

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 042910

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.04.03

(21) Номер заявки
202090269

(22) Дата подачи заявки
2015.06.25

(51) Int. Cl. A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) ПРОДУКТЫ ГЕМЦИТАБИНА

(31) 1411253.6; 2050/MUM/2014

(32) 2014.06.25

(33) GB; IN

(43) 2020.05.31

(62) 201692312; 2015.06.25

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

(72) Изобретатель:
Гриффит Хью, Макгиган Кристофер,
Слюсарчик Магдалена, Серпи
Микаэла, Феррари Валентина (GB)

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

(56) WO-A1-2014076490
WO-A2-2005012327

MAGDALENA SLUSARCZYK et al.
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. Journal
of Medicinal Chemistry, 2014, vol. 57, no. 4,
pp. 1531-1542; ISSN: 0022-2623; DOI: 10.1021/
jm401853a; соединение 6f и соответствующие
данные в его отношении.

(57) Изобретение относится к пролекарству монофосфата нуклеотида хорошо известного онкологического лекарственного средства гемцитабина. Конкретно, оно относится к гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфату, присутствующему в форме одного диастереоизомера фосфата, и, в частности, оно относится к (S)-диастереоизомеру фосфата, который обеспечивает заметное и неожиданное увеличение растворимости по сравнению с (R)-диастереоизомером. (S)-эпимер фосфата также более предпочтительно поглощается растворами циклодекстрина, чем (R)-диастереоизомер.

B1

042910

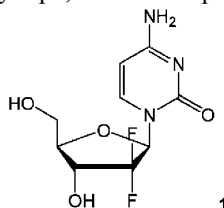
042910

B1

Изобретение относится к пролекарству монофосфата нуклеотида хорошо известного онкологического лекарственного средства гемцитабина. Конкретно, изобретение относится к гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфату (химическое наименование: 2'-дезокси-2',2'-дифтор-D-цитидин-5'-O-[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфат), присутствующему в форме одного диастереоизомера фосфата, и, в частности, оно относится к (S)-диастереоизомеру фосфата, который обеспечивает заметное и неожиданное увеличение растворимости по сравнению с (R)-диастереоизомером. (S)-диастереоизомер фосфата также более предпочтительно поглощается растворами циклодекстрина, чем (R)-диастереоизомер.

Уровень техники

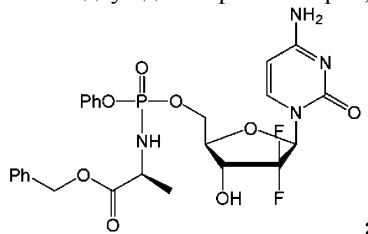
Гемцитабин (1; обозначенный как гемзар®) представляет собой эффективный аналог нуклеозида, который в настоящее время одобрен для лечения рака груди, немелкоклеточного рака легких, рака яичников и рака поджелудочной железы, и широко используется для лечения множества других злокачественных опухолей, включая рак мочевого пузыря, желчных протоков, колоректальный рак и лимфому.



Клиническое применение гемцитабина является ограниченным из-за ряда механизмов врожденной и приобретенной устойчивости. На клеточном уровне устойчивость зависит от трех параметров: (i) понижающей регуляции дезоксицитидинкиназы, необходимой для активации до фосфорилированной группы; (ii) уменьшенной экспрессии транспортеров нуклеозидов, в частности, hENT1, необходимого для поглощения клетками злокачественных опухолей; и (iii) повышающей регуляции каталитических ферментов, особенно цитидиндезаминазы, осуществляющих деградацию гемцитабина.

В WO 2005/012327 описана серия нуклеотидных пролекарств для гемцитабина и родственных нуклеозидных молекул лекарственного средства. Среди них гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-1031; 2) идентифицирован как особенно эффективное соединение. Эти пролекарства, по-видимому, позволяют избегать многих из механизмов врожденной и приобретенной устойчивости, ограничивающих применение гемцитабина ("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).

NUC-1031 2 получают в форме смеси двух диастереоизомеров, эпимерных по фосфатному центру.



К сожалению, NUC-1031 2 является весьма липофильным и таким образом, плохо растворимым в воде (по расчетам: <0,1 мг/мл), и поддающиеся ионизации группы, азот пиримидина и фенольный гидроксил, обладают рассчитанными pK_a , лежащими вне диапазона pH, пригодного для парентерального введения. Он является по существу нерастворимым в воде, вне зависимости от содержания соли или pH, и это вызывает осложнения для разработки составов для доставки пролекарства в достаточно высоких дозах для эффективного лечения. Это также вызывает осложнения при разработке эффективных способов получения, которые могут обеспечивать экономически эффективное получение NUC-1031.

Целью конкретных вариантов осуществления этого изобретения является получение гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-1031; 2) в форме, которую можно вводить в состав эффективной фармацевтической композиции.

Целью конкретных вариантов осуществления этого изобретения является также получение формы гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-1031; 2), которую можно получать и хранить в течение длительного периода времени.

Целью конкретных вариантов осуществления этого изобретения является получение гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-1031; 2) в форме, которая обладает более высокой растворимостью, чем формы из предшествующего уровня техники.

Целью конкретных вариантов осуществления этого изобретения является получение гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата (NUC-1031; 2) в форме отдельного диастереоизомера по отношению к атому фосфора.

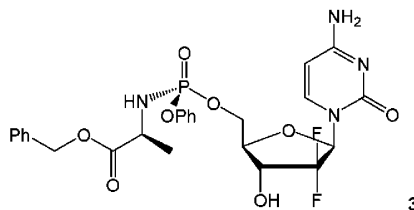
Конкретные варианты осуществления этого изобретения удовлетворяют некоторым или всем из

вышеуказанных целей.

Гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфат по настоящему изобретению предпочтительно обладает по существу такой же активностью, как гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфат (NUC-1031; 2). Он может, однако, обладать немного меньшей активностью, но предоставлять другие преимущества, как описано в этом описании, если существует преимущество для получения или терапевтическое преимущество для применения этой формы.

Краткое изложение описания

В соответствии с настоящим изобретением представлен гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат 3:



или его фармацевтически приемлемые соль или сольват. Предпочтительно, гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат 3 находится в по существу чистой диастереоизомерной форме.

Авторы изобретения обнаружили неожиданные и заметные различия в растворимости двух диастереоизомеров. (S)-эпимер 3 обладает достаточной растворимостью в смесях ряда полярных органических растворителей с водой, чтобы обеспечить его пригодность для составления и введения в качестве лекарственного средства. (R)-эпимер 4 является по существу нерастворимым в большинстве изученных смесей растворителей. Эти заметные различия в растворимости ранее не были идентифицированы, и потенциальные преимущества этого свойства (S)-эпимера не были известны. В ряде тестированных смесей растворителей различие в растворимости между (S)-эпимером и (R)-эпимером составляет более 100 раз.

Неожиданно (S)-эпимер также предпочтительно поглощается раствором циклодекстрина по сравнению с (R)-эпимером. Этого не наблюдали с другими производными фосфата гемцитабина.

Во втором аспекте настоящего изобретения представлен фармацевтический состав, содержащий гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат 3, или его фармацевтически приемлемые соль или сольват, обладающие диастереоизомерной чистотой более приблизительно 90%, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый наполнитель.

Состав может быть предназначен для парентерального, например, для внутривенного, подкожного или внутримышечного введения. Предпочтительно, состав предназначен для внутривенного введения.

Состав может представлять собой водный состав, который, необязательно, содержит также полярный органический растворитель. В случае парентерального (например, внутривенного) введения, состав предпочтительно содержит также полярный органический растворитель.

Состав может также содержать циклодекстрин.

В третьем аспекте настоящего изобретения представлен гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат 3, или его фармацевтически приемлемые соль или сольват для медицинского применения.

В четвертом аспекте настоящего изобретения представлен гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат 3, или его фармацевтически приемлемые соль или сольват для применения при лечении злокачественных опухолей.

В пятом аспекте настоящего изобретения представлен гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат 3, или его фармацевтически приемлемые соль или сольват для применения при изготовлении лекарственного средства для лечения злокачественных опухолей.

В шестом аспекте настоящего изобретения представлен способ лечения злокачественных опухолей, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3 или его фармацевтически приемлемых соли или сольвата.

Сольват, как правило, представляет собой гидрат. Таким образом, гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат может присутствовать в форме соли или гидрата. Существует вероятность того, что гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат не находится в форме соли и/или сольвата (например, гидрата). Предпочтительно, он находится в форме свободного основания.

Гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат может обладать диастереоизомерной чистотой более приблизительно 90%. Он может обладать диастереоизомерной чистотой более 95, 98, 99 или даже 99,5%. "По существу диастереомерно чистый" определяют для целей по этому изобретению как диастереомерно чистоту более приблизительно 90%.

Злокачественная опухоль может представлять собой злокачественную опухоль, выбранную из: рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака яичника, рака мочевого пузыря, колоректального рака, рака легкого, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, холангиокарциномы, злокачественной опухоли почки, рака шейки матки, злокачественной опухоли тимуса, злокачественной опухоли

неизвестного первичного происхождения. Злокачественная опухоль может также представлять собой лимфому или лейкоз.

В седьмом аспекте настоящего изобретения представлен способ получения по меньшей мере одного диастереоизомера гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата в по существу диастереоизомерно чистой форме, включающий стадии:

получения смеси гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфата 4 и гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3;

подвергания смеси способу разделения; и

после разделения, выделения гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфата 4 и/или гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3 в по существу диастереоизомерно чистой форме.

В восьмом аспекте настоящего изобретения представлен способ получения по меньшей мере одного диастереоизомера гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата в по существу диастереоизомерно чистой форме, включающий стадии:

получения смеси 3'-защищенного гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфата 4 и 3'-защищенного гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3;

подвергания смеси способу разделения;

после разделения выделения 3'-защищенного гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфата 4 и/или 3'-защищенного гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3 в по существу диастереоизомерно чистой форме;

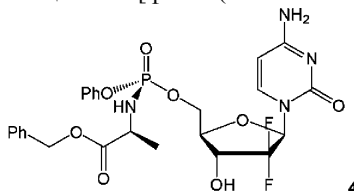
удаления 3'-защитной группы с одного или обоих из разделенных диастереоизомеров для получения гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфата 4 и/или гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3 в по существу диастереоизомерно чистой форме.

3'-защищенный гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфат представляет собой производное гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата, в котором 3'-гидроксигруппа характеризуется гидроксильной защитной группой. Рассматриваемая защитная группа должна поддаваться полному удалению. Иллюстративные защитные группы включают силильные защитные группы (например, трет-бутилдиметилсилил и триэтилсилил), в этом случае защитную группу можно удалять с использованием реагента, выбранного из TFA, HF, фторкремниевой кислоты и фторида тетрабутиламмония. Альтернативной защитной группой может являться карбонатная группа (например, трет-бутилкарбонат), в этом случае защитную группу можно удалять с использованием кислоты Брэнстеда (например, TFA) или кислоты Льюиса (например, ZnBr_2).

Способ разделения может представлять собой хроматографию, например, хроматографию на колонке, препаративную тонкослойную хроматографию или препаративную ВЭЖХ. Когда способ разделения представляет собой препаративную ВЭЖХ, его можно осуществлять с использованием хиральной колонки, например, колонки, содержащей трис-(3,5-диметилфенилкарбамат) амилозы. Примером хиральной колонки, которую можно использовать в способе по изобретению, является Chiralpak ADTM; стационарная фаза которой состоит из 20 мкм силикагелевого носителя, физически покрытого трис-(3,5-диметилфенилкарбаматом) амилозы.

Способ разделения может представлять собой избирательное поглощение раствором циклодекстрина. Этот способ включает приведение смеси в контакт с раствором циклодекстрина, так что один эпитер поглощается раствором циклодекстрина предпочтительно по сравнению с другим эпитером, и затем отделение раствора циклодекстрина от нерастворенного твердого вещества. Раствор циклодекстрина может представлять собой водный раствор циклодекстрина. Отделение раствора от твердого вещества можно осуществлять посредством фильтрации.

Изобретение относится также к гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфату 4:



или его фармацевтически приемлемым соли или сольвату. Изобретение относится также к фармацевтическому составу, содержащему гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфат 4, или его фармацевтически приемлемые соль или сольват, обладающие диастереоизомерной чистотой более приблизительно 90%, и фармацевтически приемлемый наполнитель, а так же к медицинским применениям соединения 4 и способам лечения с использованием соединения 4. Эти аспекты (R)-эпитера соответствуют аспектам, описанным по отношению к соединению 3 в третьем - шестом аспектах по изобретению, описанных выше. Гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфат может находиться в по существу диастереоизомерно чистой форме. Существует вероятность того, что гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфат не является солью и/или сольватом (например, гидратом). Предпочтительно, он находится в форме свободного основания.

Показано, что R-эпимер обладает временем полураспада при инкубации с выделенными гепатоцитами человека, в четыре раза превышающим время полураспада S-эпимера (см. пример 4). Более длительное время полураспада, ассоциированное с R-изомером, указывает на более низкое свойственное ему выведение и должно приводить к фармакокинетическому и фармакодинамическому профилю, отличному от S-изомера. Этот профиль может означать более высокую и более длительно сохраняющуюся концентрацию R-изомера в системном кровотоке и таким образом, более сильное воздействие R-эпимера, чем можно достигать с использованием S-эпимера. AUC для R-изомера, таким образом, может быть выше, приводя к более сильному и более длительному воздействию этого вещества, например, для перорального способа введения, где эффекты первого прохождения более выражены. Это более длительное воздействие R-эпимера может обеспечивать значительно более длительное воздействие R-эпимера на опухоль и может приводить к большей эффективности, где уменьшенный пресистемный метаболизм в печени может приводить к более высокой концентрации лекарственного средства. Это отличающееся свойство может также обеспечивать нацеливание на специфические опухоли, где более длительный профиль PK может приводить к большей эффективности в труднодоступных участках опухолей, где сосудистая система является слабой. Более длительное воздействие R-эпимера может обеспечивать адекватную концентрацию лекарственного средства для активного метаболита на протяжении большего количества фаз клеточного цикла, включая деление клеток.

Краткое описание чертежей

Варианты осуществления изобретения далее описаны в настоящем документе ниже по отношению к прилагаемым чертежам, где:

- на фиг. 1 показана хроматограмма разделения соединений 3 и 4 посредством ВЭЖХ с использованием колонки Chiralpak AD и градиентной системы растворителей н-гептан/IPA;
- на фиг. 2 показана структура соединения 4, как определено посредством рентгенодифракции;
- на фиг. 3 показана структура соединения 3, как определено посредством рентгенодифракции;
- на фиг. 4 показан спектр ^{31}P -ЯМР (202 МГц, D_2O) изомерной смеси NUC-1031 (3,12 мМ), после добавления HP- β -CD в молярном соотношении 1:2,3;
- на фиг. 5 показаны кривые для ВЭЖХ NUC-1031 (3,12 мМ) в MeOH (A) в H_2O после добавления HP- β -CD в молярном соотношении 1:2,3 (B).

Подробное описание

Во всем описании термин S-эпимер или S-диастереоизомер относится к гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфату. Подобным образом, во всем описании термин R-эпимер или R-диастереоизомер относится к гемцитабин-[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(R)-фосфату.

Соединения по настоящему изобретению можно использовать для лечения организма человека. Их можно использовать для лечения организма животного. В частности, соединения по настоящему изобретению можно использовать для лечения представляющих коммерческую ценность животных, таких как скот. Альтернативно, соединения по настоящему изобретению можно использовать для лечения животных-компаньонов, таких как кошки, собаки и т.д.

Соединения по изобретению можно получать, хранить и/или вводить в форме фармацевтически приемлемой соли. Пригодные фармацевтически приемлемые соли включают, но без ограничения, соли фармацевтически приемлемых неорганических кислот, таких как соляная, серная, фосфорная, азотная кислоты, угольная, борная, сульфаминовая и бромистоводородная кислоты, или соли фармацевтически приемлемых органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, масляная, виннокаменная, малеиновая, гидроксималеиновая, фумаровая, яблочная, лимонная, молочная, муциновая, глюконовая, бензойная, янтарная, щавелевая, фенилуксусная, метансульфоновая, толуолсульфоновая, бензолсульфоновая, салициловая, сульфаниловая, аспарагиновая, глутаминовая, эдетовая, стеариновая, пальмитиновая, олеиновая, лауриновая, пантотеновая, дубильная, аскорбиновая и валериановая кислоты. Пригодные основные соли сформированы из оснований, которые формируют нетоксичные соли. Примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглума, оламина, калия, натрия, триметамин и цинка. Можно формировать также полусоли кислот и оснований, например, соли гемисульфата, гемиоксалата и гемикальция. В конкретных вариантах осуществления, в частности, в тех, где применяют S-эпимер, соединение находится в форме соли HCl или соли гемиоксалата.

Соединения по изобретению могут существовать в отдельной кристаллической форме или в смеси кристаллических форм, или они могут являться аморфными. Таким образом, соединения по изобретению, предназначенные для фармацевтического применения, можно вводить в форме кристаллических или аморфных продуктов. Их можно получать, например, в форме твердых прессованных масс, порошков или пленок, посредством способов, таких как преципитация, кристаллизация, лиофилизация или сушка распылением, или сушка выпариванием. Для этой цели можно использовать индукционную сушку или радиочастотную сушку.

Для вышеупомянутых соединений по изобретению, введенная доза, естественно, меняется в зависимости от применяемого соединения, способа введения, желательного лечения и проявленного наруше-

ния. Например, если соединение по изобретению вводят парентерально, доза соединения по изобретению может находиться в диапазоне от 0,1 до 5 г/м², например от 0,5 до 2 г/м². Размер дозы соединений по изобретению для терапевтических целей можно естественным образом менять в зависимости от характера и тяжести состояний, возраста и пола животного или пациента, и способа введения, в соответствии с хорошо известными принципами медицины.

Ожидают, что уровни дозирования, частота дозирования и продолжительность лечения соединениями по изобретению могут отличаться в зависимости от состава и клинических показаний, возраста и сопутствующих медицинских состояний пациента.

Соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль можно использовать отдельно, но, как правило, их вводят в форме фармацевтической композиции, в которой соединения по изобретению или их фармацевтически приемлемая соль присутствуют в сочетании с фармацевтически приемлемым адъювантом, разбавителем или носителем. Общепринятые способы выбора и получения пригодных фармацевтических составов описаны, например, в "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M.E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

В зависимости от способа введения соединений по изобретению, фармацевтическая композиция, которую используют для введения соединений по изобретению, может предпочтительно содержать от 0,05 до 99 мас. % (процентов по массе) соединения по изобретению, более предпочтительно, от 0,05 до 80 мас. % соединения по изобретению, еще более предпочтительно, от 0,10 до 70 мас. % соединения по изобретению, и даже более предпочтительно, от 0,10 до 50 мас. % соединения по изобретению, все проценты по массе на основании общей композиции.

Для перорального введения соединения по изобретению можно смешивать 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 веществом, например, стеаратом магния, стеаратом кальция, полиэтиленгликолем, воском, парафином и т.п., и затем прессовать в таблетки. Если необходимы покрытые таблетки, их сердцевины, полученные, как описано выше, можно покрывать концентрированным раствором сахара, который может содержать, например, гуммиарабик, желатин, тальк и диоксид титана. Альтернативно, таблетку можно покрывать подходящим полимером, растворенным в легко летучем органическом растворителе.

Для получения мягких желатиновых капсул соединения по изобретению можно смешивать, например, с растительным маслом или полиэтиленгликолем. Твердые желатиновые капсулы могут содержать гранулы соединения с использованием вышеупомянутых наполнителей для таблеток. Твердые желатиновые капсулы можно заполнять также жидкими или полутвердыми составами соединения по изобретению.

Жидкие препараты для перорального применения могут находиться в форме сиропов или суспензий, например, растворов, содержащих соединения по изобретению, где в равновесии находятся сахар и смесь этанола, воды, глицерина и пропиленгликоля. Такие жидкие препараты могут необязательно содержать красители, вкусовые добавки, подсластители (такие как сахарин), консервирующие средства и/или карбоксиметилцеллюлозу в качестве загустителя, или другие наполнители, известные специалистам в данной области.

Для парентерального (например, внутривенного) введения, соединения по изобретению можно вводить в форме стерильного водного или масляного раствора. Соединения по изобретению являются очень липофильными. Водные составы, как правило, таким образом, могут также содержать фармацевтически приемлемый полярный органический растворитель.

Показано, что циклодекстрины находят широкое применение для доставки лекарственных средств (Rasheed et al., Sci. Pharm., 2008, 16, 567-598). Циклодекстрины представляют собой семейство циклических олигосахаридов. Они действуют как "молекулярная клетка", которая инкапсулирует молекулы лекарственного средства и изменяет свойства таких молекул лекарственного средства, такие как растворимость.

Циклодекстрины содержат (α -1,4)-связанные звенья α -D-глюкопиранозы. Циклодекстрины могут содержать 6, 7 или 8 звеньев глюкопиранозы (обозначены как α -, β - и γ -циклодекстрины, соответственно). Циклодекстрины, применяемые в фармацевтических составах, часто представляют собой β -циклодекстрины. Боковые гидроксильные группы можно алкилировать с использованием C₁-C₆ замещенной или незамещенной алкильной группы. Примерами циклодекстринов являются α -циклодекстрин, β -циклодекстрин, γ -циклодекстрин, 2-гидроксипропил- β -циклодекстрин (HP- β -CD), сульфобутиловый эфир натриевой соли β -циклодекстрина, частично метилированный β -циклодекстрин.

Размер дозы соединений по изобретению для терапевтических целей может естественным образом меняться в зависимости от характера и тяжести состояний, возраста и пола животного или пациента и способа введения, в соответствии с хорошо известными принципами медицины.

Ожидают, что уровни дозирования, частота дозирования, и продолжительность лечения соединениями по изобретению могут отличаться в зависимости от состава и клинических показаний, возраста и

сопутствующих медицинских состояний пациента.

Настоящее изобретение включает также все фармацевтически приемлемые меченные изотопами формы соединений 3 или 4, где один или несколько атомов заменены атомами, обладающими таким же атомным номером, но атомной массой или массовым числом, отличающимися от атомной массы или массового числа преобладающего изотопа, обычно обнаруживаемого в природе.

Примеры изотопов, пригодных для включения в соединения по изобретению, 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 , иода, 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 .

Конкретные меченные изотопами соединения, например, включающие радиоактивный изотоп, можно использовать в исследованиях распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Радиоактивные изотопы тритий, т.е. ^3H , и углерод-14, т.е. ^{14}C , являются особенно пригодными для этой цели, принимая во внимание простоту их включения и доступные способы детекции.

Замена на более тяжелые изотопы, такие как дейтерий, т.е. ^2H , может обеспечивать конкретные терапевтические преимущества, возникающие в результате большей метаболической стабильности, например, увеличение времени полураспада *in vivo* или меньшие необходимые дозы, и таким образом, может являться предпочтительной в некоторых условиях.

Замену на позитронно-активные изотопы, такие как ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O и ^{13}N , можно использовать в исследованиях позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для изучения степени занятости рецептора субстратом.

Меченые изотопами соединения можно в основном получать общепринятыми способами, известными специалистам в данной области или способами, аналогичными описанным, с применением подходящего меченого изотопом реагента вместо применявшегося ранее немеченого реагента.

Способ лечения соединением для применения в лечении злокачественных опухолей может включать, в дополнение к соединению по изобретению, общепринятую хирургию или радиотерапию, или химиотерапию. Такая химиотерапия может включать введение одного или нескольких других действующих веществ.

Когда дополнительное действующее вещество вводят в качестве части способа лечения по изобретению, такое комбинированное лечение можно осуществлять посредством одновременного, последовательного или отдельного дозирования индивидуальных компонентов лекарственного средства. В таких комбинированных продуктах применяют соединения по этому изобретению в диапазоне терапевтически эффективного дозирования, описанного в настоящем документе ранее, и одно или несколько из других фармацевтически активных веществ (вещества) в пределах одобренного для них диапазона дозирования.

Таким образом, фармацевтические составы по изобретению могут содержать другое действующее вещество.

Одно или несколько других действующих веществ могут представлять собой одно или несколько из следующих категорий противоопухолевых средств:

(i) антипролиферативные/антинеопластические лекарственные средства и их комбинации, такие как алкилирующие средства (например, циклофосфамид, азотистый иприт, бендамустин, мелфалан, хлорамбуцил, бусульфид, темозоломид и нитрозомочевина); антиметаболиты (например, гемцитабин и антифолаты, такие как фторпиримидины, подобные 5-фторурацилу и тегафуру, ралтитрексид, метотрексат, пеметрексед, арабинозид цитозина и гидроксимочевина); антибиотики (например, антрациклины, подобные адриаамицину, блеомицину, доксорубину, дауномицину, эпирубицину, идарубину, митомицину-С, дактиномицину и митрамицину); антимитотические средства (например, алкалоиды барвинка, подобные винкристину, винбластину, виндезину и винорелбину, и таксоиды, подобные таксолу и таксотеру, и ингибиторы полокиназы); ингибиторы протеасомы, например, карфилзомиб и бортезомиб; лекарственные средства на основе интерферона; и ингибиторы топоизомеразы (например, эпиподофиллотоксины, подобные этопозиду и тенипозиду, амсакрин, топотекан, митоксантрон и камптотецин);

(ii) цитостатические средства, такие как антиэстрогены (например, тамоксифен, фулвестрант, торемифен, ралоксифен, дролоксифен и иодоксифен), 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, лектрозол, воразол и экземестан) и ингибиторы 5α -редуктазы, такие как финастерид;

(iii) антиинвазивные средства, например, дазатиниб и бозутиниб (SKI-606), и ингибиторы металло-протеиназы, ингибиторы функции рецептора урокиназного активатора плазминогена или антитела против гепараназы;

(iv) ингибиторы функции фактора роста: например, такие ингибиторы включают антитела против фактора роста и антитела против рецептора фактора роста, например, антитело против *erbB2* трастузумаб [герцептинTM], антитело против EGFR панитумумаб, антитело против *erbB1* цетуксимаб, ингибиторы тирозинкиназы, например, ингибиторы семейства эпидермального фактора роста (например, ингибиторы тирозинкиназы семейства EGFR, такие как гефитиниб, эрлотиниб и 6-акриламидо-N-(3-хлор-4-

фторфенил)-7-(3-морфолинопропокси)хиназолин-4-амин (CI 1033), ингибиторы тирозинкиназы erbB2, такие как лапатиниб); ингибиторы семейства факторов роста гепатоцитов; ингибиторы семейства инсулиновых факторов роста; модуляторы белковых регуляторов апоптоза клеток (например, Bcl-2 ингибиторы); ингибиторы семейства факторов роста тромбоцитов, такие как иматиниб и/или нилотиниб (AMN107); ингибиторы серин/треонин-киназы (например, ингибиторы передачи сигнала Ras/Raf, такие как ингибиторы фарнезилтрансферазы, например, сорафениб, типифарниб и лонафарниб), ингибиторы клеточной передачи сигнала через киназы MEK и/или АКТ, ингибиторы c-kit, ингибиторы киназы abl, ингибиторы киназы PI3, ингибиторы киназы Plt3, ингибиторы киназы CSF-1R, ингибиторы киназы рецептора IGF; ингибиторы киназы аутофа и ингибиторы циклин-зависимых киназ, такие как ингибиторы CDK2 и/или CDK4;

(v) антиангиогенные средства, такие как средства, ингибирующие эффекты факторов роста эндотелия сосудов, [например, антитело против факторов роста эндотелия сосудов бевацизумаб (авастинTM); талидомид; леналидомид; и, например, ингибитор тирозинкиназы рецептора VEGF, такой как вандетаниб, баталаниб, сунитиниб, акситиниб и пазопаниб];

(vi) генотерапевтические способы, включая, например, способы замены aberrантных генов, таких как aberrантный p53 или aberrантный BRCA1 или BRCA2;

(vii) иммунотерапевтические способы, включая, например, терапию антителом, таким как алемтумаб, ритуксимаб, ибритутомаб тиуксетан (зевалин[®]) и офатумумаб; интерфероны, такие как интерферон α ; интерлейкины, такие как IL-2 (альдеслейкин); ингибиторы интерлейкина, например, ингибиторы IRAK4; противораковые вакцины, включая профилактические и терапевтические вакцины, такие как вакцины против HPV, например, гардасил, церварикс, онкофаг и сипулюсел-Т (провендж); и модуляторы toll-подобного рецептора, например, агонисты TLR-7 или TLR-9; и

(viii) цитотоксические средства, например, флударабин (флудара), кладрибин, пентостатин (нипентTM);

(ix) стероиды, такие как кортикостероиды, включая глюкокортикоиды и минералокортикоиды, например, аклометазон, дипропионат аклометазона, альдостерон, амцинонид, беклометазон, дипропионат беклометазона, бетаметазон, дипропионат бетаметазона, фосфат бетаметазона натрия, валерат бетаметазона, будезонид, клобетазон, бутират клобетазона, пропионат клобетазола, клопреднол, кортизон, ацетат кортизона, кортивазол, дезоксикортон, дезонид, дезоксиметазон, дексаметазон, дексаметазон фосфат натрия, изоникотинат дексаметазона, дифторкортолон, флуоклоролон, флуметазон, флунизолон, флуоцинолон, ацетонид флуоцинолона, флуоционид, флуокортинбутил, фторкортизон, фторкортолон, капроат флуокортолона, пивалат флуокортолона, фторметолон, флупредниден, ацетат флупреднидена, флурандренолон, флуказон, пропионат флуказона, галцинонид, гидрокортизон, гидроацетат кортизона, бутират гидрокортизона, ацепонат гидрокортизона, бутепрат гидрокортизона, валерат гидрокортизона, икометазон, энбутат икометазона, мепреднизон, метилпреднизолон, мометазон, параметазон, моногидрат фууроата мометазона, предникарбат, преднизолон, преднизон, тиксокортол, пивалат тиксокортола, триамцинолон, ацетонид триамцинолона, триамцинолоновый спирт и их соответствующие фармацевтически приемлемые производные. Можно использовать комбинацию стероидов, например, комбинацию двух или более стероидов, упомянутых в этом разделе;

(x) направленные лекарственные средства, например, ингибиторы PI3Kd, например, иделалисиб и перифозин; или соединения, ингибирующие PD-1, PD-L1 и CAR T.

Одно или несколько других действующих веществ могут также представлять собой антибиотик.

На протяжении описания и формулы изобретения из этого описания, слова "включать" и "содержать" и их варианты означают "включая, но без ограничения", и они не предназначены для исключения (и не исключают) других групп, добавок, компонентов, целых чисел или стадий. На протяжении описания и формулы изобретения из этого описания, формы единственного числа включают множественное число, если контекст не требует иного. В частности, когда используют неопределенный артикль, описание следует понимать как включающее множественное число, так же как единственное число, если контекст не требует иного.

Признаки, целые числа, характеристики, соединения, химические вещества или группы, описанные в отношении конкретного аспекта, варианта осуществления или примера по изобретению, следует понимать, как применимые для любого другого аспекта, варианта осуществления или примера, описанного в настоящем документе, если они не являются несовместимыми с ними. Все признаки, описанные в этом описании (включая все прилагаемые пункты формулы изобретения, реферат и чертежи), и/или все стадии любого способа или процесса, описанного таким образом, можно комбинировать в любой комбинации, за исключением комбинаций, где по меньшей мере некоторые из таких признаков и/или стадий являются взаимоисключающими. Изобретение не является ограниченным деталями любого из предшествующих вариантов осуществления. Изобретение распространяется на любой новый признак, или любую новую комбинацию признаков, описанных в этом описании (включая все прилагаемые пункты формулы изобретения, реферат и чертежи), или на любой новую стадию, или любую новую комбинацию стадий любого способа или процесса, описанного таким образом.

Следует обратить внимание на все статьи и документы, которые поданы одновременно с этим описанием или ранее этого описания в связи с этим описанием и которые опубликованы для публичного ознакомления вместе с этим описанием, и содержание всех таких статей и документов приведено в настоящем документе в качестве ссылок.

В описании используют следующие сокращения:

DMF – <i>N,N</i> -диметилформамид	DMSO – диметилсульфоксид
IPA – изопропиловый спирт	NMP – <i>N</i> -метилпирролидинон
PEG – полиэтиленгликоль	TBDMS – <i>трет</i> -бутилдиметилсилил
TFA – трифторуксусная кислота	

Пример 1.

(R) и (S) изомеры разделяли посредством ВЭЖХ в следующих условиях:

оборудование: Agilent серии 1200™ с детектором DAD;

скорость потока: 1,0 мл/мин;

колонок: Chiralpak AD™; 250×4,6 мм ID (нормальная фаза);

температура: комнатная;

размер частиц: 20 мкм;

сырье: растворенное в MeOH; 10 г/л;

растворитель: н-гептан/IPA 10 → 50% IPA.

Хроматограмма показана на фиг. 1. (S)-эпимер элюировали через 8,6 мин, и (R)-эпимер элюировали через 10,3 мин.

Методы и материалы для характеристики: спектры ЯМР для протонов (¹H), углерода (¹³C), фосфора (³¹P) и фтора (¹⁹F) регистрировали на спектрометре Bruker Avance 500 при 25°C. Спектры подвергали автокалибровке по пику дейтерированного растворителя, и во всех ¹³C ЯМР и ³¹P ЯМР применяли подавление спин-спинового взаимодействия с протонами. Чистоту конечного соединения верифицировали как >95% посредством анализа ВЭЖХ с использованием Varian Polaris C18-A (10 мкм) в качестве аналитической колонки с градиентной элюцией H₂O/MeOH от 100/0 до 0/100 за 35 мин. Анализ ВЭЖХ проводили посредством Varian Prostar (LC Workstation-Varian с детектором prostar 335 LC).

2'-Дезокси-2',2'-дифтор-D-цитидин-5'-O-[фенил(бензилокси-L-аланинил)]-(S)-фосфат 3.

(ES⁺) m/z, обнаружено: (M+Na⁺) 603,14. C₂₅H₂₇F₂N₄O₈NaP задано: (M⁺) 580,47.

³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_p 3,66.

¹H ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_H 7,58 (д, J=7,5 Гц, 1H, H-6), 7,38-7,32 (м, 7H, ArH), 7,26-7,20 (м, 3H, ArH), 6,24 (т, J=7,5 Гц, 1H, H-1'), 5,84 (д, J=7,5 Гц, 1H, H-5), 5,20 (система АВ, J_{AB}=12,0 Гц, 2H, OCH₂Ph), 4,46-4,43 (м, 1H, H-5'), 4,36-4,31 (м, 1H, H-5'), 4,25-4,19 (м, 1H, H-3'), 4,07-4,00 (м, 2H, H-4', CHCH₃), 1,38 (д, J=7,2 Гц, 3H, CHCH₃).

¹⁹F ЯМР (470 МГц, MeOD): δ_F -118,0 (д, J=241 Гц, F), -120,24 (широкий д, J=241 Гц, F).

¹³C ЯМР (125 МГц, MeOD): δ_C 174,61 (д, ³J_{C-P}=5,0 Гц, C=O, сложный эфир), 167,63 (C-NH₂), 157,74 (основание C=O), 152,10 (д, ²J_{C-P}=7,0 Гц, C-Ar), 142,40 (CH-основание), 137,22 (C-Ar), 130,90, 129,63, 129,39, 129,32, 126,32 (CH-Ar), 124,51 (д, ¹J_{C-F}=257 Гц, CF₂), 121,47, 121,43 (CH-Ar), 96,67 (CH-основание), 85,92 (широкий сигнал, C-1'), 80,31 (C-4'), 71,27 (кажущийся т, ²J_{C-F}=23,7 Гц, C-3'), 68,03 (OCH₂Ph), 65,73 (д, ²J_{C-P}=5,30 Гц, C-5'), 51,66 (CHCH₃), 20,42 (д, ³J_{C-P}=6,25 Гц, CHCH₃).

Обращенно-фазовая ВЭЖХ, с элюцией H₂O/MeOH от 100/0 до 0/100 за 35 мин, показала один пик диастереоизомера с t_R=22,53 мин.

2'-Дезокси-2',2'-дифтор-D-цитидин-6'-O-[фенил(бензилокси-L-аланинил)]-(R)-фосфат 4.

(ES⁺) m/z, обнаружено: (M+Na⁺) 603,14. C₂₅H₂₇F₂N₄O₈NaP задано: (M⁺) 580,47.

³¹P ЯМР (202 МГц, MeOD): δ_p 3,83.

¹H ЯМР (500 МГц, MeOD): δ_H 7,56 (д, J=7,5 Гц, 1H, H-6), 7,38-7,31 (м, 7H, ArH), 7,23-7,19 (м, 3H, ArH), 6,26 (т, J=7,5 Гц, 1H, H-1'), 5,88 (д, J=7,5 Гц, 1H, H-5), 5,20 (с, 2H, OCH₂Ph), 4,49-4,46 (м, 1H, H-5'), 4,38-4,34 (м, 1H, H-5'), 4,23-4,17 (м, 1H, H-3'), 4,07-4,01 (м, 2H, H-4', CHCH₃), 1,38 (д, J=7,2 Гц, 3H, CHCH₃).

¹⁹F ЯМР (470 МГц, MeOD): δ_F -118,3 (д, J=241 Гц, F), -120,38 (широкий д, J=241 Гц, F).

¹³C ЯМР (125 МГц, MeOD): δ_C 174,65 (д, ³J_{C-P}=5,0 Гц, C=O, сложный эфир), 167,65 (C-NH₂), 157,75 (основание C=O), 152,10 (д, ²J_{C-P}=7,0 Гц, C-Ar), 142,28 (CH-основание), 137,50 (C-Ar), 130,86, 129,63, 129,40, 129,32, 126,31 (CH-Ar), 124,50 (д, ¹J_{C-F}=257 Гц, CF₂), 121,44, 121,40 (CH-Ar), 96,67 (CH-основание), 85,90 (широкий сигнал, C-1'), 80,27 (C-4'), 71,30 (кажущийся т, ²J_{C-F}=23,7 Гц, C-3'), 68,02 (OCH₂Ph), 65,50 (C-5'), 51,83 (CHCH₃), 20,22 (д, ³J_{C-P}=7,5 Гц, CHCH₃).

Обращенно-фазовая ВЭЖХ, с элюцией H₂O/MeOH от 100/0 до 0/100 за 35 мин, показала один пик диастереоизомера с t_R=21,87 мин.

Для двух изомеров получены также данные рентгенодифракции, и полученные изображения показаны на фиг. 2 и 3. Соответствующие данные и способы дифракции представлены в табл. 1-4 ниже.

Таблица 1
Данные кристаллизации и уточнение структуры для (R)-эпимера 4

Идентификационный код	shelx	
Эмпирическая формула	C ₂₅ H ₂₇ F ₂ N ₄ O ₈ P	
Молекулярная масса по формуле	580,47	
Температура	296(2) К (23(2) °C)	
Длина волны	1,54184 Å	
Кристаллическая система	моноклинная	
Пространственная группа	C 2	
Размеры элементарной ячейки	a=19,2280(3) Å	α=90°
	b=10,22330(10) Å	β=97,966(2)°.
	c=13,6911(2) Å	γ=90°.
Объем	2665,34(6) Å ³	
Z	4	
Плотность (расчетная)	1,447 мг/м ³	
Коэффициент поглощения	1,541 мм ⁻¹	
F(000)	1208	
Размер кристалла	0,584×0,095×0,051 мм ³	
Диапазон тэта для сбора данных	3,259–73,477°.	
Диапазон коэффициентов	-23<=h<=23, -12<=k<=12, -17<=l<=13	
Собранные отражения	9684	
Независимые отражения	5150 [R(int)=0,0239]	
Завершенность до тэта=67,684°	99,9%	
Коррекция поглощения	Полуэмпирическая на основании эквивалентов	
Макс. и мин. трансмиссия	1,00000 и 0,61719	
Способ уточнения	Способ наименьших квадратов в полноматричном приближении по F ²	
Данные/ограничители/параметры	5150/549/437	
Точность приближения по F ²	1,065	
Конечные коэффициенты R [I>2 сигма (I)]	R1=0,0646, wR2=0,1759	
Коэффициенты R (все данные)	R1=0,0681, wR2=0,1793	
Абсолютный структурный параметр	0,039(10)	
Коэффициент экстинкции	n/a	
Наибольший дифф. пик и провал	0,477 и -0,917 е.Å ⁻³	

Таблица 2
Атомные координаты ($\times 10^4$) и параметры эквивалентного изотропного замещения ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) для (R)-эпимера 4

$U(\text{eq})$ определяют как одну треть от кривой ортогонализованного тензора U^{ij}

	x	y	z	$U(\text{eq})$
N(1)	746(2)	9565(4)	4120(3)	35(1)
C(1)	1373(2)	10267(5)	4426(4)	40(1)
C(2)	779(3)	12200(5)	4030(4)	40(1)
C(3)	131(3)	11526(5)	3717(4)	45(1)
C(4)	141(3)	10216(5)	3785(4)	39(1)
C(5)	723(2)	8163(4)	4257(4)	33(1)
C(6)	1301(2)	6686(5)	5412(3)	34(1)
C(7)	1730(2)	6675(4)	4553(3)	33(1)
C(8)	1228(3)	7319(5)	3735(4)	37(1)
C(9)	1755(3)	6761(6)	6387(4)	43(1)
C(10)	1727(3)	3180(6)	7861(5)	50(1)
C(11)	1763(4)	2447(7)	7027(5)	61(2)
C(12)	1751(4)	1097(8)	7088(7)	75(2)
C(13)	1724(5)	533(8)	7970(9)	94(3)
C(14)	1685(6)	1247(9)	8799(8)	97(3)
C(15)	1693(5)	2625(8)	8758(6)	78(2)
P(1)	1047(1)	5375(1)	7561(1)	43(1)
F(1)	1535(2)	7981(3)	3064(2)	54(1)
F(2)	828(2)	6372(3)	3227(2)	54(1)
N(2)	792(3)	13496(4)	3968(4)	53(1)
N(3)	1370(2)	11570(4)	4362(4)	44(1)
O(1)	1897(2)	9608(4)	4734(4)	54(1)
O(2)	868(2)	7849(4)	5276(3)	42(1)
O(3)	1921(2)	5414(4)	4294(3)	42(1)
O(4)	1354(2)	6700(4)	7211(3)	48(1)
O(5)	1755(2)	4556(4)	7796(3)	51(1)
O(6)	514(2)	4743(5)	6869(4)	63(1)
N(4)	789(3)	5715(6)	8600(5)	69(1)
O(7)	595(5)	5712(9)	10681(7)	76(1)
O(8)	1614(5)	4778(9)	10851(7)	73(1)
C(16)	1339(8)	6191(13)	9486(10)	72(1)
C(17)	1345(8)	7650(14)	9611(10)	75(1)
C(18)	1162(8)	5543(19)	10418(11)	73(1)
C(19)	1420(3)	4227(5)	11796(4)	74(1)
C(20)	1213(3)	2833(5)	11556(4)	74(1)
C(21)	1737(3)	1889(5)	11701(4)	74(1)
C(22)	1562(3)	570(5)	11626(4)	74(1)
C(23)	863(3)	195(5)	11406(4)	73(1)

C(24)	339(3)	1139(5)	11261(4)	74(1)
C(25)	514(3)	2458(5)	11336(4)	74(1)
N(4A)	789(3)	5715(6)	8600(5)	69(1)
O(7A)	643(8)	6651(15)	10878(10)	71(1)
O(8A)	1156(10)	4892(18)	10491(12)	73(1)
C(16A)	1034(13)	6570(20)	9296(16)	72(1)
C(17A)	797(12)	7900(20)	9187(16)	74(2)
C(18A)	945(13)	6100(20)	10317(17)	72(1)
C(19A)	974(5)	4324(9)	11444(7)	74(1)
C(20A)	986(5)	2873(9)	11442(7)	74(1)
C(21A)	1654(5)	2345(9)	11684(7)	74(1)
C(22A)	1747(5)	996(9)	11687(7)	74(1)
C(23A)	1172(5)	176(9)	11448(7)	74(1)
C(24A)	504(5)	704(9)	11206(7)	74(1)
C(25A)	411(5)	2052(9)	11203(7)	74(1)

Таблица 3

Данные кристаллизации и уточнение структуры для (S)-эпимера 3

Идентификационный код	shelx	
Эмпирическая формула	C ₂₅ H ₂₆ F ₄₄ N ₄ O ₈ P	
Молекулярная масса по формуле	585,44	
Температура	293(2) К (20(2) °C)	
Длина волны	1,54184 Å	
Кристаллическая система	моноклинная	
Пространственная группа	P 2 ₁	
Размеры элементарной ячейки	a=11,3844(3) Å	α=90°.
	b=34,8283(7) Å	β=111,282(4)°.
	c=15,1260(6) Å	γ=90°.
Объем	5588,5(3) Å ³	
Z	8	
Плотность (расчетная)	1,392 мг/м ³	
Коэффициент поглощения	1,541 мм ⁻¹	
F(000)	2434	
Размер кристалла	0,249×0,072×0,042 мм ³	
Диапазон 2θ для сбора данных	3,135–73,481°.	
Диапазон коэффициентов	-13<h<=12, -42<k<=42, -17<l<=18	
Собранные отражения	43816	
Независимые отражения	21792 [R(int)=0,0582]	
Завершенность до 2θ=67,684°	100,0%	
Коррекция поглощения	Полуэмпирическая на основании эквивалентов	
Макс. и мин. трансмиссия	1,00000 и 0,62509	
Способ уточнения	Способ наименьших квадратов в полноматричном приближении по F ²	
Данные/ограничители/параметры	21792/2/1478	
Точность приближения по F ²	1,022	
Конечные коэффициенты R [I>2 сигма (I)]	R1=0,0628, wR2=0,1597	
Коэффициенты R (все данные)	R1=0,0921, wR2=0,1794	
Абсолютный структурный параметр	0,031(13)	
Коэффициент экстинкции	n/a	
Наибольший дифф. пик и провал	0,513 и -0,413 е.Å ⁻³	

Таблица 4
Атомные координаты ($\times 10^4$) и параметры эквивалентного изотропного замещения ($\text{\AA}^2 \times 103$) для (S)-эпимера 3

$U(\text{eq})$ определяют как одну треть от кривой ортогонализованного тензора U^{ij}

	x	y	z	$U(\text{eq})$
C(1)	-2481(7)	1599(2)	6585(6)	35(2)
C(2)	-4079(6)	1825(2)	7037(5)	36(2)
C(3)	-3292(7)	2138(2)	7558(6)	40(2)
C(4)	-2138(7)	2159(2)	7573(6)	40(2)
C(5)	-417(6)	1916(2)	7113(6)	37(2)
C(6)	1520(6)	2176(2)	7885(6)	37(2)
C(7)	1182(7)	2311(2)	6853(6)	41(2)
C(8)	-198(7)	2183(2)	6399(6)	42(2)
C(9)	2187(7)	2464(2)	8638(6)	40(2)
C(10)	-428(7)	3331(2)	8699(6)	42(2)
C(11)	-661(8)	3061(2)	9279(7)	52(2)
C(12)	-1894(8)	2980(2)	9149(8)	53(2)
C(13)	-2880(8)	3159(3)	8495(7)	59(2)
C(14)	-2631(9)	3426(4)	7913(9)	71(3)
C(15)	-1403(9)	3517(3)	8012(7)	61(2)
C(16)	3026(7)	3528(2)	8008(6)	44(2)
C(17)	4074(8)	3825(2)	8156(7)	52(2)
C(18)	3226(7)	3213(2)	7405(6)	46(2)
C(19)	2875(10)	3054(3)	5787(8)	65(3)
C(20)	4128(8)	3142(2)	5690(6)	46(2)
C(21)	4412(9)	3504(2)	5462(6)	48(2)
C(22)	5504(9)	3580(3)	5340(7)	59(2)

042910

C(23)	6360(9)	3281(3)	5425(8)	67(3)
C(24)	6068(10)	2917(3)	5643(9)	73(3)
C(25)	4979(10)	2851(3)	5777(7)	62(2)
N(1)	-1680(6)	1893(2)	7097(5)	36(1)
N(2)	-3652(6)	1572(2)	6561(5)	38(1)
N(3)	-5247(6)	1787(2)	7003(6)	50(2)
N(4)	3092(6)	3390(2)	8954(5)	44(2)
O(1)	-2035(5)	1369(2)	6152(5)	49(1)
O(2)	360(5)	2074(1)	7991(4)	39(1)
O(3)	1997(5)	2165(2)	6434(5)	50(2)
O(4)	1475(5)	2819(1)	8445(4)	39(1)
O(5)	805(5)	3441(1)	8776(4)	41(1)
O(6)	2374(5)	3056(2)	10168(4)	43(1)
O(7)	3851(6)	2925(2)	7682(5)	51(1)
O(8)	2644(6)	3304(2)	6471(5)	57(2)
P(1)	1979(2)	3167(1)	9166(1)	38(1)
F(1)	-960(4)	2496(2)	6274(4)	56(1)
F(2)	-474(5)	2023(2)	5530(4)	62(1)
C(26)	-2061(6)	6176(2)	4177(5)	33(1)
C(27)	-3538(6)	5940(2)	4770(6)	35(2)
C(28)	-2710(7)	5634(2)	5256(6)	38(2)
C(29)	-1565(7)	5637(2)	5238(6)	38(2)
C(30)	84(6)	5918(2)	4754(5)	32(1)
C(31)	1757(6)	5545(2)	4799(6)	34(2)
C(32)	2320(6)	5811(2)	5667(5)	34(2)
C(33)	1125(7)	6014(2)	5697(6)	38(2)
C(34)	2224(7)	5144(2)	4906(6)	35(2)
C(35)	882(8)	4453(2)	6664(7)	50(2)
C(36)	404(11)	4719(4)	7049(10)	78(3)
C(37)	-867(11)	4722(4)	6911(10)	88(4)
C(38)	-1658(11)	4449(4)	6353(11)	91(4)
C(39)	-1148(11)	4166(4)	5937(10)	84(4)
C(40)	101(10)	4166(3)	6074(9)	69(3)
C(41)	4806(7)	4794(2)	7341(6)	43(2)
C(42)	6103(8)	4628(3)	7868(8)	59(2)
C(43)	4987(7)	5214(3)	7111(7)	48(2)
C(44)	5647(11)	5817(3)	7891(9)	71(3)
C(45)	7060(10)	5779(2)	8217(8)	60(2)
C(46)	7713(12)	5808(4)	7623(9)	79(3)
C(47)	8991(14)	5754(5)	7926(10)	98(4)
C(48)	9642(12)	5675(4)	8866(10)	82(3)

042910

C(49)	9007(11)	5644(3)	9451(9)	74(3)
C(50)	7752(11)	5689(3)	9171(8)	67(3)
N(5)	-1179(5)	5908(2)	4744(5)	34(1)
N(6)	-3210(5)	6187(2)	4213(5)	35(1)
N(7)	-4662(6)	5986(2)	4836(5)	43(2)
N(8)	4159(6)	4572(2)	6488(5)	41(1)
O(9)	-1723(5)	6398(1)	3670(4)	40(1)
O(10)	423(4)	5538(1)	4567(4)	36(1)
O(11)	3246(5)	6065(2)	5588(4)	41(1)
O(12)	2070(5)	4969(1)	5727(4)	37(1)
O(13)	2175(5)	4448(2)	6814(4)	43(1)
O(14)	2253(5)	4294(1)	5142(4)	41(1)
O(15)	5126(5)	5327(2)	6402(4)	47(1)
O(16)	5079(6)	5439(2)	7854(5)	59(2)
P(2)	2638(2)	4552(1)	5976(1)	36(1)
F(3)	848(4)	5870(2)	6437(3)	53(1)
F(4)	1260(4)	6399(1)	5827(4)	52(1)
C(51)	1164(6)	6520(2)	10539(5)	33(2)
C(52)	-905(6)	6744(2)	9936(6)	35(2)
C(53)	-566(7)	7031(2)	9380(6)	40(2)
C(54)	599(7)	7038(2)	9410(6)	36(2)
C(55)	2751(6)	6779(2)	9946(5)	32(1)
C(56)	4386(6)	7140(2)	9914(5)	32(1)
C(57)	4124(6)	6867(2)	9056(5)	34(2)
C(58)	2905(7)	6665(2)	9004(5)	34(2)
C(59)	4765(6)	7544(2)	9783(6)	35(2)
C(60)	1742(7)	8055(2)	7650(7)	47(2)
C(61)	1252(10)	7835(3)	6826(8)	68(3)
C(62)	84(11)	7676(4)	6616(10)	82(3)
C(63)	-591(8)	7726(3)	7205(9)	64(3)
C(64)	-89(8)	7946(2)	7989(8)	54(2)
C(65)	1092(8)	8113(2)	8209(7)	52(2)
C(66)	5145(7)	7905(2)	7409(6)	41(2)
C(67)	6043(9)	8071(3)	6954(7)	53(2)
C(68)	5468(8)	7483(2)	7619(6)	42(2)
C(69)	5155(10)	6864(3)	6889(8)	60(2)
C(70)	6264(9)	6846(2)	6585(7)	53(2)
C(71)	6155(10)	6982(3)	5686(8)	59(2)
C(72)	7172(12)	6977(3)	5408(9)	71(3)
C(73)	8315(12)	6830(3)	5991(10)	75(3)
C(74)	8438(12)	6699(4)	6868(10)	81(3)

042910

C(75)	7418(11)	6703(3)	7169(8)	67(3)
N(9)	1491(5)	6777(2)	9943(5)	34(1)
N(10)	-10(5)	6508(2)	10508(5)	35(1)
N(11)	-2054(6)	6705(2)	9902(5)	41(2)
N(12)	5259(6)	8126(2)	8254(5)	41(1)
O(17)	2023(4)	6309(1)	11077(4)	39(1)
O(18)	3243(4)	7154(1)	10110(4)	35(1)
O(19)	5136(5)	6622(1)	9151(4)	39(1)
O(20)	3850(4)	7708(1)	8941(4)	37(1)
O(21)	2929(5)	8222(2)	7826(4)	46(1)
O(22)	4481(5)	8389(1)	9527(4)	41(1)
O(23)	6271(6)	7362(2)	8322(4)	49(1)
O(24)	4745(6)	7264(2)	6883(5)	53(2)
P(3)	4158(2)	8129(1)	8706(1)	36(1)
F(5)	1915(4)	6800(2)	8253(3)	50(1)
F(6)	2937(5)	6285(1)	8908(4)	53(1)
C(76)	3540(7)	11117(2)	8649(6)	35(2)
C(77)	1484(7)	10884(2)	8173(6)	39(2)
C(78)	1778(7)	10570(2)	7671(6)	40(2)
C(79)	2942(7)	10551(2)	7677(5)	35(2)
C(80)	5100(7)	10796(2)	8131(5)	35(2)
C(81)	6303(6)	10530(2)	7384(6)	35(2)
C(82)	6961(7)	10396(2)	8421(6)	40(2)
C(83)	6006(7)	10527(2)	8865(6)	41(2)
C(84)	6246(7)	10233(2)	6633(6)	39(2)
C(85)	3528(7)	9348(2)	6559(6)	38(2)
C(86)	2822(8)	9666(2)	6114(7)	48(2)
C(87)	1628(8)	9720(2)	6144(7)	48(2)
C(88)	1173(9)	9470(3)	6643(9)	67(3)
C(89)	1910(11)	9160(4)	7098(11)	94(5)
C(90)	3074(10)	9099(3)	7046(9)	71(3)
C(91)	7615(8)	9178(2)	7289(7)	49(2)
C(92)	8505(9)	8866(2)	7193(9)	64(3)
C(93)	8450(7)	9499(3)	7889(6)	47(2)
C(94)	9666(9)	9667(3)	9478(7)	62(3)
C(95)	10946(8)	9549(3)	9561(6)	50(2)
C(96)	11759(10)	9775(3)	9326(8)	61(2)
C(97)	12923(11)	9654(4)	9378(10)	84(4)
C(98)	13298(11)	9271(4)	9690(10)	84(4)
C(99)	12498(11)	9039(3)	9906(8)	70(3)
C(100)	11361(10)	9177(3)	9876(8)	63(3)

N(13)	3848(5)	10818(2)	8143(5)	34(1)
N(14)	2369(6)	11140(2)	8647(5)	38(1)
N(15)	343(6)	10931(2)	8180(5)	48(2)
N(16)	6823(6)	9309(2)	6359(5)	44(2)
O(25)	4392(5)	11344(2)	9089(4)	46(1)
O(26)	5042(5)	10633(1)	7266(4)	39(1)
O(27)	8180(5)	10544(2)	8843(5)	51(2)
O(28)	5706(5)	9886(1)	6841(4)	39(1)
O(29)	4702(5)	9262(1)	6535(4)	39(1)
O(30)	4937(5)	9639(1)	5117(4)	41(1)
O(31)	8836(5)	9768(2)	7578(5)	50(1)
O(32)	8700(6)	9428(2)	8821(5)	62(2)
P(4)	5510(2)	9535(1)	6125(1)	36(1)
F(7)	5347(5)	10213(1)	8974(4)	55(1)
F(8)	6542(5)	10684(2)	9723(4)	61(1)
C(101)	6810(20)	9411(8)	10080(20)	93(8)
C(102)	6300(20)	9155(6)	9290(15)	83(7)
N(17)	7140(30)	9630(9)	10710(20)	148(12)

Пример 2.

Растворимость NUC-1031 и его диастереоизомеров определяли в ряде фармацевтически приемлемых систем растворителей. Принятый способ являлся следующим:

Получали небольшой объем, 1-2 мл, каждой системы растворителей, и добавляли навеску рассматриваемого соединения. Растворы перемешивали в течение приблизительно 4 ч и затем фильтровали через мембрану 0,45 мкм. Концентрацию рассматриваемого соединения в фильтрате затем определяли посредством анализа ВЭЖХ.

На основании протокола дозирования гемцитабина, используемого для лечения рака поджелудочной железы, доза NUC-1031 с поправкой на молекулярную массу может составлять приблизительно 3200 мг, вводимые в форме инфузии раз в неделю. В качестве показателя необходимого уровня растворимости, принимая за гипотетическую цель объем инфузии 500 мл, необходимая растворимость NUC-1031 составляет >6 мг/мл в жидкости для инфузии. Однако этот уровень растворимости является только указанием, и приведенные ниже значения растворимости все еще могут обеспечивать эффективную терапию.

В табл. 5 показана растворимость смеси 2 эпимеров гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата в ряде растворителей, пригодных для внутривенного введения.

Таблица 5

Растворитель	Внешний вид	Анализ (мг/мл)
Этанол	Быстрое растворение, через 30 минут осадение в форме белой пасты	
Глицерин	Выраженное API	
Пропиленгликоль	Выраженное осадение через 30 минут	371
PEG 400	Выраженное осадение через 120 минут	385
NMP	Прозрачный раствор	>207
DMSO	Прозрачный раствор	>217

В табл. 6 показана растворимость двух эпимеров 3 и 4 гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]фосфата в ряде смесей растворитель/вода.

Таблица 6

Растворитель (процент по объему)	Растворимость (R) – эпимера 4 (мг/мл)	Растворимость (S) – эпимера 3 (мг/мл)
ПРОПИЛЕНГЛИКОЛЬ (10%)	0	0,23
ПРОПИЛЕНГЛИКОЛЬ (50%)	0,11	11,29
PEG400 (10%)	0	0,46
PEG400 (50%)	0,27	32,13
ЭТАНОЛ (10%)	0	0,27
ЭТАНОЛ (50%)	0,69	34,79

Как можно видеть из табл. 6, (R)-эпимер 4 является по существу нерастворимым в 10% смесях полярных органических растворителей с водой. Для (S)-эпимера 3, с другой стороны, показана значительно улучшенная растворимость. В 50% смесях полярных органических растворителей с водой, (S)-эпимер 3

может являться более, чем в 100 раз более растворимым, чем (R)-эпимер 4. (S)-эпимер может, таким образом, потенциально обеспечивать очень удобную и эффективную терапию.

Пример 3.

Для оценки дифференциального поглощения (R)- и (S)-эпимеров циклодекстрином, регистрировали спектры ^{31}P ЯМР смеси изомеров NUC-1031 после обработки HP- β -CD в D_2O .

Исследования ЯМР. ^1H ЯМР (500 МГц) и ^{31}P ЯМР (202 МГц) регистрировали на спектрометре Bruker Avance 500 МГц при 25°C. Химические сдвиги (S) приведены в миллионных долях (м.д.) относительно внешнего для D_2O (δ 4,9 ^1H ЯМР) или внутреннего для 85% H_3PO_4 (δ 0,00 ^{31}P ЯМР). Исследования как ВЭЖХ, так и ЯМР, проводили при комнатной температуре.

Исследования ВЭЖХ. Анализ высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) проводили с использованием системы ThermoScientific. Анализы обращеннофазовой ВЭЖХ проводили на SCIEN-TIFIC Hypersil Gold C18, 5 μ , 150 $\times$ 4,6 мм, с элюцией $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ от 90/10 до 0/100 в течение 30 мин при скорости потока 1 мл/мин и при длине волны для детекции 280 нм. Время удержания эпимеров NUC-1031 (растворенных в MeOH) наблюдали, соответственно, через 13,58 мин для (S)-эпимера 3 и через 13,44 мин для (R)-эпимера 4 в этих условиях (фиг. 5А).

2,36 мг смеси NUC-1031 (1:1,1 (S):(R)) взвешивали и переносили в пробирку для ЯМР. Затем 13,3 мг HP- β -CD растворяли в 1,3 мл оксида дейтерия, и этот раствор добавляли в пробирку для ЯМР (молярное соотношение 1:2,3 NUC1031: HP- β -CD) (ПРИМЕЧАНИЕ: не все твердые вещества растворялись в растворе).

Спектр ^{31}P ЯМР показывает, что HP- β -CD является способным увеличивать растворимость (S)-эпимера 3 NUC-1031 (4,14 Гц) по сравнению с (R)-эпимером (4,00 Гц), с наблюдаемым соотношением (S)- и (R)-эпимеров в растворе, составляющим 6,6:1 с преобладанием (S)-эпимера (фиг. 4).

0,5 мл раствора D_2O из исследования ЯМР разводили до 1 мл посредством добавления 0,5 мл воды (1,15 мг/мл). 20 мкл этого раствора инъецировали в ВЭЖХ.

Анализ ВЭЖХ разведенного образца для ЯМР подтвердил, что (S)-эпимер 3 поглощается раствором лучше, чем (R)-эпимер 4, с наблюдаемым соотношением (S)- и (R)-эпимеров в растворе, составляющим 5:1 с преобладанием (S)-эпимера, что в общих чертах соответствует данным ЯМР (фиг. 5В).

Подобные исследования, проведенные с другим производным фосфата гемцитабина, не показали различий между поглощением (S)- и (R)-эпимеров этого производного раствором циклодекстрина.

Пример 4.

На выведение и биодоступность большинства лекарственных средств сильно влияет их пресистемный метаболизм в печени. Можно определить относительную "устойчивость к метаболизму" в печени *in vitro* посредством инкубации соединений с криоконсервированными гепатоцитами и определения начального количества по сравнению с конечным количеством тестируемого соединения в инкубационных смесях. Следующий способ представляет собой анализ ВЭЖХ-MS/MS с использованием суспензии пулированных криоконсервированных гепатоцитов человека.

Схема анализа.

Гепатоциты человека: смешанный пол и пул из 10.

Конечная плотность клеток: 1 миллион (10^6) жизнеспособных клеток/мл.

Экспериментальный способ.

Пулированные криоконсервированные гепатоциты размораживают, промывают и ресуспендируют в буфере Кребса-Хенселейта (pH 7,3). Реакцию иницируют посредством добавления тестируемого соединения (конечная концентрация 1 мкМ) к суспензии клеток и инкубируют в конечном объеме 100 мкл в плоскодонном 96-луночном планшете в течение 0 и 120 мин, соответственно, при 37°C/5% CO_2 . Реакцию останавливают добавлением 100 мкл ацетонитрила в инкубационную смесь. Затем образцы осторожно и кратко перемешивают на встряхивателе для планшетов, полностью переносят в 0,8 мл 96-луночный планшет с V-образным дном, и центрифугируют при 2550 $\times$ g в течение 15 мин при комнатной температуре. Каждый супернатант (150 мкл) переносят в чистую кассетную пробирку с последующим анализом ВЭЖХ-MS/MS в тройной-квадрольной системе Thermo Electron.

Этот анализ модифицировали для определения времени полураспада. В этом случае, временные точки для отбора образцов представляют собой 0, 30, 60, 90 и 120 мин.

Эталонные соединения.

Четыре эталонных соединения (1 мкМ) тестировали одновременно с тестируемыми соединениями. Пропранолол является относительно стабильным в присутствии гепатоцитов человека, в то время как флуразепам, налоксон и терфенадин являются относительно нестабильными в присутствии гепатоцитов человека.

Аналитические способы.

Образцы анализировали посредством (RP)ВЭЖХ-MS/MS с использованием избирательного мониторинга реакций (SRM). Условия ВЭЖХ представляют собой насос для двухкомпонентных смесей HP1100 с автодозатором, с комбинированным режимом работы C-12, колонку 2 $\times$ 20 мм и градиент.

Анализ данных.

Площади пиков, соответствующих тестируемому соединению, регистрируют посредством ВЭЖХ-MS/MS. Устойчивость к метаболизму, выраженную как процент оставшегося тестируемого соединения, рассчитывают посредством сравнения площадей пиков тестируемого соединения через 2 ч и в нулевое время. В случае определения времени полураспада, время полураспада определяют по наклону начального линейного диапазона логарифмической кривой оставшегося тестируемого соединения (%) в зависимости от времени, принимая кинетику первого порядка.

Результаты показаны в табл. 7.

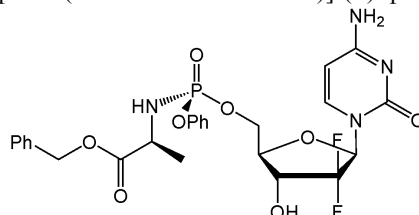
В табл. 7 показано собственное выведение S-эпимера, R-эпимера и смеси двух эпимеров.

Таблица 7

	Тестируемая концентрация (М)	Время инкубации (минут)	% оставшегося соединения				Время полураспада (минут)				Clint
			1-й	2-й	3-й	Средний	1-е	2-е	3-е	Среднее	
Смесь R/S	1,0E-06	0	100,0	100,0	100,0	100,0	72,9	72,5	82,2	76	13,10
	1,0E-06	30	64,3	68,7	74,3	69,1					13,10
	1,0E-06	60	56,5	56,3	60,3	57,7					13,10
	1,0E-06	90	59,6	55,9	45,2	53,6					13,10
	1,0E-06	120	36,9	56,8	53,9	49,2					13,10
S	1,0E-06	0	100,0	100,0	100,0	100,0	40,5	36,5	35,0	37	26,60
	1,0E-06	30	47,2	57,6	52,9	52,6					26,60
	1,0E-06	60	35,8	32,0	30,4	32,7					26,60
	1,0E-06	90	25,0	26,0	30,2	27,0					26,60
	1,0E-06	120	31,0	30,6	35,6	32,4					26,60
R	1,0E-06	0	100,0	100,0	100,0	100,0	471,6	>120	>120	>120	<8,2
	1,0E-06	30	80,2	86,9	94,3	87,1					<8,2
	1,0E-06	60	97,4	{2,1}	{1,3}	97,4					<8,2
	1,0E-06	90	73,6	91,6	88,0	84,4					<8,2
	1,0E-06	120	83,8	108,5	111,4	101,2					<8,2

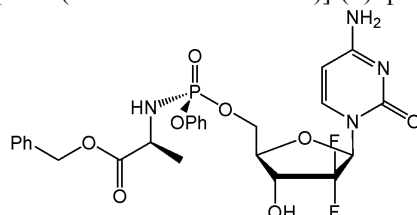
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3:



или его фармацевтически приемлемой соли, обладающих диастереоизомерной чистотой 90% или выше, для получения лекарственного средства для лечения злокачественной опухоли, выбранной из рака поджелудочной железы, рака яичника, рака легкого, рака мочевого пузыря, холангиокарциномы, злокачественной опухоли почки, рака шейки матки и злокачественной опухоли тимуса.

2. Применение гемцитабин[фенил(бензокси-L-аланинил)]-(S)-фосфата 3:



обладающего диастереоизомерной чистотой 90% или выше, для получения лекарственного средства для лечения злокачественной опухоли, выбранной из рака поджелудочной железы, рака яичника, рака легкого, рака мочевого пузыря, холангиокарциномы, злокачественной опухоли почки, рака шейки матки и злокачественной опухоли тимуса.

3. Применение по п.1 или 2, где злокачественная опухоль представляет собой рак поджелудочной железы.

4. Применение по п.1 или 2, где злокачественная опухоль представляет собой рак яичника.

5. Применение по п.1 или 2, где злокачественная опухоль представляет собой холангиокарциному.

6. Применение по любому из пп.1-5, где лекарственное средство содержит циклодекстрин.

7. Применение по любому из пп.1-6, где лекарственное средство предназначено для перорального введения.

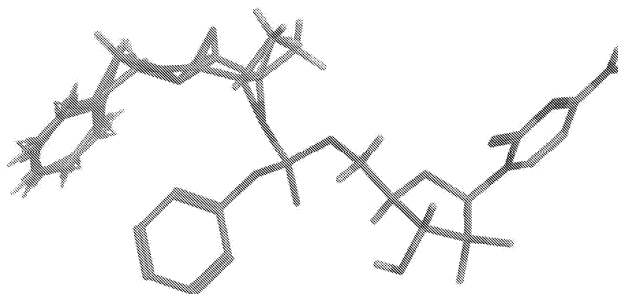
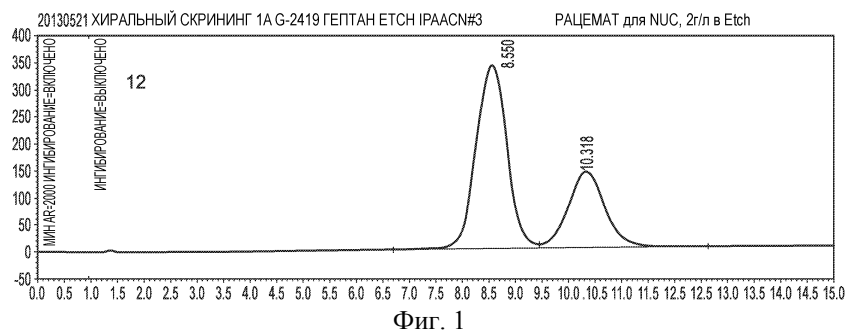
8. Применение по любому из пп.1-6, где лекарственное средство предназначено для внутривенного введения.

9. Применение по п.8, где лекарственное средство содержит полярный органический растворитель.

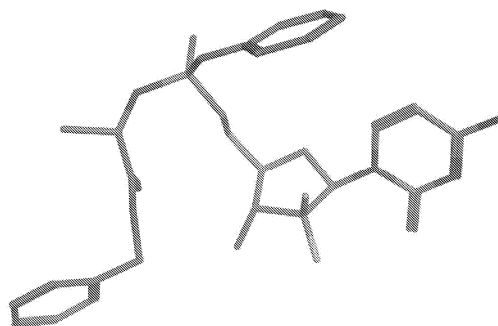
10. Применение по любому из пп.1-9, где диастереоизомерная чистота гемцитабин[фенил(бензоксип-аланинил)]-(S)-фосфата 3 выше 90%.

11. Применение по п.10, где диастереоизомерная чистота гемцитабин[фенил(бензоксип-аланинил)]-(S)-фосфата 3 выше 95%.

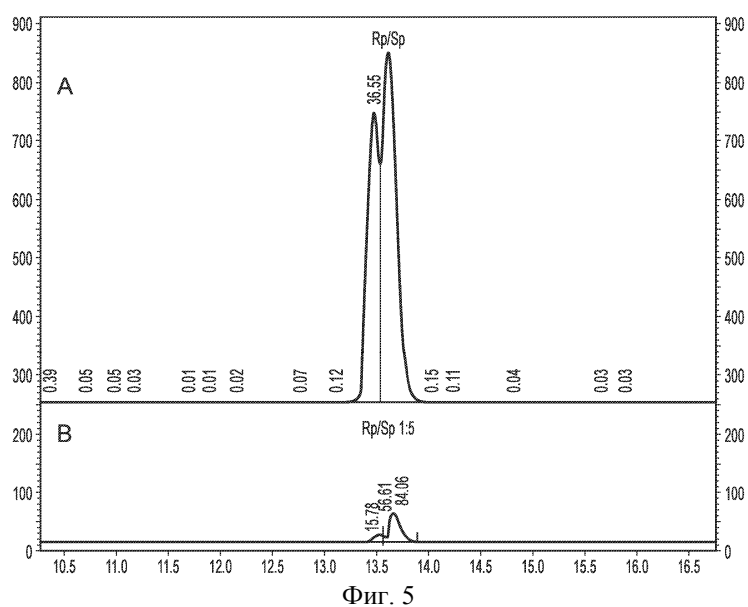
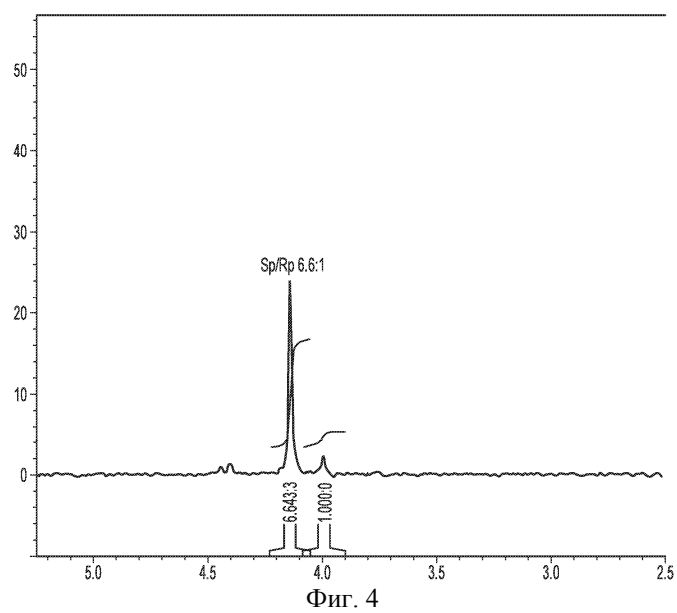
12. Применение по п.10, где диастереоизомерная чистота гемцитабин[фенил(бензоксип-аланинил)]-(S)-фосфата 3 выше 99,5%.



Фиг. 2



Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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