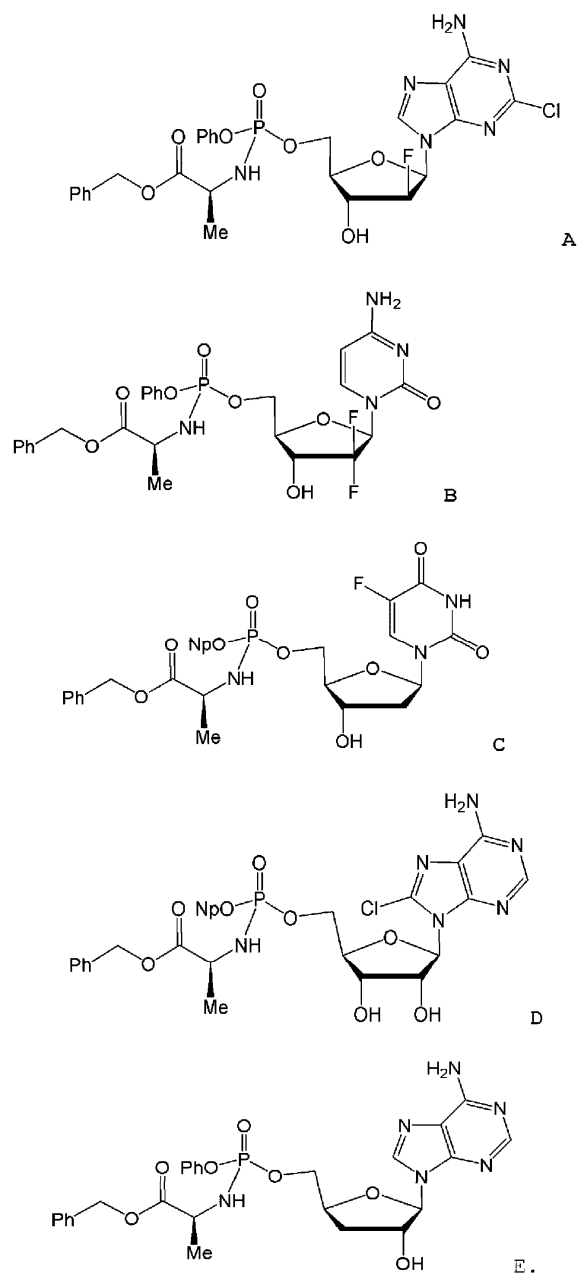
Пример 27. In vitro анализы цитотоксичности.

Поднабор соединений настоящего изобретения тестировали на их цитотоксическую активность в наборе различных солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований, применяя следующий анализ.

Анализ солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований.

In vitro анализ на жизнеспособность проводили для оценки эффектов соединений на выживаемость клеток в отобранных клеточных линиях в течение 72 ч, применяя CellTiterGlo (CTG, Promega-G7573) анализ. Тесты проводили в двух экземплярах с обработкой соединениями в 9 точках, 3,16 кратным титрованием в 96 луночных планшетах в течение ~72 ч. Начальные концентрации соединений составляли 198 мкМ. Проводили анализ жизнеспособности клеток, применяя CellTiterGlo в 96-луночном планшете. Обработка соединениями 72 ч, стандартные условия роста, в двух экземплярах. Соединения растворяли до 40 мМ со 100% размораживанием. Соединения серийно разводили в 3,16 раза в разморозенном ДМСО и нагревали до 37°C перед растворением в среде (2+200 мкл). После того, как соединения были растворены в среде, среды, содержащие соединения, нагревали до 37°C в инкубаторе, а затем соединения в среде добавляли в планшеты для клеток (50+50 мкл) в двух экземплярах. Конечные концентрации со-

единений составляли от 198 мкМ до 19,8 нМ. Растворимость всех соединений проверяли и снова записывали, затем планшеты немедленно переносили в CO₂ инкубатор для культур тканей и инкубировали в течение 3 дней. Конечная концентрация DMSO составляла 0,5%. Исходный нуклеозид в каждом случае тестировали в качестве вещества сравнения, поскольку он представлял собой примерный ProTide. Лекарственные средства класса ProTide, которые тестировали, были следующими:



Следующие клеточные линии анализировали и показаны в табл. 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	NL-60	Промиелоцитарная лейкемия
RL	Неходжкинская лимфома	MV4-11	бифенотипическая миеломонцитарная лейкемия
RPMI-8226	множественная миелома человека	HepG2	Гепатоклеточная карцинома
K562	Хроническая миелогенная лейкемия	HT29	аденокарцинома толстой кишки
OVCAR-3	Аденокарцинома яичника	Mia-Pa-Ca-2	карцинома поджелудочной железы
KG-1	Острая миелоцитарная лейкемия		

Результаты скрининга представлены в табл. 2-4.

В табл. 3, А представляет собой EC_{50} более чем 0,2 мкМ; В представляет собой EC_{50} больше чем 0,2 мкМ, но меньше чем 2 мкМ; С представляет собой EC_{50} больше чем 2 мкМ, но меньше чем 5 мкМ; D представляет собой EC_{50} больше чем 5 мкМ, но меньше чем 10 мкМ; и Е представляет собой EC_{50} больше чем 10 мкМ. Отсутствие записи означает, что скрининг указанного соединения против указанной клеточной линии не проводился.

В табл. 4, А представляет собой EC_{50} более чем 0,2 мкМ; В представляет собой EC_{50} больше чем 0,2 мкМ, но меньше чем 1 мкМ; С представляет собой EC_{50} больше чем 1 мкМ, но меньше чем 5 мкМ; D представляет собой EC_{50} больше чем 5 мкМ, но меньше чем 10 мкМ; и Е представляет собой EC_{50} больше чем 10 мкМ. Жирные буквы представляют собой EC_{50} меньше чем EC_{50} у примерного ProTide А.

В табл. 2-4, "Ab EC_{50} " относится к абсолютной EC_{50} и "максимальное ингибирование" относится к ингибированию в процентах, достигнутому при наибольшей тестируемой концентрации.

Таблица 2

	Mia-Pa-Ca-2	HT29	HepG2	OVCAR 3	MCF-7
соединение	Ab EC_{50} (мкМ) Максимальное ингибирование (%)	Ab EC_{50} (мкМ) Максимальное ингибирование (%)	Ab EC_{50} (мкМ) Максимальное ингибирование (%)	Ab EC_{50} (мкМ) Максимальное ингибирование (%)	Ab EC_{50} (мкМ) Максимальное ингибирование (%)
Гемцит	0,03 79	0,22 65	28,0 54	>198 44	0,011 53
абин					
8	0,07 79	0,48 62	83,13 52	>198 48,5	0,07 52
В	0,53 82	8,55 62	21,33 57	>198 33,5	2,71 54
FUDR	0,35 90	0,22 82	84,02 61	2,32 66	7,23 73
4	0,11 67	0,25 77	>198 48	2,81 67,5	15,80 66
С	1,01 89	1,91 81	70,60 65	- -	27,25 89
8-Cl-					
Ааденоз	0,42 85	1,96 73	- -	- -	1,83 85,7
ин					
5	0,43 87,6	1,41 76,5	- -	- -	1,69 88
D	1,97 99,7	3,82 94	- -	- -	4,30 99,6
кордице	84,73 88	32,74 87	- -	- -	- -
пин					
7	3,32 98,90	7,79 79	- -	- -	- -
6	40,89 95,7	24,34 82	- -	- -	- -
Е	7,92 98	10,75 97	- -	- -	- -

	CCRF-CEM		MOLT-4		K562		HL-60		RL		RPMI-8226	
соединение	Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) Top Inh (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)	
Гемитабин	0,02	101	0,004	88	-	-	-	-	-	-	-	-
8	0,04	99,9	0,009	84	>198	29	0,08	98	0,20	66,5	-	-
B	-	-	0,24	76,4	-	-	-	-	-	-	-	-
FUDR	0,04	91,9	-	-	-	-	-	-	-	-	0,11	99
4	0,03	97,1	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	95
C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8-Cl-Азид	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Кордицепин	-	-	100,6	76,5	117,5	94	117,5	56	>19	16,6	>19	17
7	-	-	5	5	1	8	8	8	11,10	93	1,60	98
6	-	-	25,30	90	9,16	94	6,97	100	88,81	72	-	-
E	-	-	14,19	95	52,28	81	62,50	80	18,29	90,5	19,89	97,8
	-	-	5,23	96	10,95	87	31,13	97				

Таблица 3

	HT29		HepG2		OVCAR 3		MCF-7	
соединение	Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)		Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)	
Клофарабин	B	64	C	64	E	48	B	55
1	B	66	-	-	E	-	B	59
2	B	62	-	-	E	48	B	54
3	B	61	C	53	E	49	C	59
A	C	94	-	-	-	-	D	99,6
	CCRF-CEM	MOLT-4	K562	HL-60	RL	RPMI-8226		

соединение	Ab EC ₅₀ (мкМ) Максимальное ингибирование (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)	Ab EC ₅₀ (мкМ) максимальное ингибирование (%)
Клофарабин	A 98,7	A 84,1	E 23	A 97	B 77	D 89
1	A 98,7	A 82,7	E 24	A 97	B 70	D 91
2	A 98,7	A 98	E 29	A 98	B 65	D 92
3	A 99,6	A 96	E 24	A 97	B 63	D 91,6
A	A 99,4	B 93	E 32	B 97	C 99,8	C 97

Таблица 4

	HT29	HerG2	MCF-7	MOLT-4
соединение	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)
Клофарабин	B 68	C 57	B 54	A 94
A	C 86	D 99	D 99	B 100
9	B 70	B 53	- 45	A 92
10	B 70	C 55	E 51	A 93
11	B 69	C 58	E 57	A 91
12	0,37 71	0,29 54	- 44	0,04 91
13	B 68	- 49	- 49	A 89
14	B 71	B 52	- 48	A 95
15	0,33 69	0,37 51	- 47	0,03 90
16	B 71	B 53	- 47	A 97
17	B 69	B 52	- 46	A 88
18	B 66	B 53	- 44	A 88
19	B 68	B 51	- 47	A 90
20	B 69	B 54	- 48	A 89
21	B 69	B 53	- 49	A 90
22	B 69	- 47	- 50	A 89
23	B 68	C 51	- 48	A 89
24	B 70	C 54	- 49	A 88
25	B 67	- 49	- 43	A 86
26	B 64	- 49	- 44	A 84
	OVCAR 3	CCRF-CEM	K 562	HL-60
соединение	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)	Максимальное ингибирование (%) Ab EC ₅₀ (мкМ)

	е %		иби ров ани е %		е %		е %		
Клофарабин	Е	42	А	99	Е	32	А	97	
А	Е	94	А	99	Е	85	В	97	
9	Е	43	А	99	Е	40	А	96	
10	Е	42	А	99	Е	37	А	96	
11	Е	70	А	99	Е	50	А	96	
12	>198	41	<0,02	99	>198	40	0,07	96	
13	Е	80	А	99	Е	44	А	96	
14	Е	43	А	99	Е	36	А	96	
15	>198	41	<0,02	99	>198	36	0,06	96	
16	Е	44	А	99	Е	33	А	96	
17	Е	47	А	99	Е	37	А	96	
18	Е	47	А	99	Е	40	А	96	
19	Е	51	А	99	Е	37	А	95	
20	Е	49	А	99	Е	35	А	96	
21	Е	47	А	99	Е	32	А	96	
22	Е	73	А	99	Е	62	А	95	
23	Е	63	А	99	Е	35	А	96	
24	Е	67	А	99	Е	49	А	95	
25	Е	24	А	99	Е	33	А	95	
26	Е	62	А	99	Е	69	А	95	
	KG-1			RL		RPMI-8226			
соединение	Максимальное			Максимальное		Максимальное			
	Ab EC ₅₀ (мкМ)	ингибирование %		Ab EC ₅₀ (мкМ)	ингибирование %		Ab EC ₅₀ (мкМ)	ингибирование %	
Клофарабин	А	93		В	61		Е	80	
А	В	93		С	90		С	94	
9	А	92		В	53		Е	81	
10	А	92		-	48		Е	80	
11	А	92		-	47		Е	81	
12	0,14	91		-	47		39,55	79	
13	А	93		-	48		Е	88	
14	А	93		-	49		Е	78	
15	0,09	92		-	49		30,28	80	
16	А	93		-	49		Е	84	
17	А	92		-	48		Е	82	
18	А	91		-	48		Е	84	
19	А	92		В	57		Е	79	
20	А	92		В	69		Е	80	
21	А	92		С	70		Е	81	
22	А	92		-	42		С	86	
23	А	93		-	39		Е	85	
24	А	91		-	39		Е	86	
25	А	91		-	44		С	83	
26	А	91		Е	56		С	93	

Как можно видеть из табл. 3 и 4, определенные соединения настоящего изобретения были более активными, чем ProTide А относительно ряда различных линий раковых клеток.

Пример 28. Метаболическая стабильность.

Анализ проводили согласно опубликованному способу (Kuhnz, W.; Gieschen, H. DrugMetab. Dispos. 1998, 26, 1120-1127).

Объединенные криоконсервированные гепатоциты размораживали, промывали и суспендировали в буфере Кребса-Хенселейта (рН 7,3). Реакцию инициировали добавлением испытуемого соединения (1

мкМ конечной концентрации) в клеточную суспензию и инкубировали в конечном объеме 100 мкл в плоскодонном 96-луночном планшете в течение 0 и 120 мин, соответственно, при 37°C/5% CO₂. Реакцию останавливали добавлением 100 мкл ацетонитрила в инкубационную смесь. Затем, образцы осторожно и кратко перемешивали на шейкере для планшетов, полностью переносили в 0,8 мл 96-луночный планшет с V-образным дном и центрифугировали при 2500 g в течение 15 мин при комнатной температуре. Каждый супернатант (150 мкл) переносили в чистую кассетную пробирку с последующим анализом ВЭЖХ-МС/МС на трипроквартупольной системе Thermo Electron.

Для сравнения, исходный нуклеозид и соответствующий ProTide тестировали в том же анализе.

Результаты показаны в табл. 5 и 6.

Таблица 5

соединение	Человеческие гепатоциты средний период полужизни (мин)
D	53
5	18
8-Cl-Аденозин	>120
B	139
8	27
Гемцитабин	-
C	24
4	15
FUDR	69
E	90
7	27
Кордицепин	48

Таблица 6

соединение	Человеческие гепатоциты средний период полужизни (мин)
A	24
1	В диапазоне 20-100
2	В диапазоне 20-100
3	В диапазоне 20-100
Клофарабин	>120

Пример 29. Оценка клофарабина и отобранных дифосфатфосфорамидатов клофарабина в модели KG1a клеточной линии острой миелоидной лейкемии (ОМЛ).

Резюме.

Клофарабин и примеры 1 и 2 выбирали для анализа, определяя:

(1) обладают ли соединения настоящего изобретения повышенной активностью по сравнению с исходным соединением и

(2) направлены ли соединения настоящего изобретения предпочтительно на лейкемические стволовые клетки (LSCs).

Для того чтобы установить это, применяли клеточную линию острой миелоидной лейкемии, KG1a, поскольку она имеет незначительный компартмент, подобный компартменту стволовых клеток, с отчетливым иммунофенотипом (Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺). Соединения оценивали в расширенном диапазоне доз. Кроме того, эффекты соединений на компартмент стволовых клеток оценивали во всем диапазоне доз. Средняя LD₅₀ для клофарабина (концентрация лекарственного средства, требуемая для уничтожения 50% клеток) составляла 1,69×10⁻⁸ М. Пример 1 показал аналогичную среднюю величину LD₅₀ (1,37×10⁻⁸ М), тогда как пример 2 показал значительно увеличенную среднюю величину LD₅₀ (4,38×10⁻⁸ М и 7,10×10⁻⁸ М соответственно).

В условиях нормоксии, LSC (Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺) компартмент составлял ~3,5% суммарной клеточной линии. Однако в условиях гипоксии (1 и 5% кислорода) доля LSC показала зависимость от времени увеличение (вплоть до 23,7%). Более того, это полностью обращалось, когда клеточная линия была переведена обратно в нормоксические условия. Не было значимого различия в доле LSC в культурах между 1 и 5% кислорода. При рассмотрении относительной активности соединений в условиях нормоксии и гипоксии (5% кислорода), клофарабин показал значительное увеличение среднего значения LD₅₀ в условиях гипоксии (1,69×10⁻⁸ М-5,31×10⁻⁸ М; P=0,01). Напротив, пример 1 не показал значительной разницы в средних значениях LD₅₀.

Цели.

1. Получить полную кривую зависимости реакции от цитотоксической дозы для серии отобранных соединений и их соответствующего исходного нуклеозида в KG1a клетках.

2. Установить эффекты тестируемых соединений на LSC компартмент во всем диапазоне применяемых концентраций.

3. Сравнить эффекты тестируемых соединений в условиях гипоксии (1 и 5% кислород).

4. Изучить персистенцию γ H2A.X очага в LSC клетках и клетках всей опухоли после обработки клофарабином и тестируемыми соединениями в условиях гипоксии.

Материалы и способы.

Условия для KG1a клеточной культуры.

Клеточную линию KG1a острой миелоидной лейкемии (ОМЛ) поддерживали в RPMI среде (Invitrogen, Paisley, UK) дополненной 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 20% фетальной бычьей сывороткой. Затем, клетки аликвотировали (10^5 клеток/100 мкл) в 96-луночные планшеты и инкубировали при 37°C в увлажненной нормоксической (20% кислорода) или гипоксической (1 или 5% кислорода) атмосфере в течение 48 ч в присутствии клофарабина или фосфорамидатов клофарабиндифосфата настоящего изобретения (1×10^{-10} М- 1×10^{-6} М). Кроме того, получали контрольные культуры, к которым не добавляли ни одного лекарственного средства. Затем, клетки собирали центрифугированием и анализировали проточной цитометрией, применяя Annexin V анализ.

Измерение *in vitro* апоптоза.

Культивируемые клетки собирали центрифугированием, и затем суспендировали в 195 мкл богатого кальцием буфера. Впоследствии 5 мкл Annexin V (Caltag Medsystems, Botolph Claydon, UK) добавляли к клеточной суспензии, и клетки инкубировали в темноте в течение 10 мин перед отмывкой. Наконец, клетки суспендировали в 190 мкл богатого кальцием буфера вместе с 10 мкл йодида пропидия. Апоптоз оценивали с помощью двухцветной иммунофлуоресцентной проточной цитометрии, как описано ранее. Затем, значения LD₅₀ (доза, необходимая для уничтожения 50% клеток в культуре) рассчитывали для каждого нуклеозидного аналога и фосфорамидата дифосфата.

Иммунофенотипическая идентификация компартмента стволовых клеток лейкемии.

KG1a клетки выращивали в течение 48 ч в присутствии широкого диапазона концентраций каждого нуклеозидного аналога и их соответствующего фосфорамидата дифосфата. Затем, клетки собирали и метили коктейлем анти-линейных антител (PE-су7), анти-CD34 (FITC), анти-VD38 (PE) и анти-CD123 (PERCP су5). Затем, субпопуляцию, экспрессирующую фенотип лейкемических стволовых клеток (LSC), идентифицировали и выражали как процент всех жизнеспособных клеток, оставшихся в культуре. Затем, процент оставшихся стволовых клеток наносили на график зависимости доза-эффект, и эффекты фосфорамидата дифосфата сравнивали с исходными нуклеозидами.

Клеточный сортинг.

KG1a клетки выращивали в условиях гипоксии в течение 7 дней для получения 10^7 клеток и повышали процент клеток, экспрессирующих LSC фенотип. Затем, Lin⁻/CD34⁻/CD38⁻/CD123⁺ LSC и Lin⁻/CD34⁻/CD38⁻/CD123⁺ клетки "объемной" опухоли очищали высокоскоростным клеточным сортированием, применяя FACS Melody клеточный сортер (Becton Dickinson) и помещали обратно в гипоксические условия для клеточных культур перед добавлением клофарабина или фосфорамидатов дифосфата клофарабин.

Анализ на фосфорилирование γ H2A.X.

Фосфорилирование гистоновидного варианта γ H2A.X происходит в виде быстрого ответа на разрывы двухцепочечной ДНК. Набор для анализа фосфорилирования γ H2A.X (проточная цитометрия) представляет собой анализ на основе клеток, отформатированный для проточной цитометрической детекции уровней фосфорилированного гистона γ H2A.X (Merck, UK). Клетки LSC и "объемной опухоли" культивировали в 96-луночных планшетах в присутствии клофарабина или фосфорамидатов дифосфата клофарабина. После 2 ч воздействия лекарственного средства клетки собирали центрифугированием, и затем фиксировали и делали проницаемыми для подготовки к окрашиванию и обнаружению. Гистон γ H2A.X, фосфорилированный по серину 139, обнаруживали добавлением анти-фосфо-гистона γ H2A.X, конъюгированного с APC. Затем, клетки прогоняли через проточный цитометр для количественного определения числа клеток, окрашенных положительно в отношении фосфорилированного гистона γ H2A.X.

Статистический анализ.

Данные, полученные в данных экспериментах, оценивали, применяя однофакторный дисперсионный анализ. Все данные подтверждали как гауссиан или гауссовское приближение, применяя универсальный критерий K2. Значения LD₅₀ рассчитывали по нелинейной регрессии и линии наилучшего соответствия сигмоидальным кривым доза-эффект. Все статистические анализы проводили, применяя программное обеспечение Graphpad Prism 6.0 (Graphpad Software Inc., San Diego, CA).

Результаты.

Анализ цитотоксичности *in vitro*.

Чувствительность к лекарственным средствам *in vitro* KG1a клеток оценивали, применяя тест с Annexin V/йодидом пропидия. Сигмоидальные кривые доза-эффект для каждого тестируемого соединения показаны на фиг. 1А-С. Результаты суммированы в табл. 7.

Таблица 7

соединение	среднее LD ₅₀ (нМ)
Клофарабин	16,9
Пример 1	13,7
Пример 2	71,0

Клофарабин и соединения настоящего изобретения показали активность в наномолярном диапазоне; клофарабин и пример 1 имели аналогичные LD₅₀ величины, причем пример 1 является слегка более активным.

Фракция KG1a клеток, экспрессирующая LSC фенотип, модулируется гипоксией.

KG1a клетки выращивали в условиях нормоксии и гипоксии и LSC фенотип отслеживали с течением времени. В условиях нормоксии, LSC фенотип стабильно поддерживался в приблизительно 3,5% клеток в культуре. Напротив, в условиях гипоксии, доля клеток в культуре, экспрессирующая LSC фенотип, повышалась зависящим от времени способом (фиг. 3A). Когда клетки затем переносили обратно в нормоксичные условия культивирования, доля клеток, экспрессирующих LSC фенотип, снова возвращалась к ~3,5% зависящим от времени способом (фиг. 3B).

Сравнение клофарабина и соединений настоящего изобретения в условиях нормоксии и гипоксии.

Учитывая наблюдаемое увеличение фенотипа LSC в условиях гипоксии, относительную активность клофарабина и соединений оценивали в KG1a клетках, культивируемых в нормоксических и гипоксических (5% O₂) условиях. Фиг. 4 показывает наложенные сигмоидальные кривые доза-эффект для клофарабина и соединений настоящего изобретения. Результаты суммированы в табл. 8.

соединение	Нормоксия		Гипоксия		соотношение нормоксия/гипоксия
	средняя (нМ)	LD ₅₀	средняя (нМ)	LD ₅₀	
Клофарабин	16,9		53,1		31,8
Пример 1	13,7		16,3		84,0
Пример 2	71,0		95,0		74,7

Как видно, клофарабин показал значительное снижение активности при применении на клетках, культивируемых в условиях гипоксии. Это снижение активности не наблюдалось, когда примеры 1 и 2 применяли в тех же условиях гипоксии.

Клофарабин вызывает значительно меньшее повреждение ДНК в LSC, чем в клетках объемной опухоли в условиях гипоксии.

В попытке понять, почему клетки, обработанные клофарабином, были менее чувствительны к действию лекарственного средства в условиях гипоксии, клетки выращивали в условиях гипоксии, и затем фракции LSC и объемные опухоли очищали, применяя высокоскоростной сортир клеток. Затем, очищенные клетки подвергали воздействию лекарственного средства в течение 2 ч, и количество поврежденных ДНК определяли количественно, применяя анализ фосфорилирования γ H2A.X. Фиг. 5 показывает, что уровень повреждения ДНК в LSC был значительно ниже, чем в клетках объемной опухоли после обработки клофарабином. Напротив, примеры 1 и 2 вызывали одинаковые уровни повреждения ДНК как в LSC, так и в клетках объемной опухоли.

1. Что касается направленного воздействия на стволовые клетки, то все из испытанных соединений показали наличие направленного воздействия на стволовые клетки при концентрациях выше 10⁻⁸ М. Пример 1 показал тенденцию к повышению селективности в отношении Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺ LSC.

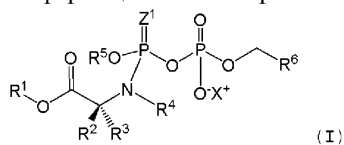
2. Было показано, что фенотип LSC индуцируется в условиях гипоксии, и это обращалось обратно, когда клетки вводили в нормоксические условия культивирования. Динамика изменений фракции LSC предполагает пластичность в фенотипе, а не избирательное расширение/сокращение в фиксированной субпопуляции LSC.

3. Клофарабин показал значительное снижение активности при применении на клетках, культивируемых в условиях гипоксии. Данное снижение активности не наблюдалось, когда примеры 1 и 2 применяли в тех же условиях гипоксии. Многие виды рака существуют в гипоксическом состоянии в организме человека.

Одним из объяснений пониженной активности клофарабина в условиях гипоксии является то, что в этих условиях наблюдается значительное расширение фракции LSC, и LSC показали значительно меньшее повреждение ДНК, что измеряется фосфорилированием γ H2A.X после кратковременного воздействия клофарабина. Напротив, примеры 1 и 2 индуцировали одинаковые уровни повреждения ДНК в клетках объемной опухоли и LSC при тех же условиях.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

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



в которой R^1 независимо при каждом появлении выбран из C_1 - C_8 -алкила, C_0 - C_4 -алкилен- C_3 - C_8 -циклоалкила и C_0 - C_4 -алкиленарила;

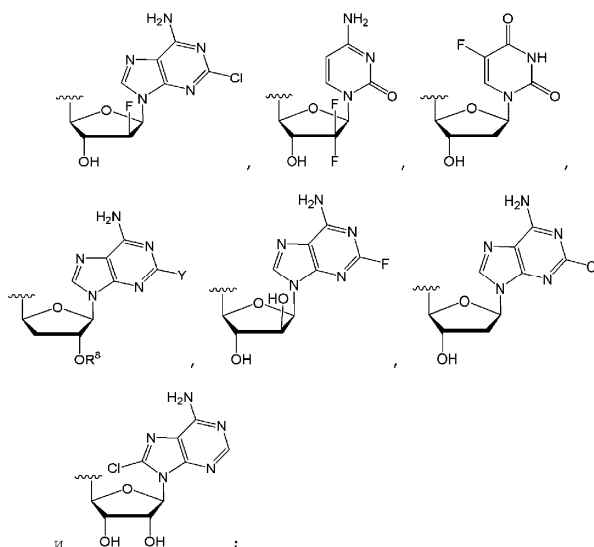
каждый R^2 и R^3 независимо при каждом появлении выбран из H, C_1 - C_6 -алкила и C_1 - C_3 -алкилен- R^7 ;

R^4 независимо при каждом появлении представляет собой H; или

R^4 , группа, выбранная из R^2 и R^3 , и атомы, с которыми они соединены, могут образовывать 3-6-членную гетероциклоалкильную группу, содержащую 1 или 2 гетероатома, независимо выбранных из O, S и N;

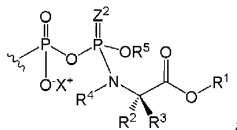
R^5 независимо при каждом появлении выбран из арила и C_1 - C_8 -алкила, причем арил необязательно конденсирован с C_6 - C_8 -циклоалкилом;

R^6 независимо выбран из



R^7 независимо при каждом появлении выбран из арила и SR^a ;

R^8 независимо выбран из H и



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

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

X^+ независимо при каждом появлении представляет собой фармацевтически приемлемый катион металла или катион аммония;

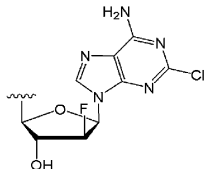
где любая арильная группа представляет собой или фенил или нафтил;

где когда любой из R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 или R^7 представляет собой алкил, циклоалкил, гетероциклоалкил или арил или гетероарил, то алкильная, циклоалкильная, гетероциклоалкильная, арильная или гетероарильная группы необязательно замещены 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;

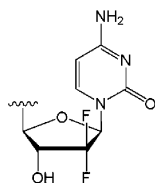
где R^a независимо при каждом появлении выбран из H и C_1 - C_4 -алкила и

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

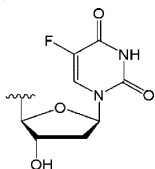
2. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



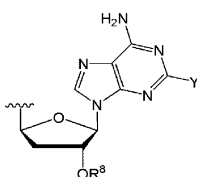
3. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



4. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



5. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



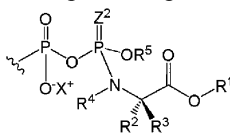
где Y и R^8 имеют значения, указанные в п.1.

6. Соединение по п.5, в котором Y представляет собой H.

7. Соединение по п.5, в котором Y представляет собой F.

8. Соединение по любому из пп.5-7, в котором R^8 представляет собой H.

9. Соединение по любому из пп.5-7, в котором R^8 представляет собой

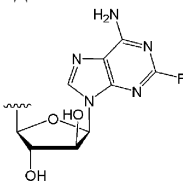


где R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , Z^2 и X^+ имеют значения, указанные в п.1.

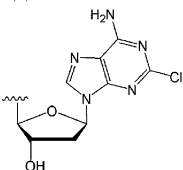
10. Соединение по п.9, в котором Z^2 представляет собой O.

11. Соединение по п.9, в котором Z^2 представляет собой S.

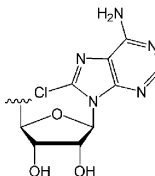
12. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



13. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



14. Соединение по п.1, в котором R^6 представляет собой



15. Соединение по любому из пп.1-14, в котором R^1 выбран из C_5 - C_7 -циклоалкила, C_1 - C_8 -алкила и бензила.

16. Соединение по п.15, в котором R^1 представляет собой бензил.

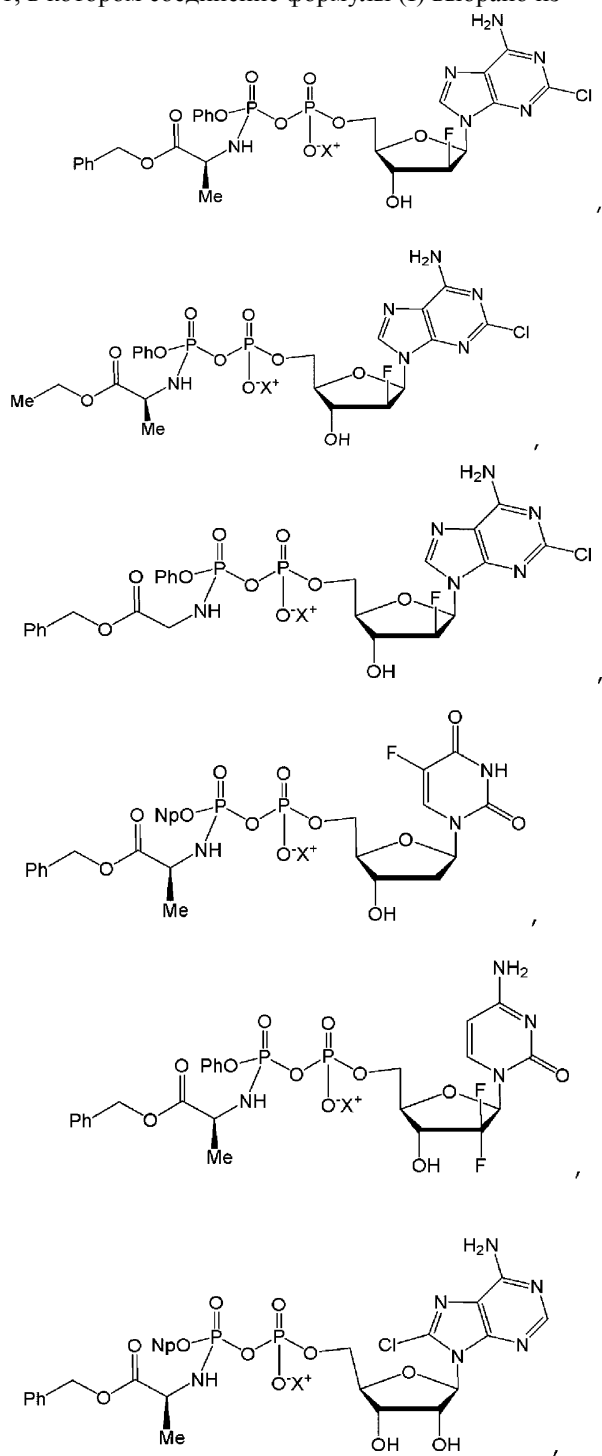
17. Соединение по п.15, в котором R^1 представляет собой C_1 - C_8 -алкил, например этил.

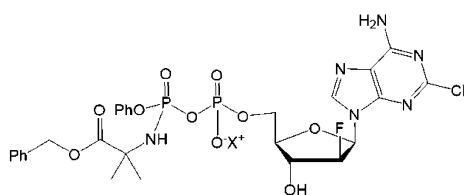
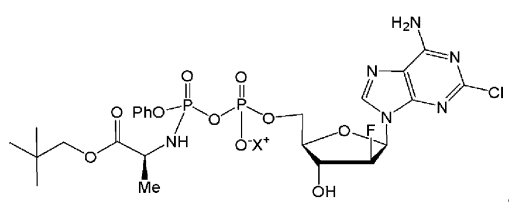
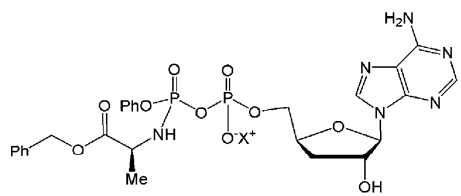
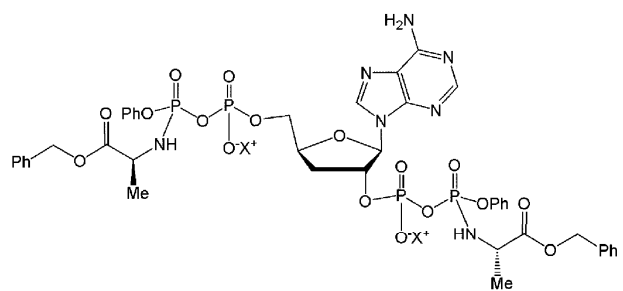
18. Соединение по любому из пп.1-17, в котором R^3 представляет собой H.

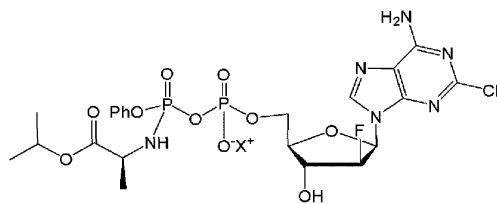
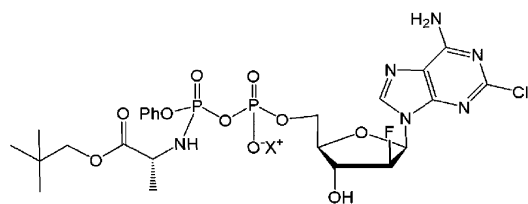
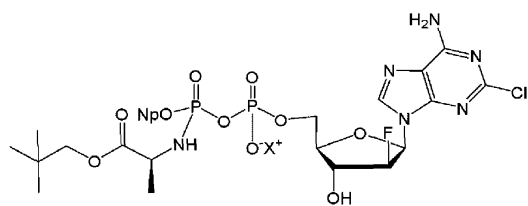
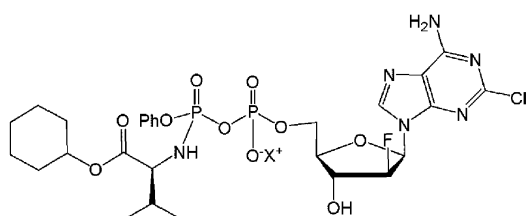
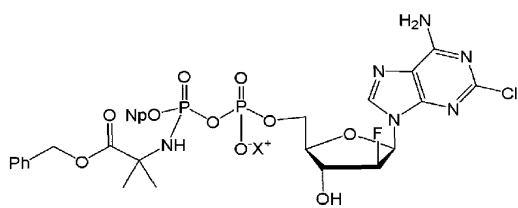
19. Соединение по любому из пп.1-18, в котором R^2 представляет собой C_1 - C_4 -алкил.

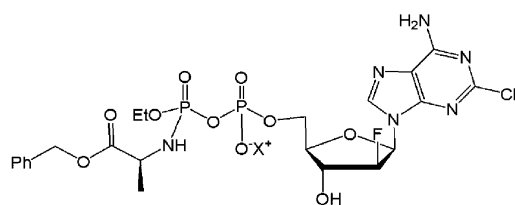
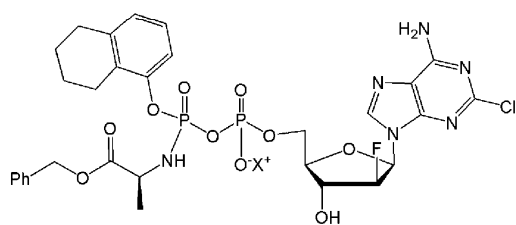
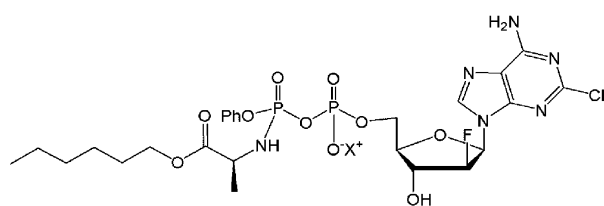
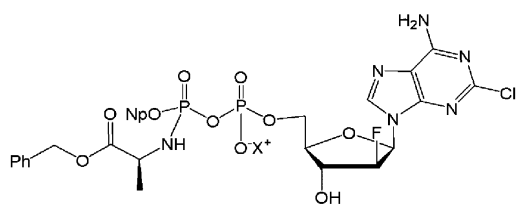
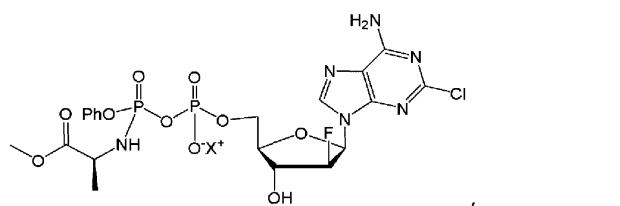
20. Соединение по любому из пп.1-18, в котором R^2 представляет собой H.

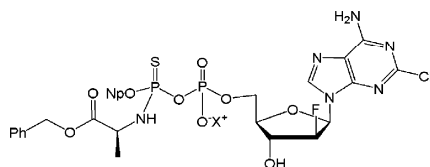
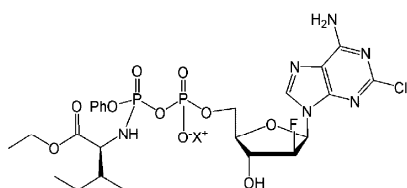
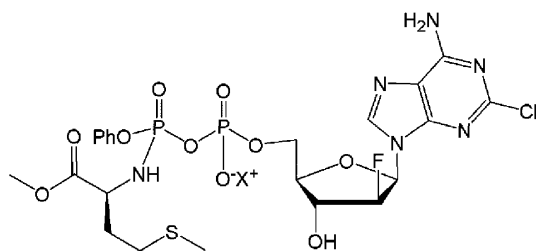
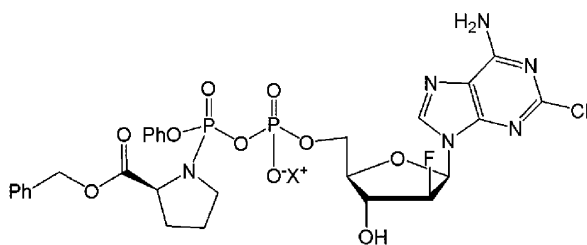
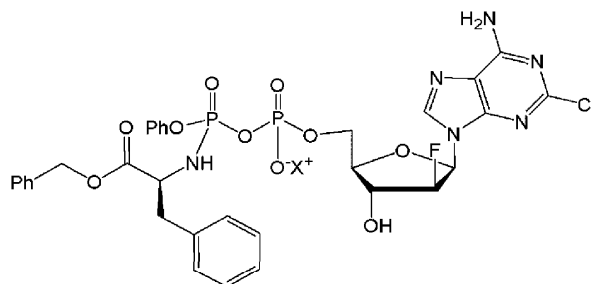
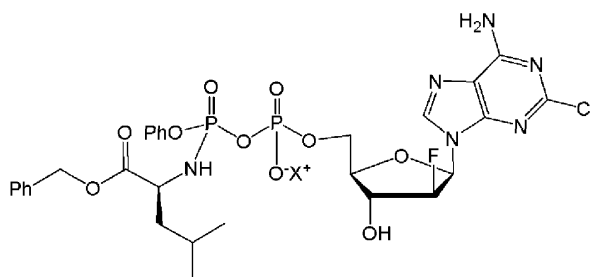
21. Соединение по любому из пп.1-20, в котором R^5 представляет собой фенил.
 22. Соединение по любому из пп.1-20, в котором R^5 представляет собой нафтил.
 23. Соединение по п.1, в котором соединение формулы (I) выбрано из











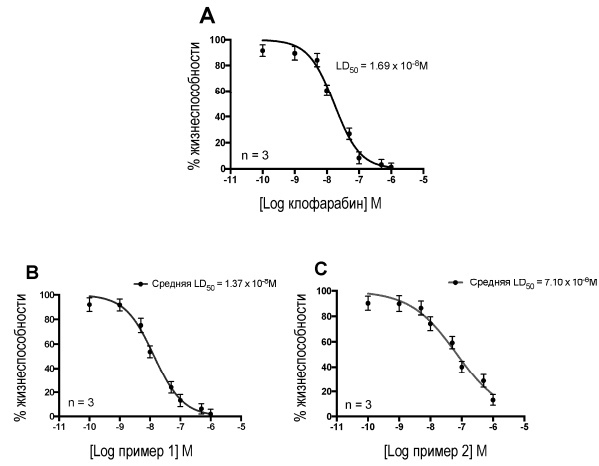
где X^+ имеет значение, указанное в п.1.

24. Применение соединения по любому из пп.1-23 для лечения рака.

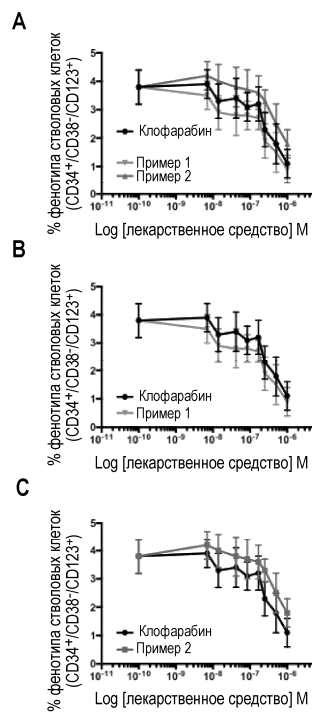
25. Применение по п.24, в котором рак представляет собой лейкемию или лимфому.

26. Применение по п.25, в котором рак представляет собой лейкемию, выбранную из группы, состоящей из острой миелоидной лейкемии (ОМЛ), острой лимфоидной лейкемии (ОЛЛ), хронической миелоидной лейкемии (ХМЛ), хронической лимфоидной лейкемии (ХЛЛ) и острой бифенотипической лейкемии (BAL).

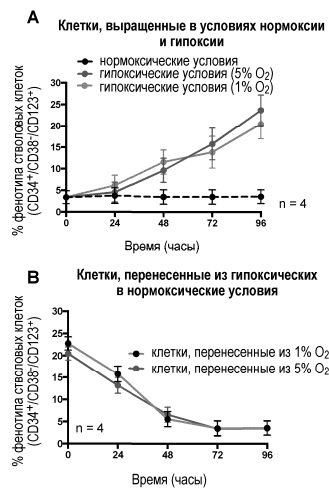
27. Применение по п.25, в котором рак представляет собой лимфому, выбранную из группы, состоящей из лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы.



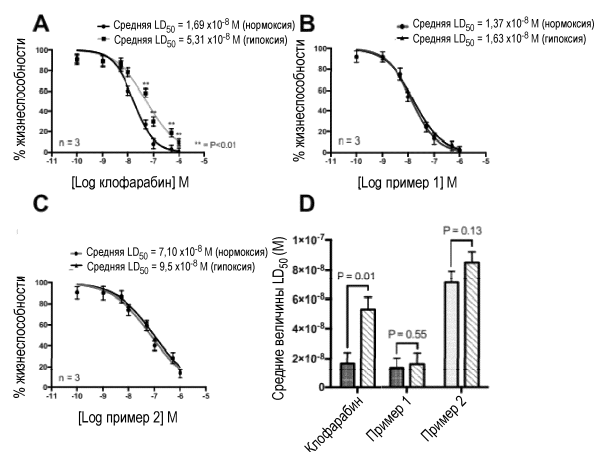
Фиг. 1



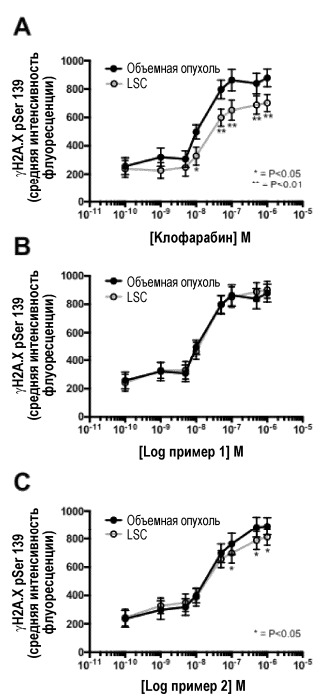
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

