

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390092 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.21

(22) Дата подачи заявки
2021.06.21

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/02 (2006.01)
A61K 39/39 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 37/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07H 5/06 (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)
A61K 47/24 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)

(54) АДЬЮВАНТ С АКТИВНОСТЬЮ АГОНИСТА TLR4

(31) 2020-107194

(32) 2020.06.22

(33) JP

(86) PCT/JP2021/023402

(87) WO 2021/261444 2021.12.30

(71) Заявитель:
СУМИТОМО ФАРМА КО., ЛТД. (JP)

(72) Изобретатель:

Бан Хитоси, Имазаки Юсукэ,
Таканаси Йосукэ, Фукусима Акихиса
(JP)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Изобретение относится к соединению, полезному в качестве адьюванта вакцины, способу его получения, фармацевтической композиции, содержащей такое соединение, и применению соединения в качестве адьюванта вакцины.

A1

202390092

202390092

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576820EA/042

АДЬЮВАНТ С АКТИВНОСТЬЮ АГОНИСТА TLR4

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0001]

Настоящее изобретение относится к соединению, полезному в качестве адьюванта вакцины, способу его изготовления, фармацевтической композиции, включающей соединение, и применению соединения в качестве адьюванта вакцины.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002]

Вакцина, включающая неполный белок/пептид, полученный из некоторого белка, продуцируемого микроорганизмами, имеет преимущество с точки зрения безопасности и способа получения, поскольку ее можно получить методом химического синтеза или генной инженерии. С другой стороны, такая вакцина, как правило, имеет более слабую эффективность, чем живая или инактивированная вакцина, полученная из необработанных бактерий, и иногда к вакцине добавляют адьювант для повышения иммуногенности. В качестве адьюванта для вакцины часто используют квасцы, а недавно вакцина, включающая в качестве адьюванта дезацил-4'-монофосфорилилипид А (MPL), который является агонистом Toll-подобного рецептора 4 (TLR4), была одобрена для коммерческого использования (Непатентная литература 1).

[0003]

Известно, что TLR4 может образовывать гетеродимер с MD-2 (миелоидный фактор дифференцировки 2) и активировать путь TLR4. Липополисахарид (LPS), который известен как один из агонистов TLR4, имеет структуру липида А, которая состоит из фосфорилированного дисахарида и боковой цепи жирной кислоты (непатентная литература 2), и сообщалось, что липид А взаимодействует как с TLR4, так и с MD-2, играя важную роль в формировании гетеродимера (Непатентная литература 3).

[0004]

LPS может быть преобразован в вышеуказанный MPL путем детоксикации (Непатентная литература 1), и, таким образом, MPL представляет собой смесь нескольких соединений, состоящих из фосфорилированного дисахарида и боковой цепи жирной кислоты, подобно LPS (Непатентная литература 4). Рентгеноструктурный анализ показывает, что фосфатная группа взаимодействует как с TLR4, так и с MD-2 (Непатентная литература 3), а также известно, что активность MPL сильно снижается при удалении фосфатной группы из липида А (Непатентная литература 2). Сообщалось также, что структура жирной кислоты в нем также важна для агонистического действия MPL на TLR4, и иногда эффект MPL может измениться на антагонистический эффект в зависимости от структуры боковой цепи жирной кислоты (Непатентная литература 2).

[0005]

Соединения, полученные из биологических компонентов, таких как MPL, имеют

проблемы с изготовлением и, таким образом, были изучены некоторые синтетические агонисты TLR4, имитирующие MPL. Например, в патентной литературе 1 и 2 сообщалось, что структура фосфорилированного дисахарида, которая является основной структурой аминокислоты гликозилфосфата (AGP), была преобразована в его фосфорилированную моносахаридную структуру, и тогда фосфатная группа стала существенной структурой в AGP. И в непатентной литературе 5 также описаны подробные исследования боковой цепи жирной кислоты в AGP, в которых агонистический эффект TLR4 AGP был дезактивирован путем трансформации боковой цепи жирной кислоты, как в случае липида А.

Считается, что синтетический агонист TLR4, который имеет структуру, содержащую фосфатную группу, такую как AGP, невыгоден с точки зрения стоимости изготовления или стабильности при хранении, но в прошлых отчетах об исследованиях не было сообщений об адъювантах вакцин, которые являются агонистами TLR4, имеющими сахарид и боковую цепь жирной кислоты в качестве основных структур, но не имеющими фосфатной группы, которые при этом сохраняют агонистический эффект в отношении TLR4.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[Ссылки на патентную литературу]

[0006]

[Патентная литература] WO 1998/050399

[Патентная литература 2] WO 2001/034617

[Ссылки на непатентную литературу]

[0007]

[Непатентная литература 1] Cervarix interview form

[Непатентная литература 2] *Microbes Infect.* 2002 Jul; 4(8): 837-51.

[Непатентная литература 3] *Nature.* 2009 Apr 30; 458(7242): 1191-5.

[Непатентная литература 4] *Regul Toxicol Pharmacol.* 2002 Jun; 35(3): 398-413.

[Непатентная литература 5] *J Biol Chem.* 2004 Feb 6; 279(6): 4440-9

Сущность изобретения

[0008]

(Техническая задача)

Целью настоящего изобретения может быть обеспечение агониста TLR4, обладающего сильным адъювантным эффектом, даже не имея фосфатной группы.

[0009]

(Решение задачи)

Авторы настоящего изобретения провели всесторонние исследования, чтобы найти агонист TLR4, обладающий сильным адъювантным эффектом, были найдены некоторые соединения, которые сохраняют агонистический эффект в отношении TLR4 за счет соответствующей трансформации их боковой цепи жирной кислоты, даже не имея фосфатной группы в структуре сахара. Кроме того, авторы настоящего изобретения

обнаружили, что эти соединения обладают превосходным адьювантным эффектом. На основании полученных данных было создано настоящее изобретение. В соответствии с настоящим изобретением предложено производное агониста TLR4 следующей формулы (1) (далее также называемое "соединение по настоящему изобретению").

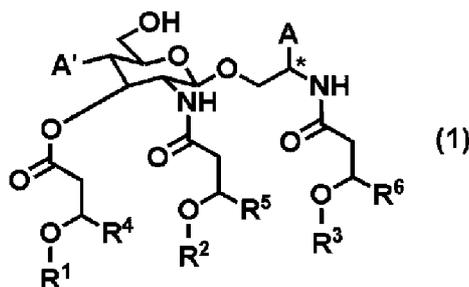
[0010]

Настоящее изобретение описано ниже.

[0011]

(Пункт 1)

Соединение формулы (1):



или его фармацевтически приемлемая соль, где

A и A' независимо представляют собой водород, гидроксид или $-(CH_2)_m-COOH$, при условии, что по меньшей мере один из A или A' представляет собой $-(CH_2)_m-COOH$,

R^1 представляет собой $-C(O)(CH_2)_n-X$ или $-CH_2-(CH_2)_n-X$,

R^2 представляет собой $-C(O)(CH_2)_o-Y$ или $-CH_2-(CH_2)_o-Y$,

R^3 представляет собой $-C(O)(CH_2)_p-Z$ или $-CH_2-(CH_2)_p-Z$,

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C_{6-10} арил (указанный C_{6-10} арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси), при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C_{6-10} арил (указанный C_{6-10} арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидроксид, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси),

при условии, что когда A представляет собой $-COOH$ и стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил,

R^4 , R^5 и R^6 независимо представляют собой C_{10-20} алкил,

m независимо представляет собой целое число от 0 до 6, и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 5 до 20.

[0012]

(Пункт 2)

Соединение по пункту 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где m имеет

значение 0.

[0013]

(Пункт 3)

Соединение по пункту 1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 представляет собой $-C(O)(CH_2)_n-X$, R^2 представляет собой $-C(O)(CH_2)_o-Y$ и R^3 представляет собой $-C(O)(CH_2)_p-Z$.

[0014]

(Пункт 4)

Соединение по любому из пунктов 1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, где А представляет собой $COOH$.

[0015]

(Пункт 5)

Соединение по любому из пунктов 1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где А представляет собой $COOH$ и А' представляет собой гидроксид.

[0016]

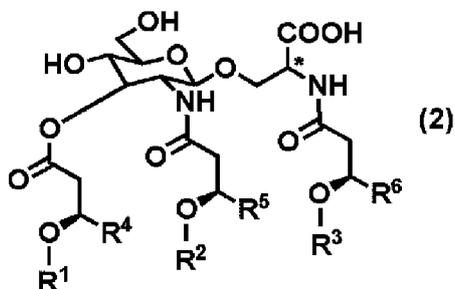
(Пункт 6)

Соединение по любому из пунктов 1-5 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^4 , R^5 и R^6 независимо представляют собой C_{10-12} алкил.

[0017]

(Пункт 7)

Соединение по пункту 1, которое представлено формулой (2):



где

R^1 представляет собой $-C(O)(CH_2)_n-X$,

R^2 представляет собой $-C(O)(CH_2)_o-Y$,

R^3 представляет собой $-C(O)(CH_2)_p-Z$,

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C_{6-10} арил или 5-10-членный гетероарил, при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C_{6-10} арил или 5-10-членный гетероарил,

при условии, что когда стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил,

R^4 , R^5 и R^6 независимо представляют собой C_{10-12} алкил, и

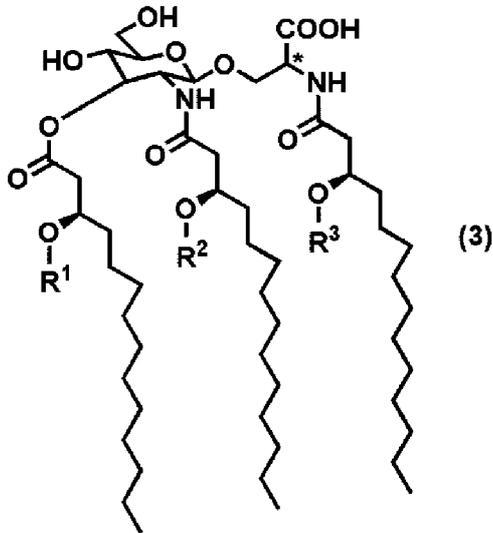
n, o и p независимо представляют собой целое число от 6 до 10,

или его фармацевтически приемлемая соль.

[0018]

(Пункт 8)

Соединение по пункту 1, которое представлено формулой (3):



где

R¹ представляет собой -C(O)(CH₂)_n-X,R² представляет собой -C(O)(CH₂)_o-Y,R³ представляет собой -C(O)(CH₂)_p-Z,

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил, при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил,

при условии, что когда стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил, и

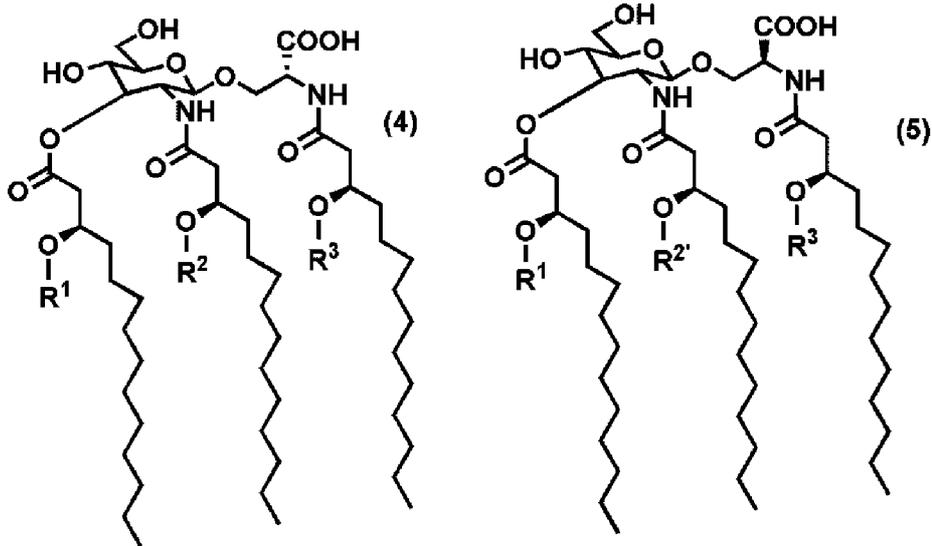
n, o и p независимо представляют собой целое число от 6 до 10,

или его фармацевтически приемлемая соль.

[0019]

(Пункт 9)

Соединение по пункту 1, которое представлено формулой (4) или формулой (5):



где

R^1 представляет собой $-C(O)(CH_2)_n-X$,

R^2 представляет собой $-C(O)(CH_2)_o-Y$,

R^3 представляет собой $-C(O)(CH_2)_p-Z$,

$R^{2'}$ представляет собой $-C(O)(CH_2)_o-CH_3$,

X , Y и Z независимо представляют собой метил, C_{6-10} арил или 5-10-членный гетероарил, при условии, что по меньшей мере один из X , Y или Z в формуле (4) представляет собой C_{6-10} арил или 5-10-членный гетероарил, и по меньшей мере один из X или Z в формуле (5) представляет собой C_{6-10} арил или 5-10-членный гетероарил, и

n , o и p независимо представляют собой целое число от 7 до 9,

или его фармацевтически приемлемая соль.

[0020]

(Пункт 10)

Соединение по любому из пунктов 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль,

где

X , Y и Z независимо представляют собой метил или фенил, при условии, что по меньшей мере один из X , Y или Z представляет собой фенил,

при условии, что когда A представляет собой $-COOH$ и стереохимия * представляет собой S -конфигурацию, Y представляет собой метил.

[0021]

(Пункт 11)

Соединение по пункту 1, которое выбрано из следующей группы соединений:

(2R)-2-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-3-{{[3-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-{{[(3R)-3-[(9-фенилнаноил)окси]тетрадеcanoил}окси]оксан-2-ил]окси}}пропановая кислота (Пример 1),

(2S)-2-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-3-{{[3-{{[(3R)-3-

(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-((3R)-3-[(9-фенилнонаноил)окси]тетрадеcanoил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота (Пример 2),

(2R)-2-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-3-{{4-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил}окси}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-3-((3R)-3-[(9-фенилнонаноил)окси]тетрадеcanoил}амино)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота (Пример 3),

(2R)-2-(((3R)-3-(9-фенилнонаноил)окси]тетрадеcanoил}амино)-3-{{3-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-((3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота (Пример 4), и

(2S)-2-(((3R)-3-(9-фенилнонаноил)окси]тетрадеcanoил}амино)-3-{{3-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-((3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота (Пример 5),

или его фармацевтически приемлемая соль.

[0022]

(Пункт 12)

Фармацевтическая композиция, включающая соединение по любому из пунктов 1-11 или его фармацевтически приемлемую соль.

[0023]

(Пункт 13)

Фармацевтическая композиция по пункту 12, которая представляет собой липидную композицию.

[0024]

(Пункт 14)

Фармацевтическая композиция по пункту 12 или 13, где липидная композиция представляет собой липосомальную композицию, включающую фосфолипид.

[0025]

(Пункт 15)

Фармацевтическая композиция по пункту 14, где фосфолипид представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин и фосфатидилглицерин яичного желтка.

[0026]

(Пункт 16)

Фармацевтическая композиция по пункту 14 или 15, где липидная композиция включает по меньшей мере одну добавку, выбранную из группы, состоящей из неорганической кислоты, соли неорганической кислоты, органической кислоты, соли органической кислоты, сахаров, буферного агента, антиоксиданта и полимеров.

[0027]

(Пункт 17)

Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 12-16, которая дополнительно включает антиген.

[0028]

(Пункт 18)

Фармацевтическая композиция по пункту 17, где антиген представляет собой антиген, происходящий из патогена.

[0029]

(Пункт 19)

Адьювант вакцины, включающий соединение по любому из пунктов 1-11 или его фармацевтически приемлемую соль.

[0030]

(Пункт 20)

Адьювант вакцины по пункту 19, который представляет собой адьювант для противоинфекционной вакцины.

[0031]

(Пункт 21)

Лекарственное средство для лечения или профилактики инфекции, включающее соединение по любому из пунктов 1-11 или его фармацевтически приемлемую соль, которое используют в комбинации с антигеном, происходящим из патогена.

[0032]

(Пункт 22)

Соединение по любому из пунктов 1-11 или его фармацевтически приемлемая соль, которое используют в качестве адьюванта вакцины.

[0033]

(Пункт 23)

Способ усиления специфического иммунного ответа у млекопитающего на антиген, включающий введение млекопитающему соединения по любому из пунктов 1-11 или его фармацевтически приемлемой соли.

[0034]

(Пункт 24)

Применение соединения по любому из пунктов 1-11 или его фармацевтически приемлемой соли для получения адьюванта вакцины.

[0035]

(Пункт 25)

Набор, включающий

а) соединение по пункту 1 или его фармацевтически приемлемую соль, или фармацевтическую композицию, включающую соединение по пункту 1 или его фармацевтически приемлемую соль; и

б) фармацевтическую композицию, включающую антиген.

[0036]

(Пункт 26)

Набор по пункту 25, где антиген представляет собой антиген, происходящий из

патогена.

[0037]

(Эффект изобретения)

Соединение по настоящему изобретению проявляет агонистический эффект в отношении TLR4 за счет подходящей трансформации боковой цепи жирной кислоты, даже не имея фосфатной группы в структуре сахара, что имеет сильный адьювантный эффект. Соединение по настоящему изобретению обладает высокой стабильностью при хранении, поскольку оно не имеет фосфатной группы в структуре сахара, и стоимость изготовления может быть снижена, поскольку отсутствует процесс введения фосфатной группы. Таким образом, соединение по настоящему изобретению является очень полезным в качестве адьюванта вакцины.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0038]

Фиг. 1 представляет график, показывающий результаты измерения OVA-специфического IgG2c в сыворотке иммунизированных мышей у мышей, которым внутримышечно вводили композицию, полученную в Примере 6 или 7, методом ELISA в испытании 3. Вертикальная ось показывает титр антител OVA-специфического IgG2c в сыворотке. Горизонтальная ось показывает введенный образец (введенная доза в скобках). 1: группа отрицательного контроля (забуференный фосфатом физиологический раствор), 2: группа введения Примера 6 (соединение Примера 1, 10 мкг/мышь), 3: группа введения Примера 6 (соединение Примера 1, 100 мкг/мышь), 4: группа введения Примера 7 (соединение Примера 2, 10 мкг/мышь), 5: группа введения Примера 7 (соединение Примера 2, 100 мкг/мышь).

Фиг. 2 представляет график, показывающий результаты измерения OVA-специфического IgG2c в сыворотке иммунизированных мышей у мышей, которым внутримышечно вводили композицию, полученную в Ссылочном примере 16 или Примере 6, методом ELISA в испытании 3. Вертикальная ось показывает титр антител OVA-специфического IgG2c в сыворотке. Горизонтальная ось показывает введенный образец (введенная доза в скобках). 1: группа отрицательного контроля (забуференный фосфатом физиологический раствор), 2: группа введения Ссылочного примера 16 (соединение Ссылочного примера 9, 10 мкг/мышь), 3: группа введения Ссылочного примера 16 (соединение Ссылочного примера 9, 100 мкг/мышь), 4: группа введения Примера 6 (соединение Примера 1, 10 мкг/мышь), 5: группа введения Примера 6 (соединение Примера 1, 100 мкг/мышь).

Фиг. 3 представляет график, показывающий результаты оценки, выполненной в Испытании 4, показывающий процент хелперных Т-клеток типа 1 в клетке селезенки мыши, которой внутримышечно вводили композицию, полученную в Примере 6 или 7. Горизонтальная ось такая же, как на Фиг. 1.

Фиг. 4 представляет график, показывающий результаты оценки, выполненной в Испытании 4, показывающий процент хелперных Т-клеток типа 1 в клетках селезенки

мышь, которой внутримышечно вводили композицию, полученную в Ссылочном примере 16 или Примере 6. Горизонтальная ось такая же, как на Фиг. 2.

Фиг. 5 представляет график, показывающий результаты оценки, выполненной в Испытании 4, показывающий процент OVA тетрамер-положительных CD8 Т-клеток в клетках селезенки мыши, которой внутримышечно вводили композицию, полученную в Примере 6 или Примере 7. Горизонтальная ось такая же, как на Фиг. 1.

Фиг. 6 представляет график, показывающий результаты оценки, выполненной в Испытании 4, показывающий процент OVA тетрамер-положительных CD8 Т-клеток в клетках селезенки мыши, которой внутримышечно вводили композицию, полученную в Ссылочном примере 16 или Примере 6. Горизонтальная ось такая же, как на Фиг. 2.

Фиг. 7 представляет график, показывающий результаты оценки, выполненной в Испытании 4, показывающий процент эффекторных CD8 Т-клеток памяти в клетках селезенки мыши, которой внутримышечно вводили композицию, полученную в Примере 6 или 7. Горизонтальная ось такая же, как на Фиг. 1.

Фиг. 8 представляет график, показывающий результаты оценки, выполненной в Испытании 4, показывающий процент эффекторных CD8 Т-клеток памяти в клетках селезенки мыши, которой внутримышечно вводили композицию, полученную в Ссылочном примере 16 или Примере 6. Горизонтальная ось такая же, как на Фиг. 2.

ОПИСАНИЕ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0039]

Далее термины, используемые в настоящей заявке, поясняются следующим образом.

[0040]

Количество заместителей, которые определены после слов "необязательно замещенный" или "замещенный" не должно ограничиваться, если возможно такое замещение. Если не указано иное, определение каждой группы-заместителя также распространяется на случай частичного включения группы-заместителя или случай, когда группа-заместитель присутствует в другой группе-заместителе.

[0041]

"Галоген", используемый в настоящей заявке, включает, например, фтор, хлор, бром и йод. Предпочтительно он представляет собой фтор или хлор, более предпочтительно фтор.

[0042]

"C₁₋₆ алкил" означает насыщенную углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью, содержащую 1-6 атомов углерода. C₁₋₆ алкил предпочтительно включает "C₁₋₄ алкил", более предпочтительно "C₁₋₃ алкил". "C₁₋₆ алкил" включает, например, метил, этил, пропил, 1-метилэтил, бутил, 2-метилпропил, 1-метилпропил, 1,1-диметилэтил, пентил, 3-метилбутил, 2-метилбутил, 2,2-диметилпропил, 1-этилпропил, 1,1-диметилпропил, гексил, 4-метилпентил, 3-метилпентил, 2-метилпентил и 1-метилпентил, и "C₁₋₄ алкил" включает примеры "C₁₋₆ алкила" при условии, что число атомов углерода

составляет 1-4. "C₁₋₃ алкил" включает примеры "C₁₋₆ алкила" при условии, что число атомов углерода составляет 1-3.

[0043]

"C₁₋₆ алкокси" означает "C₁₋₆ алкилокси", и часть "C₁₋₆ алкил" имеет значение, определенное в указанном "C₁₋₆ алкиле". "C₁₋₆ алкокси" предпочтительно включает "C₁₋₄ алкокси", более предпочтительно "C₁₋₃ алкокси". "C₁₋₆ алкокси" включает, например, метокси, этокси, пропокси, 1-метилэтокси, бутокси, 2-метилпропокси, 1-метилпропокси, 1,1-диметилэтокси, пентилокси, 3-метилбутокси, 2-метилбутокси, 2,2-диметилпропокси, 1-этилпропокси, 1,1-диметилпропокси, гексилокси, 4-метилпентилокси, 3-метилпентилокси, 2-метилпентилокси, 1-метилпентилокси, 3,3-диметилбутокси, 2,2-диметилбутокси, 1,1-диметилбутокси и 1,2-диметилбутокси, и "C₁₋₄ алкокси" включает примеры "C₁₋₆ алкокси" при условии, что число атомов углерода составляет 1-4. "C₁₋₃ алкокси" включает примеры "C₁₋₆ алкокси" при условии, что число атомов углерода составляет 1-3.

[0044]

"C₁₀₋₂₀ алкил" означает насыщенную углеводородную группу с прямой или разветвленной цепью, содержащую 10-20 атомов углерода. C₁₀₋₂₀ алкил предпочтительно включает "C₁₀₋₁₅ алкил", более предпочтительно "C₁₀₋₁₂ алкил" и еще более предпочтительно "C₁₀₋₁₂ алкил" с прямой цепью. "C₁₀₋₂₀ алкил" с прямой цепью включает, например, децил, ундецил, додецил, тридецил, тетрадецил, пентадецил, гексадецил, гептадецил, октадецил, нонадецил и эйкозил, и "C₁₀₋₁₅ алкил" включает приведенные выше примеры "C₁₀₋₂₀ алкила", где число атомов углерода составляет 10-15. "C₁₀₋₁₂ алкил" включает приведенные выше примеры "C₁₀₋₂₀ алкила", где число атомов углерода составляет 10-12.

[0045]

"C₆₋₁₀ арил" означает ароматический углеводород, содержащий 6-10 атомов углерода. "C₆₋₁₀ арил" включает, например, фенил, 1-нафтил и 2-нафтил и более предпочтительно фенил.

[0046]

"5-10-членный гетероарил" означает моноциклическую 5-7-членную ароматическую или бициклическую 8-10-членную ароматическую гетероциклическую группу, включающую 1-4 атомов, независимо выбранных из атома азота, атома кислорода и атома серы. "5-10-членный гетероарил" предпочтительно включает "5-7-членный гетероарил", более предпочтительно 5-7-членный ароматический гетероцикл, имеющий один или несколько атомов азота в кольце ("5-7-членный азотсодержащий гетероарил").

"5-10-членный гетероарил" включает, например, пиридил, пиридазинил, изотиазолил, пирролил, фурил, тиенил, тиазолил, имидазолил, пиримидинил, тиадиазолил, пиразолил, оксазолил, изоксазолил, пиразинил, триазинил, триазолил, имидазолидинил, оксадиазолил, триазолил, тетразолил, индолил, индазолил, хинолил, изохинолил, бензофуранил, бензотиенил, бензоксазолил, бензотиазолил, бензизоксазолил,

бензизотиазолил, бензотриазолил, бензимидазолил и 6,11-дигидродибензо[b, e]тиепинил, предпочтительно пиридил, пиримидинил, хинолил и изохинолил и более предпочтительно пиридил.

"5-7-членный гетероарил" включает, например, моноциклические группы в приведенных выше примерах "5-10-членного гетероарила". "5-7-членный азотсодержащий гетероарил" включает, например, азотсодержащие моноциклические группы в приведенных выше примерах "5-10-членного гетероарила".

[0047]

C_{6-10} арил, используемый в настоящей заявке, может содержать 1-5 заместителей, независимо выбранных из гидроксигруппы, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси. 5-10-членный гетероарил может содержать 1-4 заместителя, независимо выбранных из гидроксигруппы, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси. Число заместителей, которые могут быть у C_{6-10} арила или 5-10-членного гетероарила предпочтительно составляет 1-3, более предпочтительно 1-2 и еще более предпочтительно 1.

[0048]

В соединениях по настоящему изобретению формул (1) - (5), предпочтительные A, A', R^1 , R^2 , R^3 , X, Y, Z, R^4 , R^5 , R^6 , m, n, o и p показаны ниже, но технический объем настоящего изобретения не ограничивается объемом соединений, перечисленных ниже.

[0049]

A предпочтительно включает водород, гидроксигруппу и $-(CH_2)_m-COOH$, более предпочтительно $-(CH_2)_m-COOH$ и еще более предпочтительно $-COOH$.

[0050]

A' предпочтительно включает водород, гидроксигруппу и $-(CH_2)_m-COOH$, более предпочтительно гидроксигруппу.

[0051]

Комбинация A и A' предпочтительно включает комбинацию A и A', где по меньшей мере один из A и A' представляет собой $-(CH_2)_m-COOH$. Более предпочтительно комбинация включает комбинацию, где A представляет собой $-(CH_2)_m-COOH$ и A' представляет собой гидроксигруппу. Еще более предпочтительно комбинация включает комбинацию, где A представляет собой $-COOH$ и A' представляет собой гидроксигруппу.

[0052]

R^1 предпочтительно включает $-C(O)(CH_2)_n-X$ и $-CH_2-(CH_2)_n-X$, более предпочтительно $-C(O)(CH_2)_n-X$.

[0053]

R^2 предпочтительно включает $-C(O)(CH_2)_o-Y$ и $-CH_2-(CH_2)_o-Y$, более предпочтительно $-C(O)(CH_2)_o-Y$.

[0054]

$R^{2'}$ предпочтительно включает $-C(O)(CH_2)_o-CH_3$.

[0055]

R^3 предпочтительно включает $-C(O)(CH_2)_p-Z$ и $-CH_2-(CH_2)_p-Z$, более

предпочтительно $-C(O)(CH_2)_p-Z$.

[0056]

X предпочтительно включает метил, C_{6-10} арил (указанный C_{6-10} арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси) и 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси), более предпочтительно метил и C_{6-10} арил, более предпочтительно метил и фенил, и еще более предпочтительно фенил.

[0057]

Y предпочтительно включает метил, C_{6-10} арил (указанный C_{6-10} арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси) и 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси), более предпочтительно метил и C_{6-10} арил, еще более предпочтительно метил и фенил, и и еще более предпочтительно метил.

[0058]

Z предпочтительно включает метил, C_{6-10} арил (указанный C_{6-10} арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси) и 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси), более предпочтительно метил и C_{6-10} арил, еще более предпочтительно метил и фенил, и еще более предпочтительно метил.

[0059]

Комбинация X, Y и Z предпочтительно включает комбинацию X, Y и Z, где по меньшей мере один из X, Y и Z представляет собой C_{6-10} арил (указанный C_{6-10} арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси), при условии, что когда A представляет собой $-COOH$ и стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, комбинация включает комбинацию X, Y и Z, где Y представляет собой метил и по меньшей мере один из X и Z представляет собой C_{6-10} арил (указанный C_{6-10} арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидрокси, C_{1-6} алкила, галогена, циано и C_{1-6} алкокси).

Более предпочтительно, комбинация X, Y и Z включает комбинацию X, Y и Z, где по меньшей мере один из X, Y и Z представляет собой C_{6-10} арил или 5-10-членный гетероарил, при условии, что когда A представляет собой $-COOH$ и стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, комбинация включает комбинацию X, Y и Z, где Y

представляет собой метил и по меньшей мере один из X и Z представляет собой C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил.

Еще более предпочтительно, комбинация X, Y и Z включает комбинацию X, Y и Z, где по меньшей мере один из X, Y и Z представляет собой фенил при условии, что когда A представляет собой -COOH и стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, комбинация включает комбинацию X, Y и Z, где Y представляет собой метил и по меньшей мере один из X и Z представляет собой фенил.

Еще более предпочтительно, комбинация X, Y и Z включает комбинацию X, Y и Z, где X представляет собой фенил и Y и Z представляют собой метил.

[0060]

R⁴, R⁵ и R⁶, независимо, включают предпочтительно C₁₀₋₂₀ алкил, более предпочтительно C₁₀₋₁₅ алкил, более предпочтительно C₁₀₋₁₂ алкил и еще более предпочтительно C₁₁ алкил.

[0061]

m предпочтительно включает целое число от 0 до 6, более предпочтительно целое число от 0 до 1 и еще более предпочтительно 0.

[0062]

n, o и p, независимо, включают предпочтительно целое число от 5 до 20, более предпочтительно целое число от 6 до 10, еще более предпочтительно 7-9 и еще более предпочтительно 8.

[0063]

Предпочтительные варианты осуществления соединений формулы (1) включают следующие соединения или их фармацевтически приемлемые соли.

[0064]

В одном варианте осуществления соединение по настоящему изобретению формулы (1) включает следующее (A).

(A)

Соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемая соль, где

A представляет собой водород, гидроксильную группу или -(CH₂)_m-COOH;

A' представляет собой водород, гидроксильную группу или -(CH₂)_m-COOH;

при условии, что по меньшей мере один из A или A' представляет собой -(CH₂)_m-COOH;

R¹ представляет собой -C(O)(CH₂)_n-X или -CH₂-(CH₂)_n-X;

R² представляет собой -C(O)(CH₂)_o-Y или -CH₂-(CH₂)_o-Y;

R³ представляет собой -C(O)(CH₂)_p-Z или -CH₂-(CH₂)_p-Z;

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C₆₋₁₀ арил (указанный C₆₋₁₀ арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидроксильной группы, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидроксильной группы, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси);

при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C₆₋₁₀ арил (указанный C₆₋₁₀ арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидроксиды, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидроксиды, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси),

при условии, что когда A представляет собой -COOH и стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил;

R⁴, R⁵ и R⁶ независимо представляют собой C₁₀₋₂₀ алкил;

m независимо представляет собой целое число от 0 до 6; и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 5 до 20.

[0065]

В одном варианте осуществления соединение по настоящему изобретению формулы (1) включает следующее (B).

(B)

Соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемая соль, где

A представляет собой -COOH;

A' представляет собой гидроксиды;

R¹ представляет собой -C(O)(CH₂)_n-X;

R² представляет собой -C(O)(CH₂)_o-Y;

R³ представляет собой -C(O)(CH₂)_p-Z;

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил;

при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил,

при условии, что когда стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил;

R⁴, R⁵ и R⁶ независимо представляют собой C₁₀₋₁₂ алкил; и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 6 до 10.

[0066]

В одном варианте осуществления соединение по настоящему изобретению формулы (1) включает следующее (C).

(C)

Соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемая соль, где

A представляет собой -COOH;

A' представляет собой гидроксиды;

R¹ представляет собой -C(O)(CH₂)_n-X;

R² представляет собой -C(O)(CH₂)_o-Y;

R³ представляет собой -C(O)(CH₂)_p-Z;

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил;

при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил,

при условии, что когда стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил,

R⁴, R⁵ и R⁶ независимо представляют собой ундецил; и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 6 до 10.

[0067]

В одном варианте осуществления соединение по настоящему изобретению формулы (1) включает следующее (D).

(D)

Соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемая соль, где

A представляет собой -COOH;

A' представляет собой гидроксигруппу;

R¹ представляет собой -C(O)(CH₂)_n-X;

R² представляет собой -C(O)(CH₂)_o-Y;

R³ представляет собой -C(O)(CH₂)_p-Z;

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил;

при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C₆₋₁₀ арил и 5-10-членный гетероарил,

при условии, что когда стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил;

R⁴, R⁵ и R⁶ независимо представляют собой ундецил; и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 7 до 9.

[0068]

В одном варианте осуществления соединение формулы (1) включает следующую группу соединений:

(2R)-2-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}}-3-{{[3-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-{{(3R)-3-[(9-фенилnonаноил)окси]тетрадеcanoил}}окси)оксан-2-ил]окси}}пропановая кислота (Пример 1);

(2S)-2-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}}-3-{{[3-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-{{(3R)-3-[(9-фенилnonаноил)окси]тетрадеcanoил}}окси)оксан-2-ил]окси}}пропановая кислота (Пример 2);

(2R)-2-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}}-3-{{[4-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]окси}}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-3-{{(3R)-3-[(9-фенилnonаноил)окси]тетрадеcanoил}}амино)оксан-2-ил]окси}}пропановая кислота (Пример 3);

(2R)-2-{{[(3R)-3-(9-фенилnonаноил)окси]тетрадеcanoил}амино}-3-{{[3-{{[(3R)-3-

(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-((3R)-3-(decanoилокси)тетрадеcanoил}окси)оксан-2-ил]окси} пропановая кислота (Пример 4); и
 (2S)-2-(((3R)-3-(9-фенилнаноил)окси]тетрадеcanoил]амино)-3-[[3-(((3R)-3-(decanoилокси)тетрадеcanoил]амино)-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-((3R)-3-(decanoилокси)тетрадеcanoил}окси)оксан-2-ил]окси} пропановая кислота (Пример 5).

[0069]

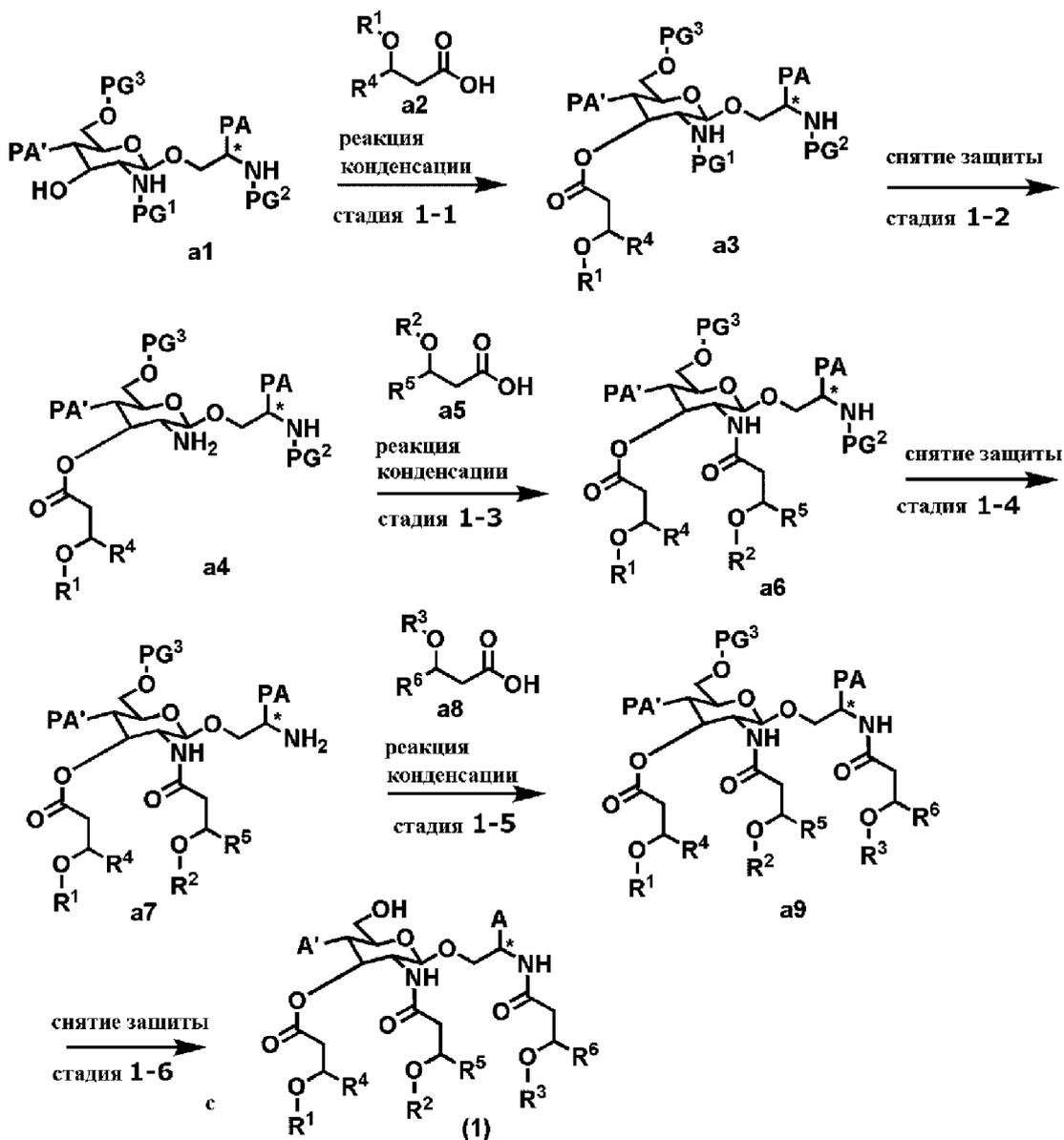
Далее поясняются способы получения соединения по настоящему изобретению, но способы по настоящему изобретению не должны ограничиваться ими.

Настоящее соединение формулы (1) может быть получено, например, в соответствии со способами 1-3, описанными ниже.

[0070]

Способ 1

Соединение формулы (1) можно получить, например, следующим способом.



где $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5, \text{R}^6, \text{A}, \text{A}'$ и m имеют значения, указанные в Пункте 1; PA и PA'

независимо представляют собой водород, гидроксильную, O-PG⁴ или (CH₂)_m-C(O)O-PG⁵; PG¹ и PG² независимо представляют собой амино-защитную группу; PG³ и PG⁴ независимо представляют собой гидроксильную защитную группу; и PG⁵ представляет собой карбоксильную защитную группу.

[0071]

Защитные группы, представленные указанными выше PG¹, PG², PG³, PG⁴ и PG⁵, могут включать защитные группы, описанные в *Protective Groups in Organic Synthesis* (edited by Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts, issued by John Wiley & Sons, Inc., 1999). Соединение a1 можно получить, например, способом, описанным в WO 98/50399. Соединения a2, a5 и a8 можно получить способами 2 и 3, которые описаны ниже.

[0072]

(Стадия 1-1)

Соединение a3 можно получить путем взаимодействия Соединения a1 с Соединением a2 в подходящем растворителе в присутствии подходящего агента конденсации. Агент конденсации, используемый в настоящем изобретении, можно выбрать из агентов конденсации, представленных в качестве примера ниже, которые предпочтительно включают карбодиимиды, более предпочтительно 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-этилкарбодиимид метиодид. Предпочтительно реакцию конденсации можно осуществить вместе с N, N-диметил-4-аминопиридином (DMAP) или 4-пирролидинопиридином, который является промотором реакции конденсации. Используемый в настоящем изобретении растворитель можно выбрать из растворителей, представленных в качестве примера ниже, которые предпочтительно включают хлороформ и дихлорметан. Время реакции обычно составляет от 5 минут до 48 часов, предпочтительно 1-24 часа. Температура реакции обычно составляет от -78°C до 100°C, предпочтительно 0°C - 50°C.

[0073]

(Стадия 1-2)

Соединение a4 можно получить путем удаления амино-защитной группы PG¹ соединения a3. Стадию можно осуществить в соответствии с известным способом, описанным в *Protective Groups in Organic Synthesis* (edited by Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts, issued by John Wiley & Sons, Inc., 1999) и др.

[0074]

(Стадия 1-3)

Соединение a6 можно получить путем взаимодействия Соединения a4 с Соединением a5 в подходящем растворителе в присутствии подходящего агента конденсации. Агент конденсации, используемый в настоящем изобретении, можно выбрать из реагентов, представленных в качестве примера ниже, которые предпочтительно включают 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин. Используемый в настоящем изобретении растворитель можно выбрать из растворителей, представленных в качестве примера ниже, которые предпочтительно включают

хлороформ и дихлорметан. Время реакции обычно составляет от 5 минут до 48 часов, предпочтительно 1-24 часа. Температура реакции обычно составляет от -78°C до 100°C , предпочтительно 0°C - 50°C .

[0075]

(Стадия 1-4)

Соединение а7 можно получить путем удаления amino-защитной группы PG^2 соединения а6. Стадию можно осуществить в соответствии с известным способом, описанным в *Protective Groups in Organic Synthesis* (edited by Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts, issued by John Wiley & Sons, Inc., 1999) и др.

[0076]

(Стадия 1-5)

Соединение а9 можно получить путем взаимодействия Соединения а7 с Соединением а8 способом, описанным выше для Стадий 1-3.

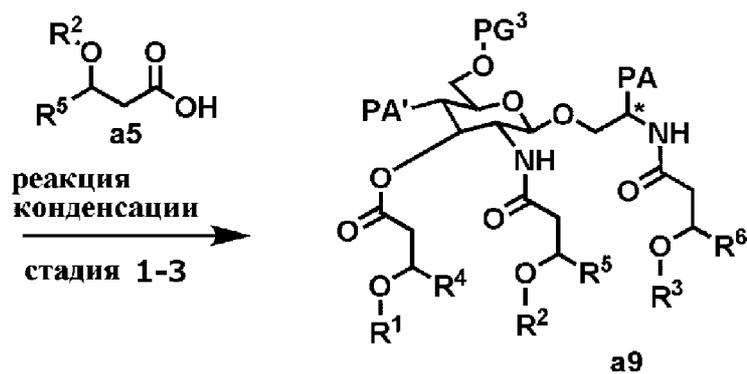
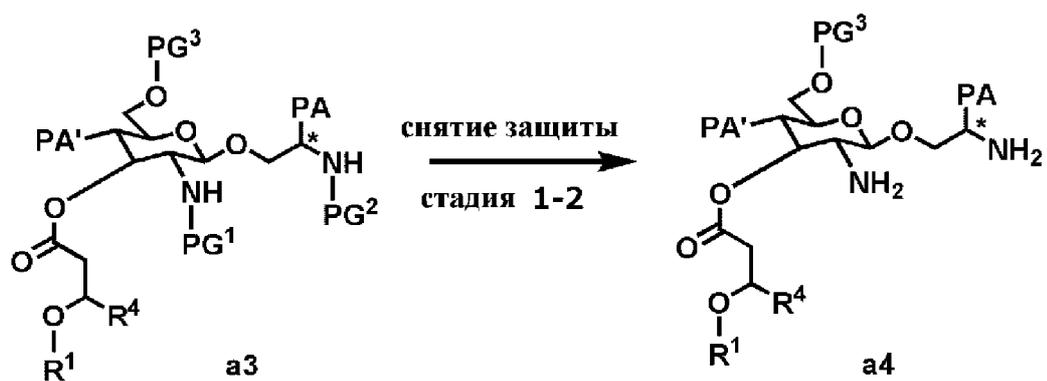
[0077]

(Стадия 1-6)

Соединение формулы (1) можно получить путем удаления защитной группы PG^3 в Соединении а9 и удаления PG^4 и/или PG^5 , когда РА и РА' содержат O-PG^4 и/или C(O)OPG^5 . Стадию можно осуществить в соответствии с известным способом, описанным в *Protective Groups in Organic Synthesis* (edited by Theodora W. Greene, Peter G. M. Wuts, issued by John Wiley & Sons, Inc., 1999) и др.

[0078]

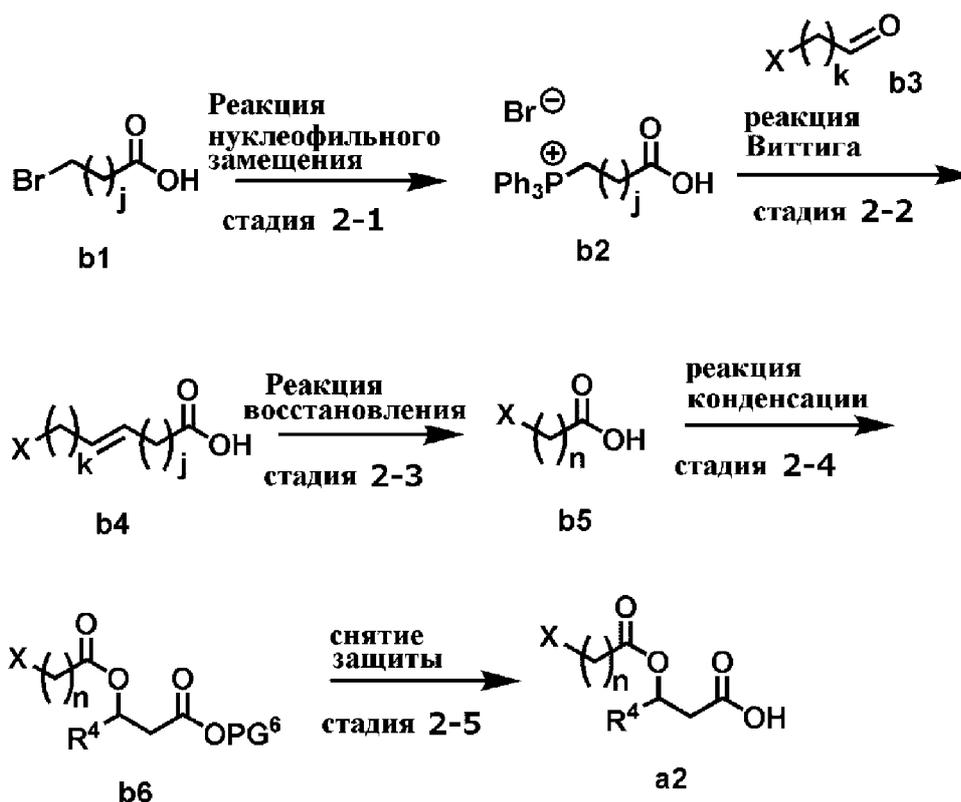
Указанные выше реакции конденсации с Соединениями а2, а5 и а8 можно осуществлять одновременно или в другом порядке, в зависимости от заместителей. Например, когда R^2 и R^3 являются одинаковыми и R^5 и R^6 являются одинаковыми, Соединение а9 можно получить из Соединения а3 в две стадии, Стадия 1-2 и Стадия 1-3, как показано ниже, с использованием одной и той же защитной группы в PG^1 и PG^2 .



[0079]

Способ 2

Соединение a2, полученное в Способе 1, где R¹ в формуле (1) представляет собой -C(O)(CH₂)_n-X, можно получить, например, следующим способом. Соединение a5, где R² представляет собой -C(O)(CH₂)_o-Y, и Соединение a8, где R³ представляет собой -C(O)(CH₂)_p-Z, также могут быть получены аналогичным способом.



где X, R⁴ и n имеют значения, указанные в Пункте 1; j представляет собой целое число от 0 до 18; k представляет собой n-j-2; и PG⁶ представляет собой карбоксил-защитную группу.

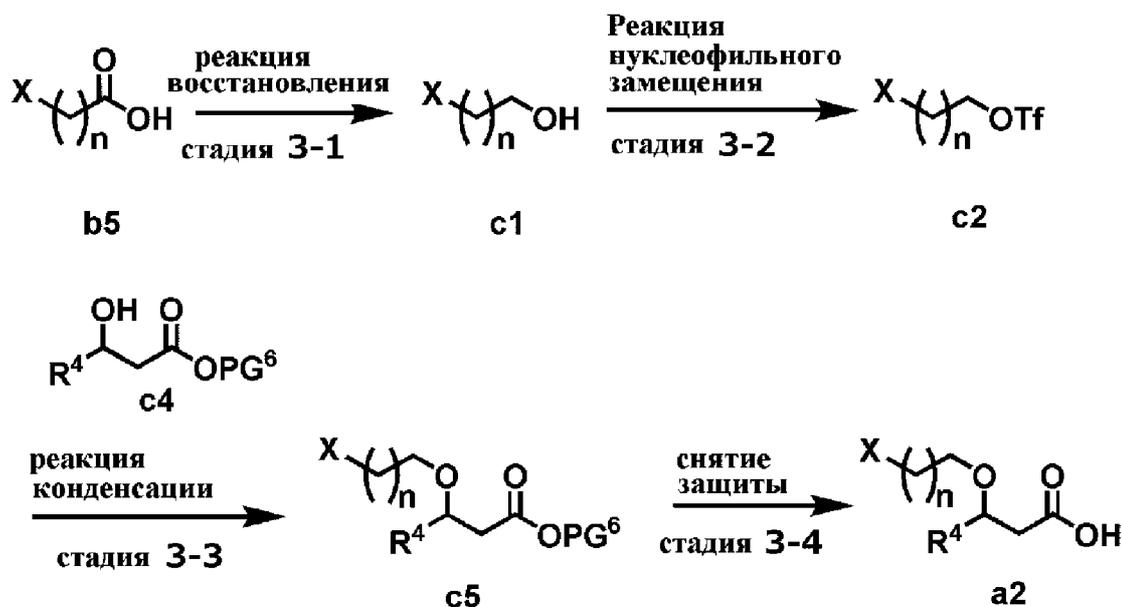
[0080]

Стадия 2-1 - Стадия 2-3 представляют собой, например, известный способ в соответствии со способом, описанным в US2008/0188566. И Стадия 2-4 и Стадия 2-5 представляют собой, например, известный способ в соответствии со способом, описанным в WO2004/062599.

[0081]

Способ 3

Соединение a2, полученное в Способе 1, где R¹ в формуле (1) представляет собой -CH₂-(CH₂)_n-X, можно получить, например, следующим способом. Соединение a5, где R² представляет собой -CH₂(CH₂)_o-Y, и Соединение a8, где R³ представляет собой -CH₂(CH₂)_p-Z, также могут быть получены аналогичным способом.



где X, R⁴ и n имеют значения, указанные в Пункте 1; PG⁶ представляет собой карбоксил-защитную группу.

[0082]

Стадия 3-1 представляет собой реакцию восстановления карбоновой кислоты до спирта, которую можно осуществить, например, в соответствии со способом, описанным в Series of Experimental Chemistry 5th edition, Vol. 14, p11- 16 (Jikken Kagaku Kouza, edited by the Chemical Society of Japan, 2005). И Стадию 3-2 - Стадию 3-4 осуществляют, например, известным способом в соответствии со способом, описанным в WO 01/36433.

[0083]

Соединение **a2** можно также получить способом, описанным в Bioorg Med Chem Lett. 2015 Feb 1; 25(3): 547-53.

[0084]

Основание, используемое на каждой стадии вышеописанных способов, должно быть соответствующим образом выбрано в зависимости от реакции, исходного соединения и т.д., которое включает бикарбонаты щелочных металлов, такие как бикарбонат натрия и бикарбонат калия; карбонат щелочного металла, такой как карбонат натрия и карбонат калия; гидриды металлов, такие как гидрид натрия и гидрид калия; гидроксиды щелочных металлов, такие как гидроксид натрия и гидроксид калия; алкоксиды щелочных металлов, такие как метоксид натрия и трет-бутоксид натрия; органические основания металлов, такие как бутиллитий и диизопропиламид лития; и органические основания, такие как триэтиламин, диизопропилэтиламин, пиридин, 4-диметиламинопиридин (DMAP) и 1,8-диазабисцикло[5.4.0]ундец-7-ен (DBU).

[0085]

Агент конденсации следует подходящим образом выбирать в зависимости от исходных соединений и т.д., который включает, например, фосфаты, такие как диэтилцианофосфат и дифенилфосфорилазид; карбодиимиды, такие как 1-этил-3-(3-

диметиламинопропил)-карбодиимид гидрохлорид ($\text{WSC} \cdot \text{HCl}$) и дициклогексилкарбодиимид (DCC) и 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-этилкарбодиимид метиодид; комбинации дисульфида, такого как 2,2'-дипиридилдисульфид, и фосфина, такого как трифенилфосфин; галогениды фосфора, такие как N, N'-бис(2-оксо-3-оксазолидинил)фосфинхлорид (BOPCl); комбинации азодикарбоксилатного диэфира, такого как диэтилазодикарбоксилат, и фосфина, такого как трифенилфосфин; галогениды 2-галоген-1-низшего алкилпиридиния, такие как йодид 2-хлор-1-метилпиридиния; 1,1'-карбонилдиимидазол (CDI); 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин (EEDQ); дифенилфосфорилазид (DPPA); диэтилфосфорилцианид (DEPC); тетрафторбораты, такие как тетрафторборат 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония (TBTU) и тетрафторборат 2-хлор-1,3-диметилимидазолидиния (ClB); фосфаты, такие как 2-(1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфат (HBTU), бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфоний гексафторфосфат (BOP), бензотриазол-1-илокситрис(пирролидино)фосфоний гексафторфосфат (PYBOP) и 2-(7-аза-1H-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуроний гексафторфосфат (HATU).

[0086]

Растворитель, используемый на каждой стадии вышеописанных способов, должен быть соответствующим образом выбран в зависимости от реакции, исходного соединения и т.д., который включает, например, спиртовые растворители, такие как метанол, этанол и изопропанол; кетоновые растворители, такие как ацетон и метилкетон; галогенированные углеводородные растворители, такие как метиленхлорид и хлороформ; эфирные растворители, такие как тетрагидрофуран (THF) и диоксан; ароматические углеводородные растворители, такие как толуол и бензол; алифатические углеводородные растворители, такие как гексан и гептан; сложноэфирные растворители, такие как этилацетат и пропилацетат; амидные растворители, такие как N, N-диметилформамид (DMF) и N-метил-2-пирролидон; сульфоксидные растворители, такие как диметилсульфоксид (DMSO); нитрильные растворители, такие как ацетонитрил. Растворитель, используемый в настоящем изобретении, может быть одним из этих растворителей или смесью двух или более растворителей, выбранных из этих растворителей. И, если это возможно в реакции, в качестве используемого в настоящем изобретении растворителя можно использовать органическое основание или органическую кислоту.

[0087]

Кроме того, каждое промежуточное соединение или каждый конечный продукт в описанных выше способах получения также можно преобразовать в другое соединение по настоящему изобретению путем подходящей модификации его функциональной группы, в частности удлинения различных боковых цепей от amino, гидрокси, карбонила, галогена и т.д.; и, необязательно, осуществление вышеуказанной защиты и снятия защиты, если это необходимо. Модификацию функциональной группы и удлинение боковой цепи можно осуществить обычным способом (например, см. *Comprehensive Organic Transformations*, R.

C. Larock, John Wiley & Sons Inc. (1999), etc.).

[0088]

"Фармацевтически приемлемая соль" включает кислотно-аддитивную соль и основно-аддитивную соль. Например, кислотно-аддитивная соль включает соль неорганической кислоты, такую как гидрохлорид, гидробромид, сульфат, гидройодид, нитрат и фосфат; и соль органической кислоты, такую как цитрат, оксалат, фталат, фумарат, малеат, сукцинат, малат, ацетат, формиат, пропионат, бензоат, трифторацетат, метансульфонат, бензолсульфонат, пара-толуолсульфонат и камфорсульфонат; и основно-аддитивная соль включает соль неорганического основания, такую как соль натрия, соль калия, соль кальция, соль магния, соль бария и соль алюминия; и соль органического основания, такую как триметиламин, триэтиламин, пиридин, пиколин, 2,6-лутидин, этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, трометамин [трис(гидроксиметил)метиламин], трет-бутиламин, циклогексиламин, дициклогексиламин и N, N'-добензилэтиламин. Кроме того, соль включает соли основных или кислых аминокислот, такие как аргинин, лизин, орнитин, аспартат и глутамат.

Подходящие соли исходных соединений или целевых соединений и фармацевтически приемлемые соли представляют собой обычные нетоксичные соли, которые включают кислотно-аддитивную соль, такую как соль органической кислоты (например, ацетат, трифторацетат, малеат, фумарат, цитрат, тартрат, метансульфонат, бензолсульфонат, формиат, пара-толуолсульфонат и т.д.) и соль неорганической кислоты (например, гидрохлорид, гидробромид, гидройодид, сульфат, нитрат, фосфат и т.д.); соль с аминокислотой (например, аргинин, аспартат, глутамат и т.д.); соль металла, такая как соль щелочного металла (например, соль натрия, соль калия и т.д.) и соль щелочноземельного металла (например, соль кальция, соль магния и т.д.); соль аммония; и соль органического основания (например, соль триметиламина, соль триэтиламина, соль пиридина, соль пиколина, соль дициклогексиламина, соль N, N'-добензилэтилендиамина и т.д.); и, кроме того, те, которые соответствующим образом выбирает квалифицированный специалист.

[0089]

Если желательно зафиксировать соединение по настоящему изобретению в виде соли, когда соединение по настоящему изобретению получают в виде соли, его можно очистить без дополнительной реакции, а когда оно получено в свободной форме, его можно растворить или суспендировать в подходящем органическом растворителе, и можно добавить кислоту или основание для образования соли обычным способом.

Соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль иногда могут существовать в форме сольвата с водой или различными растворителями. Такие сольваты также включены в настоящее изобретение.

[0090]

Температуру образования соли обычно выбирают из диапазона от -50°C до точки кипения используемого в настоящей заявке растворителя, предпочтительно от 0°C до

точки кипения и более предпочтительно от комнатной температуры до точки кипения. Чтобы повысить оптическую чистоту, желательно, чтобы температура используемого в настоящей заявке растворителя была повышена примерно до точки кипения. При сборе осажденных кристаллов на фильтре дополнительное охлаждение может увеличить выход. Количество используемой оптически активной кислоты или амина соответственно составляет примерно 0,5-2,0 эквивалента по отношению к количеству основного соединения, предпочтительно около одного эквивалента. При необходимости полученные кристаллы можно перекристаллизовать в инертном растворителе (например, в спиртовом растворителе, таком как метанол, этанол и 2-пропанол; в эфирном растворителе, таком как диэтиловый эфир; в сложноэфирном растворителе, таком как этилацетат; в углеводородном растворителе, таком как толуол; апротонном растворителе, таком как ацетонитрил, или в смеси этих растворителей) для получения его высокочистой соли. И, при необходимости, соль, полученную оптическим разделением, можно также обработать кислотой или основанием для получения ее свободной формы.

[0091]

Соединение формулы (1), в котором любой один или несколько атомов ^1H заменены атомами $^2\text{H(D)}$, также входит в объем настоящего изобретения формулы (1).

[0092]

Настоящее изобретение охватывает соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль. Кроме того, настоящее изобретение охватывает его гидрат и его сольват, такой как его этанолят. Помимо того, настоящее изобретение охватывает все его таутомеры, стереоизомеры и кристаллические формы.

[0093]

Соединение по настоящему изобретению (1) также включает оптический изомер, который основан на хиральном центре, атропоизомер, который основан на аксиальности, вызванной внутримолекулярным ротационным затруднением или планарной хиральностью, другие стереоизомеры, таутомер и геометрический изомер, все возможные изомеры которого и их смеси охватывается настоящим изобретением.

[0094]

Смесь оптических изомеров соединений по настоящему изобретению можно получить обычным способом. Соединения, имеющие асимметричную структуру, можно получить, например, с использованием исходного вещества, имеющего центр асимметрии, или путем введения асимметричной структуры на любой стадии способа. Например, в случае оптических изомеров оптические изомеры можно получить с использованием оптически активного исходного вещества или путем разделения смеси оптических изомеров на соответствующей стадии. В случае, если соединение формулы (1) или его промежуточное соединение имеет основную функциональную группу, его оптическое разделение включает, например, диастереомерный метод, в котором соединения преобразуют в его соль путем взаимодействия с оптически активной кислотой (например, монокарбоновой кислотой, такой как миндальная кислота, N-бензилоксиаланин и

молочная кислота; дикарбоновой кислотой, такой как винная кислота, о-диизопропилиден-винная кислота и яблочная кислота; или сульфоновой кислотой, такой как камфорсульфоновая кислота и бромкамфорсульфоновая кислота), в инертном растворителе (например, спиртах, таких как метанол, этанол и 2-пропанол; эфирном растворителе, таком как диэтиловый эфир; сложноэфирном растворителе, таком как этилацетат; углеводородном растворителе, таком как толуол; апротонном растворителе, таком как ацетонитрил; или смеси этих растворителей). В случае, если соединение формулы (1) или его промежуточное соединение имеет кислотную функциональную группу, такую как карбоксильная группа, соединение можно также оптически разделить после образования его соли с оптически активным амином (например, органическим амином, таким как 1-фенилэтиламин, кинин, хинидин, цинхонидин, цинхонин и стрихнин).

[0095]

Соединения формулы (1) по настоящему изобретению и их промежуточные соединения могут быть выделены и очищены способом, известным специалистам в данной области. Он включает, например, экстракцию, распределение, повторное осаждение, колоночную хроматографию (например, колоночную хроматографию на силикагеле, ионообменную колоночную хроматографию и препаративную жидкостную хроматографию) и перекристаллизацию.

Используемый в настоящем изобретении растворитель для перекристаллизации включает, например, спиртовой растворитель, такой как метанол, этанол и 2-пропанол; эфирный растворитель, такой как диэтиловый эфир; сложноэфирный растворитель, такой как этилацетат; ароматический углеводородный растворитель, такой как бензол и толуол; кетоновый растворитель, такой как ацетон; галогенированный растворитель, такой как дихлорметан и хлороформ; углеводородный растворитель, такой как гексан; апротонный растворитель, такой как диметилформамид и ацетонитрил; воду; и включающий их смешанный растворитель. В качестве других способов очистки, например, можно использовать способы, описанные в *Series of Experimental Chemistry (Jikken Kagaku Kouza, edited by the Chemical Society of Japan, Maruzen) Vol. 1*. Кроме того, структурное определение соединений по настоящему изобретению может быть легко выполнено спектроскопическим аналитическим методом, таким как метод ядерного магнитного резонанса, метод инфракрасного поглощения, анализ спектров кругового дихроизма и масс-спектрометрия, с учетом структуры каждого исходного соединения.

[0096]

Что касается исходных веществ и промежуточных соединений в каждом способе получения, указанном выше, соединения, которые не описаны в каждом способе, являются коммерчески доступными или могут быть получены специалистом в данной области техники из коммерчески доступного вещества известным способом или способом, подобным ему.

[0097]

Настоящее изобретение обеспечивает определенное выше соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль, которое полезно в качестве адъюванта вакцины, предпочтительно адъюванта вакцины для противоинойфекционной вакцины.

[0098]

Кроме того, настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую определенное выше соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем (далее называемую фармацевтической композицией по настоящему изобретению).

[0099]

Соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль можно использовать в качестве адъюванта для поддержания или усиления иммуностимулирующего действия активного ингредиента, обладающего иммуностимулирующей активностью.

А именно, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает активностью для индукции или усиления антиген-специфического антитела, в частности, антиген-специфического IgG и, более конкретно, Th1-типа антиген-специфического IgG (например, IgG2c).

Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает активностью, направленной на повышение уровня цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL). Или соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает активностью, направленной на индукцию CTL у млекопитающего или усиление индукции CTL у млекопитающего.

Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает активностью усиления CD4-положительных (т.е. класса II MHC-рестриктированных) и/или CD8-положительных (т.е. класс I MHC-рестриктированных) Т-клеток.

Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает активностью, направленной на повышение уровня антигенспецифических Т-клеток.

Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает активностью, направленной на повышение уровня Т-клеток памяти, в частности, CD8-положительных эффекторных Т-клеток памяти.

Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль характеризуется тем, что действие, направленное на повышение уровня CTL, находится почти на том же уровне, что и в случае тех же молей адъюванта, имеющего фосфатную структуру, который оказывает агонистическое действие на TLR4 при введении млекопитающим.

Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает действием, активирующим иммунокомпетентные клетки.

[0100]

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может включать антиген, при этом указанный антиген включает опухолевый антиген или антиген, происходящий из патогена. Опухолевый антиген включает, например, белок опухолевого антигена и неполный пептид, полученный из его белка опухолевого антигена. Таким образом, комплекс антигена и носителя и т.п. входит в объем антигена по настоящему изобретению. И антиген, происходящий из патогена, включает, например, антигенный белок патогена (такого как вирус и бактерия) и неполный пептид, полученный из его антигенного белка патогена. Таким образом, комплекс антигена и носителя и т.п. входит в объем антигена по настоящему изобретению. Комплекс включает антиген (включая белок и пептид, но не ограничиваясь этим), связанный мостиковой связью с белком, который является носителем, через линкер, который хорошо известен специалистам в данной области, и антиген, содержащийся в вирусоподобной частице (VLP). Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль полезно в качестве лекарственного средства для лечения или профилактики вирусной или бактериальной инфекции или рака при использовании в комбинации с вышеуказанным антигеном. Таким образом, соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль полезно в качестве адьюванта для активации терапевтического или профилактического эффекта в отношении вирусной или бактериальной инфекции или рака при использовании в комбинации с вышеуказанным антигеном.

[0101]

Примеры пути введения фармацевтической композиции по настоящему изобретению включают парентеральное введение, особенно внутрисосудистое (например, внутривенное), подкожное, внутрикожное, внутримышечное, трансназальное, введение в лимфатические узлы и трансдермальное введение.

[0102]

В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может включать соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый разбавитель или носитель.

[0103]

Лекарственная форма фармацевтической композиции по настоящему изобретению включает жидкую лекарственную форму.

[0104]

Жидкая лекарственная форма по настоящему изобретению включает композицию водного раствора/композицию водной суспензии, композицию масляного раствора/композицию масляной суспензии, липидную композицию и эмульсионную композицию.

Композиция водного раствора или композиция водной суспензии включает, например, композицию, полученную растворением или диспергированием антигена

(опухолевого антигена или антигена, происходящего из патогена) и/или соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли в воде.

Композиция масляного раствора или композиция масляной суспензии включает, например, композицию, полученную растворением или диспергированием антигена (опухолевого антигена или антигена, происходящего из патогена) и/или соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли в масляном ингредиенте.

Липидная композиция включает, например, липосомальную композицию, включающую антиген (опухолевый антиген или антиген, происходящий из патогена) и/или соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль.

Эмульсионная композиция включает, например, композицию, включающую водный раствор и масляную композицию, которая включает антиген (опухолевый антиген или антиген, происходящий из патогена) и/или соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль.

Добавка, используемая в композиции водного раствора или композиции водной суспензии по настоящему изобретению, включает, например, очищенную воду, воду для инъекций, буферный агент, регулятор pH, стабилизатор, изотонизирующий агент, солубилизатор и солубилизирующий агент.

Добавка, используемая в композиции масляного раствора или композиции масляной суспензии по настоящему изобретению, включает, например, буферный агент, регулятор pH, стабилизатор, изотонизирующий агент, животное или растительное масло и жир, углеводороды, жирную кислоту, сложные эфиры жирных кислот, солубилизатор и солубилизирующий агент.

[0105]

Используемая в настоящей заявке эмульсионная композиция по настоящему изобретению включает эмульсию масло-в-воде (также называемую эмульсией м/в), эмульсию вода-в-масле (также называемую эмульсией в/м), эмульсию вода-в-масле-в-воде (также называемую эмульсией в/м/в) и эмульсию масло-в-воде-в-масле (также называемую эмульсией м/в/м). Эмульсионная композиция по настоящему изобретению включает, предпочтительно эмульсию вода-в-масле (эмульсию в/м) и эмульсию масло-в-воде (эмульсию м/в) и более предпочтительно эмульсию масло-в-воде (эмульсию м/в).

Композицию эмульсии вода-в-масле по настоящему изобретению можно получить путем эмульгирования водной фазы и масляной фазы обычным способом. Что касается эмульсионной композиции по настоящему изобретению вода-в-масле, антиген (опухолевый антиген или антиген, происходящий из патогена) и/или соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемая соль могут содержаться в масляной фазе и/или водной фазе.

[0106]

Композицию эмульсии масло-в-воде по настоящему изобретению можно получить путем эмульгирования водной фазы и масляной фазы обычным способом. Что касается эмульсионной композиции по настоящему изобретению масло-в-воде, антиген

(опухолевый антиген или антиген, происходящий из патогена), и/или соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемая соль могут содержаться в масляной фазе и/или водной фазе.

[0107]

В липосомальной композиции по настоящему изобретению липосома означает микровезикулу, состоящую из множества липидных слоев, таких как двухслойная мембрана амфифильной липидной молекулы (липидный бислой), которая имеет внутреннюю фазу. Предпочтительным многослойным липидным слоем является липидный бислой.

[0108]

Липосомальная композиция по настоящему изобретению включает амфифильную липидную молекулу. Амфифильная липидная молекула включает, предпочтительно один или несколько "фосфолипидов". "Фосфолипид" включает, например, фосфатидилхолин, фосфатидилглицерин, фосфатидную кислоту, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол и сфингомиелин. "Фосфолипид" включает предпочтительно фосфатидилхолин, фосфатидилглицерин, фосфатидилэтаноламин, сфингомиелин и фосфатидилсерин. "Фосфолипид" включает более предпочтительно фосфатидилхолин, сфингомиелин, фосфатидилсерин и фосфатидилглицерин.

[0109]

Липосома, содержащая внутри соединение по настоящему изобретению, может содержать стеролы. Стеролы включают холестерин, β -ситостерол, стигмастерол, кампестерол, брассикастерол, эргостерол и фукостерол, и предпочтительно холестерин.

[0110]

Липосома, содержащая внутри соединение по настоящему изобретению, может содержать фармацевтически приемлемую добавку. Добавка включает, например, неорганическую кислоту, соль неорганической кислоты, органическую кислоту, соль органической кислоты, сахара, буферный агент, антиоксидант и полимеры. Неорганическая кислота включает, например, фосфорную кислоту, хлористоводородную кислоту и серную кислоту. Соль неорганической кислоты включает, например, гидрофосфат динатрия, хлорид натрия, сульфат аммония и сульфат магния. Органическая кислота включает, например, лимонную кислоту, уксусную кислоту, янтарную кислоту и винную кислоту. Соль органической кислоты включает, например, цитрат натрия, ацетат натрия, динатрийсукцинат и тартрат натрия. Сахар включает, например, глюкозу, сахарозу, маннит, сорбит и трегалозу. Буферный агент включает, например, L-аргинин, L-гистидин, трометамол (трисгидроксиметиламинометан, Tris) и их соли. Антиоксидант включает, например, сульфит натрия, L-цистеин, тиогликолят натрия, тиосульфат натрия, аскорбиновую кислоту и токоферол. Полимеры включают, например, поливиниловый спирт, поливинилпирролидон, карбоксивиниловый полимер и карбоксиметилцеллюлозу натрия.

[0111]

Соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с другим лекарственным средством, помимо указанного выше антигена, происходящего из патогена.

[0112]

Фармацевтическая композиция по настоящему изобретению может дополнительно содержать другие добавки, и примеры таких добавок включают поверхностно-активные вещества, антиоксиданты, консерванты и смягчающие средства.

[0113]

Соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль можно вводить одновременно с антигенным веществом (иммуногеном) или с любым интервалом до или после введения антигенного вещества в стандартной дозе в диапазоне обычно от около 0,1 нг/кг до 100 мг/кг теплокровному животному, которая обеспечивает эффективную дозу для адъюванта вакцины. Стандартная лекарственная форма для инъекций обычно содержит, например, от 1 нг до 250 мг активного ингредиента и предпочтительно используется в дозе от 1 нг до 50 мг/кг активного ингредиента в сутки. Однако суточная доза может варьироваться в зависимости от субъекта, подлежащего лечению, пути введения и тяжести заболевания, подлежащего лечению. Таким образом, оптимальную дозу может определить практикующий врач, лечащий конкретного пациента или теплокровное животное.

[0114]

Термин "лечение" в контексте настоящей заявки означает облегчение некоторых или всех симптомов заболевания, полностью или частично, или предотвращение или задержку прогрессирования заболевания.

[0115]

Термин "профилактика" в контексте настоящей заявки означает первичную профилактику заболевания (предотвращение возникновения заболевания) или вторичную профилактику заболевания (предотвращение рецидива у пациента, у которого симптомы были облегчены или заболевание было вылечено после начала заболевания, предотвращение повторного проявления). Когда при инфекционном заболевании различают стадию инфицирования патогенами (такими как бактерии, грибы, простейшие и вирусы) и стадию начала заболевания, "профилактика" включает как предотвращение инфицирования патогенами, так и предотвращение постинфекционного развития заболевания. Кроме того, используемый в настоящем изобретении термин "профилактика" включает значение предотвращения передачи патогена от человека другим организмам-переносчикам.

[0116]

Поскольку соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладают иммуноадъювантной активностью *in vitro* или *in vivo*, оно полезно в качестве адъюванта вакцины для поддержания или усиления иммуногенности

опухолевого антигена или антигена, происходящего из патогена.

[0117]

Соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль обладает адьювантной активностью в отношении клеточного иммунитета *in vitro* или *in vivo* и, таким образом, оно полезно в качестве адьюванта вакцины для поддержания или усиления иммуногенности опухолевого антигена или антигена, происходящего из патогена.

[0118]

Соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль можно использовать для поддержания или усиления эффекта иммуностимулятора для лечения или профилактики заболевания, то есть вещества, индуцирующего опухолевый антиген-специфическую иммунную реакцию или патогенный антиген-специфическую иммунную реакцию.

Один вариант осуществления настоящего изобретения также включает фармацевтическую композицию, включающую соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, и вещество, усиливающее специфический иммунный ответ на опухоль или патоген (также называемое опухолевым антигеном или антигеном, происходящим из патогена, соответственно). Опухолевый антиген или антиген, происходящий из патогена, включает, но не ограничивается этим, антигенный белок опухолевого происхождения, антигенный белок патогенного происхождения, антигенный пептид опухолевого происхождения, полученный из указанного антигенного белка опухолевого происхождения, антигенный пептид патогенного происхождения (неполный пептид), полученный из указанного антигенного белка патогенного происхождения, и их комплекс с носителем.

[0119]

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль может лечить или предотвращать инфекцию путем введения вместе с антигенным белком патогенного происхождения или антигенным пептидом патогенного происхождения для предотвращения инфекции. Таким образом, эффект соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или профилактики инфекции может быть усилен введением в комбинации с белком опухолевого антигена или пептидом опухолевого антигена для лечения или профилактики инфекции. Инфекционное заболевание, которое можно предотвратить, включает, например, вирусные заболевания, такие как генитальная бородавка, обыкновенная бородавка, подошвенная бородавка, гепатит В, гепатит С, вирус простого герпеса, контагиозный моллюск, оспа, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), вирус папилломы человека (HPV), РС-вирус, норовирус, цитомегаловирус (CMV), вирус ветряной оспы (VZV), риновирус, аденовирус, коронавирусы, грипп и парагрипп; бактериальные заболевания, такие как туберкулез, *Mycobacterium avium* и болезнь Хансена; инфекции, такие как

микоз, хламидиоз, кандидоз, аспергиллез, криптококковый менингит, пневмоцистная пневмония, криптоспоридиоз, гистоплазмоз, токсоплазмоз, малярия, трипаносомная инфекция и лейшманиоз, но не должно ограничиваться ими. Примеры активного ингредиента вакцин для профилактики инфекционных заболеваний включают, но не ограничиваются этим, вещества, полученные из микроорганизмов/патогенов, включая бактерии, грибки, простейшие и вирусы, вызывающие инфекционные заболевания, такие как антигенный белок, антигенный пептид (неполный пептид) из указанного антигенного белка, полисахарид, липид и их комбинации или комбинация вещества, происходящего из указанного микроорганизма/патогена, и носителя.

[0120]

Примеры вирусного антигенного пептида, полученного из вирусного антигена, включают, но не ограничиваются этим, пептид матричного белка гриппа 58-66 (Jager E et al., *Int. J. Cancer* 67: 54 (1996)), HPV16 E7 пептид 86-93 (van Driel WJ et al., *Eur. J. Cancer* 35:946 (1999)), HPV E7 пептид 12-20 (Scheibenbogen C et al., *J. Immunother* 23: 275 (2000)), HPV16 E7 пептид 11-20 (Smith JWJ et al., *J. Clin. Oncol.* 21: 1562 (2003)), HSV2 gD (Berman PW et al., *Science* 227: 1490 (1985)), CMV gB (Frey SE et al., *Infect Dis.* 180: 1700 (1999), Gonczol E. et al., *Exp. Opin. Biol. Ther.* 1: 401 (2001)) и CMV pp65 (Rosa CL et al., *Blood* 100: 3681 (2002), Gonczol E. et al., *Exp. Opin. Biol. Ther.* 1: 401 (2001)).

[0121]

В конкретном варианте осуществления настоящего изобретения соединение по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемая соль могут лечить или предотвращать рак путем введения в комбинации с белком опухолевого антигена или пептидом опухолевого антигена для иммунотерапии рака. Таким образом, эффект соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли для лечения или профилактики рака может быть усилен введением в комбинации с белком опухолевого антигена или пептидом опухолевого антигена для иммунотерапии рака. Рак включает, например, лейкоз, миелодиспластический синдром, множественную миелому, злокачественную лимфому, рак желудка, рак толстой кишки, рак легких, рак молочной железы, герминогенный рак, рак печени, рак кожи, рак мочевого пузыря, рак предстательной железы, рак матки, рак шейки матки, рак яичников, опухоль головного мозга, рак кости, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, злокачественную меланому кожи или интраорбитальной области, рак прямой кишки, рак анального канала, тестикулярный рак, карциному фаллопиевых труб, карциному эндометрия, маточно-цервикальную карциному, вагинальную карциному, вульварную карциному, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак парашитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, острый миелоидный лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, хронический или острый лейкоз, включая хронический лимфоцитарный лейкоз, солидный рак у детей, лимфоцитарную лимфому, рак почки/мочеточника, почечно-лоханочную карциному,

опухоль центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, ангиогенез опухоли, опухоль позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, саркому Капоши, сквамозно-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному, Т-клеточную лимфому, политипную глиобластому, злокачественную меланому, немелкоклеточный рак легкого, почечно-клеточный рак и асбест-индуцированный рак. Лечение или профилактика рака включает профилактику метастатического заболевания и рецидива опухоли, а также профилактику и лечение паранеопластического синдрома.

[0122]

В контексте настоящей заявки носитель представляет собой вещество, такое как белок или липид, с которым химически и/или физически связан антигенный белок или антигенный пептид, и примеры включают, но не ограничиваются этим, CRM 197 (Vaccine. 2013 Oct 1; 31(42):4827-33), KLH (Cancer Immunol Immunother. 2003 Oct; 52(10):608-16), вирус-подобные частицы (PLoS ONE 5(3): e9809) и липосомы (J Liposome Res. 2004; 14(3-4):175-89).

[0123]

Антигенный белок может быть получен путем клонирования кДНК, которая кодирует антигенный белок, и его экспрессии в клетке-хозяине в соответствии с учебным пособием, таким как Molecular Cloning 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989).

[0124]

Синтез антигенного пептида может быть осуществлен методом, обычно используемым в химии пептидов, например, как описано в литературе (Peptide Synthesis, Interscience, New York, 1966; The Proteins, Vol. 2, Academic Press Inc., New York, 1976).

[0125]

В одном варианте осуществления настоящее изобретение также обеспечивает набор, включающий:

а) соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтическую композицию, включающую соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль; и

б) фармацевтическую композицию, включающую опухолевый антиген или антиген, происходящий из патогена.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение также обеспечивает набор, включающий:

а) соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль или фармацевтическую композицию, включающую соединение формулы (1) или его фармацевтически приемлемую соль; и

б) фармацевтическую композицию, включающую антиген, происходящий из патогена.

Антиген не ограничен при условии, что он является антигеном, который может быть использован в качестве активного ингредиента вакцин, который включает антигенные белки, как указано выше, антигенные пептиды (неполные пептиды),

полученные из таких антигенных белков, и их комплекс с носителем.

[0126]

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли для получения адъюванта вакцины.

Кроме того, в одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение соединения формулы (1) или его фармацевтически приемлемой соли в качестве адъюванта вакцины для получения вакцины для лечения инфекции.

[0127]

Кроме того, один вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает способ лечения или профилактики рака или инфекции или предотвращения их прогрессирования, включающий стадию введения пациенту соединения формулы (I), определенного выше, или его фармацевтически приемлемой соли вместе с опухолевым антигеном или антигеном, происходящим из патогена.

Один вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает способ лечения или профилактики инфекции или предотвращения ее развития, включающий стадию введения пациенту соединения формулы (I), определенного выше, или его фармацевтически приемлемой соли вместе с антигеном, происходящим из патогена.

ПРИМЕРЫ

[0128]

Настоящее изобретение далее будет описано со ссылкой на следующие примеры, которые ни в каком отношении не следует рассматривать как ограничивающие.

[0129]

Troc: 2,2,2-трихлорэтоксикарбонильная группа

TBS: трет-бутилдиметилсилильная группа

Bn: бензильная группа

Fmoc: 9-флуоренилметилоксикарбонил

DBU: диазабициклоундецен

Woc: трет-бутоксикарбонил

Alko: п-алкоксибензиловый спирт

PEG: полиэтиленгликоль

tBu: трет-бутил

HBTU: O-(бензотриазол-1-ил)-N, N, N', N'-тетраметилурионий гексафторфосфат

DIPEA: N, N-диизопропилэтиламин

DMF: N, N-диметилформамид

TFA: трифторуксусная кислота

TIS: триизопропилсилан

THF: тетрагидрофуран

TBDPS: трет-бутилдифенилсилильная группа

[0130]

Условия анализа высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии (ЖХМС) показаны ниже.

ЖХМС, Условия А

МС-детектор: LCMS-IT-TOF

ВЭЖХ: Shimadzu Nexera X2 LC 30AD

Колонка: Kinetex 1,7 мкм C18 100A New колонка 50 × 2,1 мм

Скорость потока: 1,2 мл/мин

Длина волны: 254/220 нм

Подвижная фаза: А: 0,1% муравьиной кислоты/вода
В: ацетонитрил

Программа времени:

Стадия	Время (мин)	
1	0,01-1,40	A:B=90:10-5:95
2	1,40-1,60	A:B=5:95
3	1,61-2,00	A:B=99:1

[0131]

ЖХМС, Условия В

Детектор МС: детектор SQ ACQUITY™ (Waters)

ВЭЖХ: система ACQUITY™

Колонка: Waters ACQUITY™ UPLC BEH C18 (1,7 мкм, 2,1 мм × 30 мм)

Скорость потока: 0,8 мл/мин

Длина волны: 254/220 нм

Подвижная фаза: А: 0,06% муравьиной кислоты/ацетонитрил
В: 0,06% муравьиной кислоты/вода

Программа времени: 0,0-1,30 A:B=2:98-96:4

Температура колонки: 25°C

[0132]

ЖХМС, Условия С

Детектор МС: LCMS-IT-TOF

ВЭЖХ: Shimadzu Nexera X2 LC 30AD

Колонка: нет

Скорость потока: 1,2 мл/мин

Длина волны: 254/220 нм

Подвижная фаза: А: 0,1% муравьиной кислоты/вода
В: ацетонитрил

Программа времени:

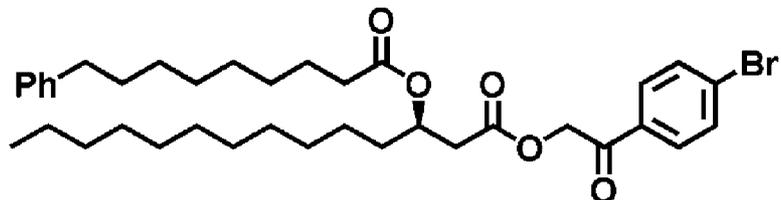
Стадия	Время (мин)	
1	0,01-1,40	A:B=90:10-5:95

2	1,40-1,60	A:B=5:95
3	1,61-2,00	A:B=99:1

[0133]

Ссылочный пример 1

2-(4-Бромфенил)-2-оксоэтил(3R)-3-[(9-фенилнонаноил)окси]тетрадеканоат



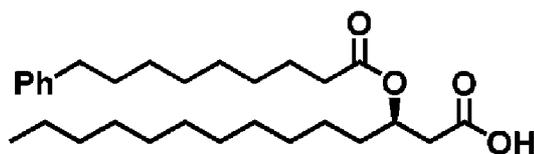
К раствору 9-фенилнонановой кислоты (398 мг) в хлороформе (5 мл) добавляли оксалилдихлорид (0,15 мл) и DMF (1 каплю) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Затем к смеси добавляли 2-(4-бромфенил)-2-оксоэтил (3R)-3-гидрокситетрадеканоат (500 мг), который является известным соединением, и пиридин (2 мл) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Реакционный раствор экстрагировали водой и этилацетатом, и органический слой сушили над безводным сульфатом магния и концентрировали. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: гексан:этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (676 мг).

$^1\text{H-NMR}$ (400 МГц, CDCl_3): 7,73 (2H, дт, $J=9,0$, 2,1 Гц), 7,60 (2H, дт, $J=9,0$, 2,1 Гц), 7,27-7,22 (2H, м), 7,17-7,12 (3H, м), 5,29-5,23 (3H, м), 2,77-2,66 (2H, м), 2,57 (2H, т, $J=7,9$ Гц), 2,28 (2H, т, $J=7,9$ Гц), 1,70-1,50 (6H, м), 1,35-1,20 (26H, м), 0,86 (3H, дд, $J=7,9$, 5,5 Гц).

[0134]

Ссылочный пример 2

(3R)-3-[(9-Фенилнонаноил)окси]тетрадекановая кислота



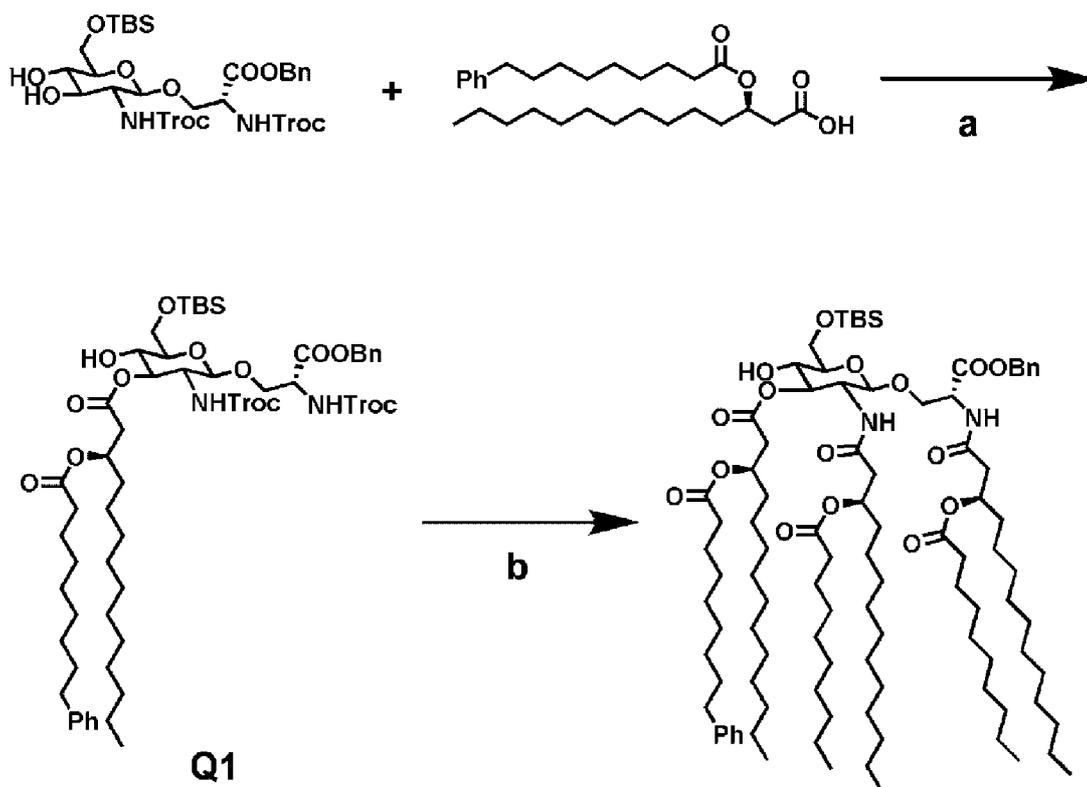
К раствору Ссылочного примера 1 (676 мг) в уксусной кислоте (15 мл) добавляли порошок цинка (672 мг) и смесь перемешивали при 60°C в течение 4 часов. Реакционную смесь фильтровали через целит и фильтрат концентрировали. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: хлороформ:метанол) с получением указанного в заголовке соединения (451 мг).

$^1\text{H-NMR}$ (400 МГц, CDCl_3): 7,28-7,23 (2H, м), 7,16-7,11 (3H, м), 5,22-5,15 (1H, м), 2,64-2,52 (4H, м), 2,25 (2H, т, $J=7,6$ Гц), 1,60-1,50 (6H, м), 1,32-1,20 (26H, м), 0,86 (3H, т, $J=7,0$ Гц).

[0135]

Ссылочный пример 3

(2R)-3-(Бензилокси)-2-{{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил}амино}}-3-оксипропил 6-O-[*трет*-бутил(диметил)силил]-2-{{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил}амино}}-2-дезоксипропил-3-O-{{{(3R)-3-[(9-фенилнаноилокси)тетрадеcanoил]}гексопиранозид



[0136]

а) Получение (2R)-3-(бензилокси)-2-({[(9H-флуорен-9-ил)метокси]карбонил}амино)-3-оксипропил 6-O-[*трет*-бутил(диметил)силил]-3-O-[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]-2-дезоксипропил-3-O-[(3R)-3-[(2,2,2-трихлорэтоксикарбонил]амино}гексопиранозид (Соединение Q1)

Бензил (2R)-3-{{[6-({[*трет*-бутил(диметил)силил]окси}метил)-4,5-дигидрокси-3-{{[(2,2,2-трихлорэтоксикарбонил]амино}оксан-2-ил]окси}}-2-{{[(2,2,2-трихлорэтоксикарбонил]амино}пропаноат (464 мг), соединение Ссылочного примера 2 (853 мг) и 4-пирролидинопиридин (14 мг) растворяли в дихлорметане (40 мл) и затем к раствору добавляли 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-этилкарбодиимид метиодид (550 мг) при 0°C. Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов и затем экстрагировали смесью вода/хлороформ. Органический слой сушили над безводным сульфатом магния и концентрировали. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: гексан:этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения Q1 (1,62 г).

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 7,30 (5H, м), 7,24-7,15 (2H, м), 7,12-7,06 (3H, м), 5,95 (1H, д, J=9,8 Гц), 5,26 (1H, д, J=12,2 Гц), 5,12-5,02 (1H, м), 4,97 (1H, д, J=11,7 Гц), 4,84-4,60 (5H, м), 4,50-4,40 (2H, м), 4,00-3,87 (2H, м), 3,78 (2H, кв д, J=10,8, 4,6 Гц), 3,60-3,36 (3H, м), 3,20-3,10 (1H, м), 2,57-2,42 (5H, м), 2,20 (2H, т, J=7,6 Гц), 1,56-1,40 (6H, м), 1,39-1,20

(26H, м), 0,83-0,75 (12H, м), 0,00 (6H, с).

[0137]

в) Получение Ссылочного примера 3

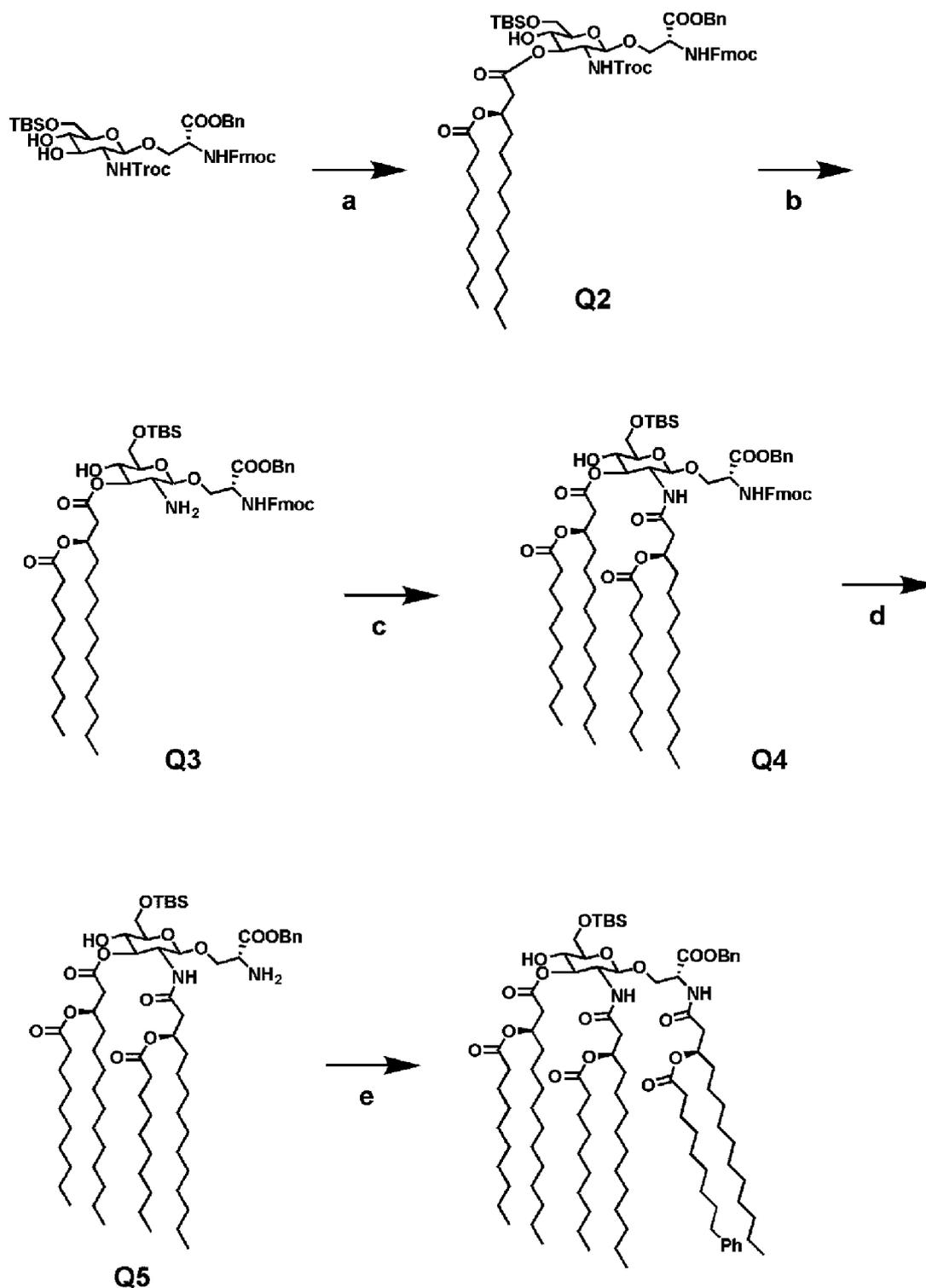
Соединение Q1 (1,62 г) растворяли в уксусной кислоте (18 мл) и к раствору добавляли порошок цинка (2,79 г). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов и фильтровали через целит. Фильтрат нейтрализовали гидрокарбонатом натрия и экстрагировали хлороформом. Органический слой сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали. Полученный остаток (1,15 г) и (3R)-3-(деcanoилокси)тетрадекановую кислоту (1,10 г) растворяли в дихлорметане (70 мл) и к раствору добавляли 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохинолин (746 мг). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционный раствор очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: гексан:этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения (1,38 г).

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 7,35-7,32 (5H, м), 7,21-7,17 (2H, м), 7,12-7,07 (3H, м), 6,65 (1H, д, J=8,5 Гц), 5,44 (1H, д, J=8,5 Гц), 5,22-4,94 (5H, м), 4,69-4,61 (2H, м), 3,91-3,73 (5H, м), 3,65 (1H, кв, J=9,5 Гц), 3,49 (1H, т, J=11,6 Гц), 3,39 (1H, д, J=2,4 Гц), 3,11-3,06 (1H, м), 2,54-2,16 (14H, м), 1,51 (14H, с), 1,20 (86H, м), 0,82-0,78 (24H, м), 0,00 (6H, с).

[0138]

Ссылочный пример 4

(2R)-3-(Бензилокси)-3-оксо-2-(((3R)-3-[(9-фенилнаноил)окси]тетрадеcanoил}амино)пропил 6-O-[*трет*-бутил(диметил)силил]-3-O-[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]-2-[[3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-2-дезоксигексопиранозид



[0139]

а) Получение (2R)-3-(бензилокси)-2-({[(9H-флуорен-9-ил)метокси]карбонил}амино)-3-оксипропил 6-O-[*mpet*-бутил(диметил)силил]-3-O-[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]-2-дезоксид-2-{{(2,2,2-трихлорэтокси)карбонил}амино}гексопиранозида (Соединение Q2)

Указанное в заголовке соединения Q2 получали путем реакции и обработки, аналогичной Стадии а), описанной в Ссылочном примере 3.

ЖХМС (Условия А): 1271,5 [M+Na⁺], 1,26 мин

[0140]

б) Получение (2R)-3-(бензилокси)-2-({[(9H-флуорен-9-ил)метокси]карбонил}амино)-3-оксопропил 2-амино-6-О-[*трет*-бутил(диметил)силил]-3-О-[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]-2-дезоксигексопиранозида (Соединение Q3)

Соединение Q2 (220 мг) растворяли в уксусной кислоте (2 мл) и к раствору добавляли порошок цинка (346 мг). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 часа и фильтровали через целит. Фильтрат экстрагировали смесью вода/этилацетат. Органический слой сушили над безводным сульфатом магния и концентрировали. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: гексан:этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения Q3 (114 мг).

¹H-ЯМР (CDCl₃) δ: 7,73 (2H, д, J=7,9 Гц), 7,57 (2H, д, J=6,7 Гц), 7,38-7,25 (9H, м), 5,88 (1H, д, J=8,5 Гц), 5,22-5,08 (3H, м), 4,73 (1H, т, J=9,4 Гц), 4,54 (1H, д, J=8,5 Гц), 4,40 (1H, дд, J=10,4, 6,7 Гц), 4,29 (1H, дд, J=10,7, 7,6 Гц), 4,20 (1H, т, J=7,3 Гц), 4,10-3,95 (3H, м), 3,90-3,74 (2H, м), 3,55 (1H, т, J=9,1 Гц), 3,40-3,20 (2H, м), 2,71-2,58 (3H, м), 2,25 (2H, т, J=7,3 Гц), 1,65-1,30 (6H, м), 1,30-1,10 (30H, м), 0,86-0,80 (15H, м), 0,01 (6H, д, J=3,0 Гц).

[0141]

с) Получение (2R)-3-(бензилокси)-2-({[(9H-флуорен-9-ил)метокси]карбонил}амино)-3-оксопропил 6-О-[*трет*-бутил(диметил)силил]-3-О-[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]-2-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил}амино}-2-дезоксигексопиранозида (Соединение Q4)

Соединение Q3 (114 мг) и (3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoвую кислоту (46,6 мг) растворяли в дихлорметане (3 мл) и к раствору добавляли 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин (31,5 мг). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционный раствор очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: гексан:этилацетат) с получением указанного в заголовке соединения Q4 (107 мг).

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 7,70 (2H, д, J=7,9 Гц), 7,59 (2H, д, J=7,3 Гц), 7,36-7,21 (9H, м), 5,94 (1H, д, J=9,1 Гц), 5,49 (1H, д, J=8,5 Гц), 5,25 (1H, д, J=12,2 Гц), 5,15-5,01 (3H, м), 4,74 (1H, т, J=10,1 Гц), 4,43 (1H, д, J=9,1 Гц), 4,33 (1H, дд, J=10,4, 7,3 Гц), 4,25 (1H, т, J=8,8 Гц), 4,18 (1H, т, J=7,3 Гц), 4,03-3,92 (3H, м), 3,83-3,69 (3H, м), 3,53 (1H, т, J=9,1 Гц), 3,41 (1H, д, J=2,4 Гц), 3,18-3,10 (1H, м), 2,57-2,37 (3H, м), 2,26-2,21 (5H, м), 1,60-1,40 (8H, м), 1,30-1,10 (60H, м), 0,86-0,79 (21H, м), 0,00 (6H, д, J=2,4 Гц).

[0142]

д) Получение (2R)-2-амино-3-(бензилокси)-3-оксопропил 6-О-[*трет*-бутил(диметил)силил]-3-О-[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]-2-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил}амино}-2-дезоксигексопиранозида (Соединение Q5)

К раствору соединения Q4 (107 мг) в дихлорметане (3 мл) добавляли раствор DBU (4,48 мг) в дихлорметане (0,1 мл) и раствор перемешивали при комнатной температуре в

течение 30 минут. Затем реакционный раствор наносили непосредственно на силикагель и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: хлороформ:метанол) с получением Соединения Q5 (89 мг).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3): 7,34-7,27 (5H, м), 5,68 (1H, д, $J=9,2$ Гц), 5,16 (1H, д, $J=12,2$ Гц), 5,10-5,01 (3H, м), 4,75 (1H, дд, $J=11,0, 9,2$ Гц), 4,16 (1H, д, $J=7,9$ Гц), 3,98 (1H, дд, $J=9,8, 3,1$ Гц), 3,82-3,38 (7H, м), 3,20-3,15 (1H, м), 2,54-2,34 (3H, м), 2,24-2,18 (5H, м), 1,60-1,40 (8H, м), 1,28-1,10 (60H, м), 0,83-0,76 (21H, м), 0,00 (6H, д, $J=2,4$ Гц).

[0143]

е) Получение Ссылочного примера 4

К раствору Ссылочного примера Q5 (89 мг) и Ссылочного примера 2 (36,5 мг) в дихлорметане (3 мл) добавляли 1-этоксикарбонил-2-этокси-1,2-дигидрохиолин (21,4 мг) и реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Реакционный раствор концентрировали и остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: гексан:этилацетат) с получением соединения Ссылочного примера 4 (97 мг).

^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3): 7,37-7,17 (7H, м), 7,12-7,07 (3H, м), 6,68 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 5,45 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 5,22-4,94 (5H, м), 4,70-4,60 (2H, м), 3,90-3,70 (5H, м), 3,65 (1H, тд, $J=9,3, 7,3$ Гц), 3,49 (1H, т, $J=9,5$ Гц), 3,41 (1H, д, $J=2,4$ Гц), 3,12-3,07 (1H, м), 2,53-2,36 (7H, м), 2,24-2,15 (7H, м), 1,60-1,40 (14H, м), 1,30-1,10 (86H, д, $J=9,8$ Гц), 0,82-0,78 (24H, м), 0,00 (6H, с).

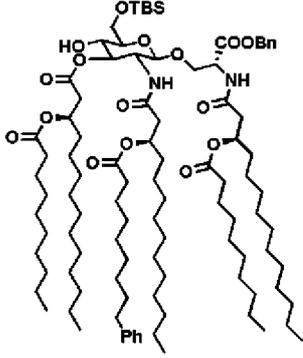
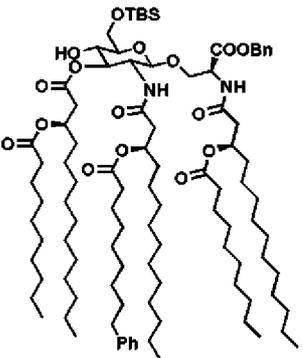
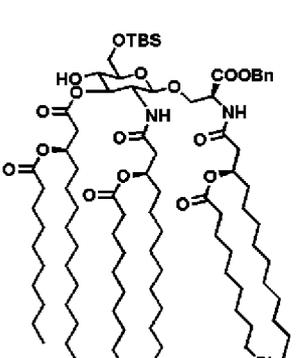
[0144]

Ссылочные примеры 5-8

Каждое соединение, показанное в Таблице 1, получали из каждого соответствующего исходного соединения путем такой же реакции и обработки, как в способе, описанном в Ссылочном примере 3 или 4.

Таблица 1

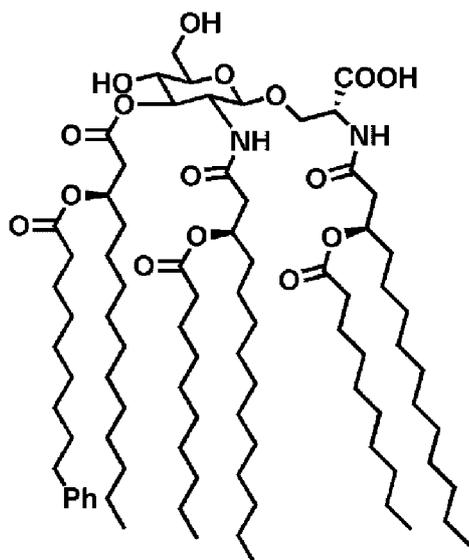
Ссылочный пример	Структура	^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3)
5		7,30-7,18 (7H, м), 7,11-7,08 (3H, м), 6,98 (1H, д, $J=7,9$ Гц), 6,20 (1H, д, $J=7,9$ Гц), 5,09-5,02 (5H, м), 4,90 (1H, т, $J=9,8$ Гц), 4,67-4,60 (1H, м), 4,53 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 4,14 (1H, дд, $J=10,7, 3,4$ Гц), 3,85-3,56 (5H, м), 3,41-3,33 (1H, м), 3,29-3,20 (1H, м), 2,62-2,19 (14H, м), 1,49 (14H, шир.с), 1,25 (86H, м), 0,82-0,78 (24H, м), 0,00 (6H, с).

6		7,40-7,31 (7H, м), 7,10-7,08 (3H, м), 6,70-6,67 (1H, м), 5,45 (1H, д, J=8,4 Гц), 5,21-5,16 (3H, м), 5,10-4,95 (4H, м), 4,69-4,62 (2H, м), 3,91-3,83 (4H, м), 3,80-3,61 (4H, м), 3,54-3,46 (2H, м), 3,12-3,07 (1H, м), 2,56-2,36 (14H, м), 1,50 (14H, шир.с), 1,18 (86H, м), 0,86-0,79 (24H, м), 0,00 (6H, с).
7		7,36-7,32 (7H, м), 7,10-7,08 (3H, м), 6,70-6,67 (1H, м), 5,49 (1H, д, J=8,0 Гц), 5,21-4,95 (5H, м), 4,79-4,62 (2H, м), 3,92-3,61 (6H, м), 3,52-3,43 (2H, м), 3,12-3,08 (1H, м), 2,54-2,36 (8H, м), 2,23-2,10 (6H, м), 1,52 (14H, шир.с), 1,18 (86H, м), 0,85-0,79 (24H, м), 0,00 (6H, с).
8		7,30-7,18 (7H, м), 7,11-7,08 (3H, м), 6,96 (1H, т, J=11,0 Гц), 6,18 (1H, д, J=7,9 Гц), 5,12-5,00 (5H, м), 4,90 (1H, дд, J=11,0, 9,1 Гц), 4,66-4,63 (1H, м), 4,53 (1H, д, J=7,9 Гц), 4,14 (1H, дд, J=11,0, 3,0 Гц), 3,85-3,56 (5H, м), 3,40 (1H, с), 3,29-3,24 (1H, м), 2,61-2,19 (14H, м), 1,60-1,42 (14H, м), 1,30-1,10 (86H, м), 0,84-0,78 (24H, м), 0,00 (6H, с).

[0145]

Пример 1

(2R)-2-[[{(3R)-3-(Деканоилокси)тетрадеканоил]амино}-3-[[3-[[{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеканоил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-[[{(3R)-3-[(9-фенилнаноил)окси]тетрадеканоил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота



Соединение Ссылочного примера 3 (33 мг) и 10% палладий на угле (25,9 мг) добавляли к THF (2 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода, при одной атм., в течение 8 часов. Реакционную смесь фильтровали через целит и фильтрат концентрировали. К остатку добавляли THF (1 мл) и TFA (0,1 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. После завершения реакции реакционную смесь нейтрализовали гидрокарбонатом натрия и экстрагировали хлороформом. Органический слой сушили над безводным сульфатом магния и концентрировали. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: хлороформ:метанол) с получением указанного в заголовке соединения (5,1 мг).

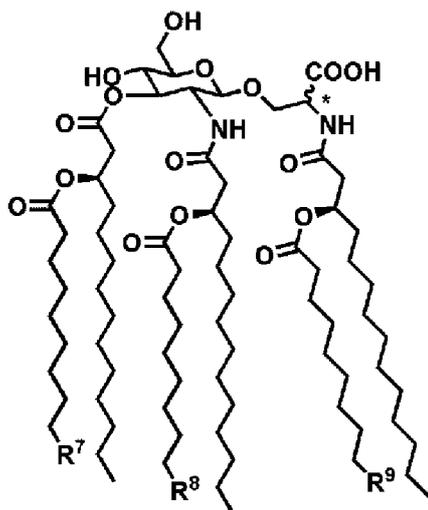
^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}(30:1)$): 7,19 (2H, д, $J=7,6$ Гц), 7,11-7,08 (3 H, м), 5,18-5,14 (1H, м), 5,04 (2H, с), 4,83 (1H, т, $J=9,1$ Гц), 4,51 (1H, с), 4,32 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 3,95-3,60 (4H, м), 3,49 (1H, т, $J=9,4$ Гц), 3,35-3,26 (2H, м), 2,54-2,37 (6H, м), 2,26-2,18 (8H, м), 1,51 (14H, с), 1,18 (86H, с), 0,81 (15H, т, $J=6,7$ Гц).

[0146]

Примеры 2-5

Каждое соединение, показанное в Таблице 2, получали из каждого соответствующего исходного соединения путем такой же реакции и обработки, как в способе, описанном в Примере 1.

Таблица 2



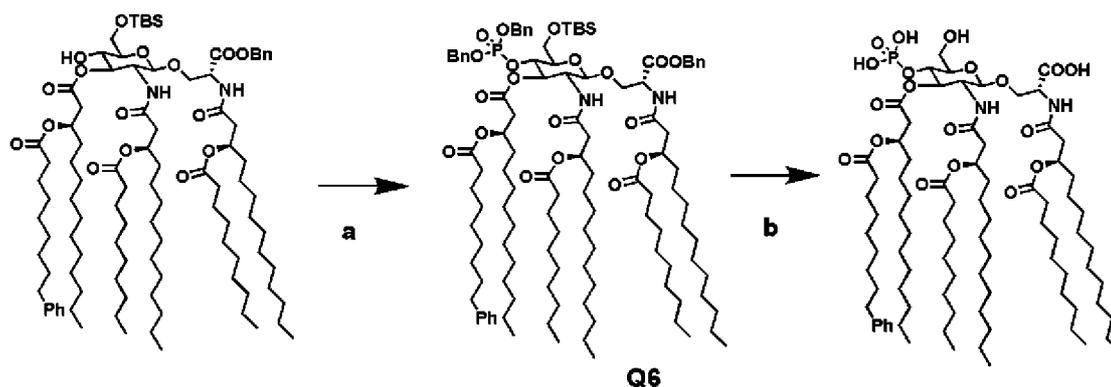
Пример	R ⁷	R ⁸	R ⁹	Стереохимия *	¹ H-ЯМР (400 МГц, CDCl ₃ /CD ₃ OD (30:1))
2	Ph	Me	Me	S	7,19 (2H, д, J=6,7 Гц), 7,11-7,08 (3 H, м), 5,19-5,00 (3H, м), 4,83 (1H, т, J=9,8 Гц), 4,37 (2H, д, J=7,9 Гц), 4,07 (1H, д, J=9,1 Гц), 3,86-3,60 (4H, м), 3,47 (1H, т, J=9,4 Гц), 3,35-3,26 (2H, м), 2,57-2,36 (6H, м), 1,53 (14H, с), 1,19 (86H, с), 0,81 (15H, т, J=7,2 Гц).
3	Me	Ph	Me	R	7,18 (2H, д, J=7,2 Гц), 7,10-7,08 (3H, м), 5,13-5,06 (3H, м), 4,89 (1H, т, J=8,0 Гц), 4,44-4,35 (2H, д, J=3,6 Гц), 4,29 (1H, с), 3,93 (1H, шир.), 3,86-3,62 (4H, м), 3,38-3,35 (2H, м), 2,54-2,44 (6H, м), 2,33-2,19 (8H, м), 1,57-1,44 (14H, м), 1,30-1,12 (86H, м), 0,81 (15H, т, J=6,7 Гц).
4	Me	Me	Ph	R	7,18 (2H, д, J=7,3 Гц), 7,11-7,07 (3H, м), 5,20-5,00 (3H, м), 4,86 (1H, т, J=9,8 Гц), 4,42-4,35 (2H, м), 3,93 (1H, д, J=7,9 Гц), 3,84-3,64 (4H, м), 3,46 (1H, т, J=9,5 Гц), 3,34-3,25 (2H, м), 2,55-2,42 (6H, м), 2,30-2,10 (8H, м), 1,58-1,45 (14H, м), 1,28-1,15 (86H, м), 0,81 (15H, т, J=6,7 Гц).
5	Me	Me	Ph	S	7,18 (2H, д, J=7,3 Гц), 7,11-7,07 (3H, м), 5,14-5,02 (3H, м), 4,85 (1H, т, J=10,1 Гц), 4,38 (1H, д, J=8,5 Гц), 4,30 (1H, с), 4,08 (1H, д, J=11,0 Гц), 3,83-3,64 (4H, м), 3,44 (1H, т, J=9,5 Гц), 3,34-3,28 (3H, м), 2,50-2,10 (14H, м), 1,60-1,40 (14H, м), 1,28-1,12 (86H, м), 0,81 (15H, т, J=7,0 Гц).

[0147]

Ссылочный пример 9

(2R)-2-{{(3R)-3-(Деканоилокси)тетрадеcanoил}амино}-3-{{3-{{(3R)-3-(деканоилокси)тетрадеcanoил}амино}-6-(гидроксиметил)-4-{{(3R)-3-[(9-

фенилнаноил)окси]тетрадеcanoил}окси)-5-(phosphonoокси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота



[0148]

а) Получение (2R)-3-(бензилокси)-2-{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-3-оксопропил 4-O-[бис(бензилокси)фосфорил]-6-O-[трет-бутил(диметил)силил]-2-{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеcanoил]амино}-2-деокси-3-O-{(3R)-3-[(9-фенилнаноил)окси]тетрадеcanoил}гексопиранозида (Соединение Q6)

К раствору Ссылочного примера 3 (400 мг) в дихлорметане (8 мл) добавляли дибензил N, N-диизопропилфосфорамидит (231 мг) и 4,5-дицианоимидазол (79 мг) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 часов. Затем к реакционному раствору добавляли 3-хлорпероксибензойную кислоту (190 мг) и смесь перемешивали при 0°C в течение одного часа. К реакционной смеси добавляли водный раствор гидрокарбоната натрия и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут и затем экстрагировали хлороформом. Органический слой сушили над безводным сульфатом магния и концентрировали. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: гексан:этилацетат) с получением Соединения Q6 (365 мг).

¹H-ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 7,43-7,24 (17H, м), 7,19-7,13 (3H, м), 6,79 (1H, д, J=8,2 Гц), 5,81 (1H, д, J=8,2 Гц), 5,29-5,05 (6H, м), 4,96 (4H, дд, J=18,3, 7,8 Гц), 4,75-4,68 (1H, м), 4,31-4,25 (2H, м), 4,00-3,85 (3H, м), 3,68 (1H, дд, J=11,4, 5,5 Гц), 3,55 (1H, дт, J=14,5, 5,6 Гц), 3,31-3,26 (1H, м), 2,61-2,18 (14H, м), 1,70-1,50 (14H, м), 1,35-1,18 (86H, дд, J=34,3, 27,4 Гц), 0,88 (15H, тд, J=6,7, 2,4 Гц), 0,85 (9H, с), 0,00 (6H, д, J=5,5 Гц).

[0149]

б) Получение Ссылочного примера 9

К раствору соединения Q6 (365 мг) в THF (20 мл) добавляли 10% палладий на угле (248 мг) и 2 моль/л хлористоводородной кислоты (0,5 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода (4 атм) в течение 8 часов. Реакционную смесь фильтровали через целит и фильтрат концентрировали. Полученный остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюирующий растворитель: хлороформ:метанол (метанол содержал 2,5% воды и 2,5% триэтиламина)) с получением указанного в заголовке соединения (140 мг).

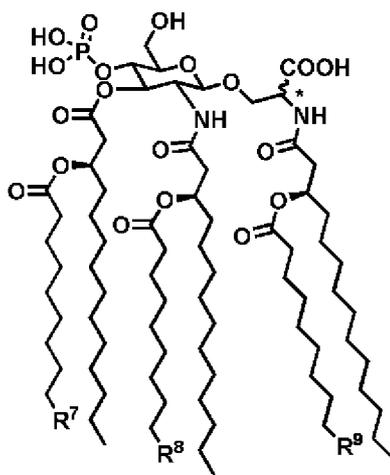
^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}(30:1)$): 7,19 (2H, д, $J=7,3$ Гц), 7,11-7,07 (3H, м), 5,22-4,99 (4H, м), 4,61-4,52 (1H, м), 4,42-4,32 (1H, м), 4,21-4,10 (1H, м), 3,95-3,80 (2H, м), 3,80-3,60 (2H, м), 3,34-3,20 (2H, м), 2,97 (4H, кв, $J=7,3$ Гц), 2,60-2,30 (6H, м), 2,30-2,10 (8H, м), 1,60-1,40 (14H, м), 1,30-1,10 (86H, м), 0,80 (15H, т, $J=6,7$ Гц).

[0150]

Ссылочные примеры 10-14

Каждое соединение, показанное в Таблице 3, получали из каждого соответствующего исходного соединения путем такой же реакции и обработки, как в способе, описанном в Ссылочном примере 9.

Таблица 3



Ссылочный пример	R ⁷	R ⁸	R ⁹	Стереохимия *	^1H -ЯМР (400 МГц, $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$ (30:1))
10	Ph	Me	Me	S	7,18 (2H, д, $J=6,7$ Гц), 7,11-7,07 (3H, м), 5,18-5,05 (4H, м), 4,51-4,40 (2H, м), 4,20-4,05 (2H, м), 3,78-3,60 (4H, м), 3,4-3,38 (2H, м), 2,65-2,10 (14H, м), 1,60-1,40 (14H, м), 1,30-1,10 (86H, м), 0,81 (15H, т, $J=6,7$ Гц).
11	Me	Ph	Me	R	7,18 (2H, д, $J=7,2$ Гц), 7,11-7,09 (3H, м), 5,17-5,00 (4H, м), 4,47 (1H, д, $J=3,6$ Гц), 4,32 (1H, с), 4,14-3,84 (4H, м), 3,68-3,57 (2H, м), 3,34-3,25 (3H, м), 2,63-2,35 (8H, м), 2,30-2,12 (6H, м), 1,60-1,40 (14H, м), 1,25-1,10 (86H, м), 0,81 (15H, т, $J=6,7$ Гц).
12	Me	Ph	Me	S	7,18 (2H, д, $J=7,2$ Гц), 7,11-7,09 (3H, м), 5,27-5,13 (4H, м), 3,66-3,35 (4H, м), 3,08-3,04 (2H, м), 2,51-2,50 (3H, м), 2,20-1,99 (24H, м), 1,60-1,40 (14H, м), 1,31-1,18 (86H, м), 0,78 (15H, т, $J=6,7$ Гц).
13	Me	Me	Ph	R	7,20-7,05 (5H, м), 5,20-4,98 (4H, м), 4,43 (1H, д, $J=8,5$ Гц), 4,35 (1H, с), 4,12 (1H, кв, $J=9,1$ Гц), 3,92-3,80 (3H,

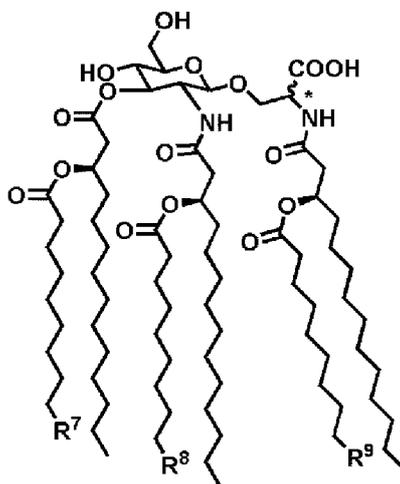
					м), 3,72-3,60 (2H, м), 3,34-3,10 (2H, м), 2,60-2,10 (14H, м), 1,58-1,40 (14H, м), 1,25-1,10 (86H, м), 0,80 (15H, т, J=6,7 Гц).
14	Me	Me	Ph	S	7,18 (2H, д, J=7,3 Гц), 7,11-7,07 (3H, м), 5,10-5,02 (4H, м), 4,53 (1H, д, J=8,5 Гц), 4,33 (1H, с), 4,15-3,90 (4H, м), 3,67-3,59 (2H, м), 3,35-3,33 (2H, м), 3,24-3,20 (1H, м), 2,60-2,15 (14H, м), 1,60-1,40 (14H, м), 1,25-1,10 (86H, м), 0,81 (15H, т, J=6,7 Гц).

[0151]

Ссылочный пример 15

Каждое соединение, показанное в Таблице 4, получали из каждого соответствующего исходного соединения путем такой же реакции и обработки, как в способе, описанном в Примере 1.

Таблица 4



Ссылочный пример	R ⁷	R ⁸	R ⁹	Стереохимия *	¹ H-ЯМР (400 МГц, CDCl ₃ /CD ₃ OD (30:1))
15	Me	Ph	Me	S	7,18 (2H, д, J=7,2 Гц), 7,10-7,08 (3H, м), 5,13-5,06 (3H, м), 4,85 (1H, т, J=8,8 Гц), 4,41-4,11 (3H, м), 3,77-3,64 (4H, м), 3,38-3,35 (2H, м), 2,57-2,42 (6H, м), 2,28-2,11 (8H, м), 1,57-1,44 (14H, м), 1,33-1,08 (86H, м), 0,81 (15H, т, J=6,7 Гц).

[0152]

Испытание 1Анализ репортерного гена TLR4 человека

Клеточная линия HEK-BlueTM hTLR4 (Invivogen Corporation) представляет собой стабильно котрансфицированную клеточную линию, которая экспрессирует репортерный ген TLR4, MD2, CD14 и секреторной щелочной фосфатазы (SEAP) человека под транскрипционной регуляцией элемента ответа NF-κB. Экспрессия TLR4 в клеточной

линии уже была испытана методом ПЦР в режиме реального времени, проточной цитометрии. Трансфектанты со стабильной экспрессией отбирали с использованием антибиотика HEK-Blue™ Selection. Передача сигналов TLR приводит к транслокации NF-κB, а активация промотора приводит к экспрессии гена SEAP. TLR4-специфическую активацию оценивали путем определения уровня SEAP, продуцируемого после инкубации клеток при 37°C в течение 16-20 часов с каждым соединением, полученным в Примерах и Ссылочных примерах, в присутствии 0,1% (об/об) DMSO. Активность TLR4 человека в отношении соединения по настоящему изобретению оценивали с использованием анализа репортерного гена TLR4 человека, и концентрацию соединения, которая давала половину максимального уровня SEAP, индуцированного липополисахаридом (LPS), определяли как EC₅₀.

[153]

Испытание 2

Анализ репортерного гена TLR4 мыши

Клеточная линия HEK-Blue™ mTLR4 (Invivogen) представляет собой стабильно котрансфицированную клеточную линию, которая экспрессирует репортерный ген TLR4, MD2, CD14 и секреторной SEAP мыши под транскрипционной регуляцией элемента ответа NF-κB. Экспрессия TLR4 в клеточной линии уже была испытана методом ПЦР в режиме реального времени, проточной цитометрии. Трансфектанты со стабильной экспрессией отбирали с использованием антибиотика HEK-Blue™ Selection. Передача сигналов TLR приводит к транслокации NF-κB, а активация промотора приводит к экспрессии гена SEAP. TLR4-специфическую активацию оценивали путем определения уровня SEAP, продуцируемого после инкубации клеток при 37°C в течение 16-20 часов с каждым соединением, полученным в Примерах и Ссылочных примерах, в присутствии 0,1% (об/об) DMSO. Активность TLR4 мыши в отношении соединения по настоящему изобретению оценивали с использованием анализа репортерного гена TLR4 мыши, и концентрацию соединения, которая давала половину максимального уровня SEAP, индуцированного LPS, определяли как EC₅₀.

[0154]

Результаты испытаний 1 и 2 представлены в Таблицах 5 и 6.

Таблица 5

Пример	TLR4 человека, EC ₅₀ (нг/мл)	TLR4 мыши, EC ₅₀ (нг/мл)
1	64	21
2	22	21
3	237	202
4	77	57
5	148	73

Таблица 6

Ссылочный пример	TLR4 человека, EC ₅₀ (нг/мл)	TLR4 мыши, EC ₅₀ (нг/мл)
9	68	44
10	20	20
11	708	78
12	>1000	>1000
13	53	21
14	22	22

[0155]

Результаты, представленные в Таблице 5, показали, что примеры соединений по настоящему изобретению обладают агонистическим эффектом на TLR4, который почти равен или выше, чем у соединений Ссылочных примеров 9-14, показанных в Таблице 6, которые имеют фосфатную группу.

[0156]

Получение липосомальной композиции (Примеры 6-7, Ссылочные примеры 16-17)

1,2-Димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (35,45 мг), фосфатидилглицерин яичного желтка (24,45 мг), каждое соединение, показанное в Таблице 7 (6 мг), растворяли в трет-бутиловом спирте и раствор лиофилизировали. Забуференный фосфатом физиологический раствор (3 мл) добавляли к лиофилизированному продукту. Полученный раствор пропускали через 0,1 мкм поликарбонатную мембрану с использованием экструдера, нагретого примерно до 65°C (мини-экструдер, Avanti Polar Lipids), для получения липосомальной композиции. Масштаб получения при необходимости меняли. В липосомальной композиции Ссылочного примера 17 соединение Ссылочного примера 10 не было обнаружено ЖХМС анализом в Условиях С. Предполагали, что соединение Ссылочного примера 10 не было преобразовано в липосомы, т.е. оно было захвачено мембраной экструдера.

Указанные выше липосомы разбавляли 10-кратно очищенной водой и измеряли средний размер частиц, показатель полидисперсности и дзета-потенциал разбавленных липосом методом динамического светорассеяния (ZETASIZER Nano-ZS, Malvern). Таким образом, композиции Примеров 6 и 7 и Ссылочного примера 16 измеряли на содержание высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ).

ВЭЖХ, условия

Детектор: УФ (205 нм)

ВЭЖХ: Shimadzu LC 20AD

Колонка: XSelect CSH Phenyl-Hexyl 2,5 мкм 75 × 4,6 мм

Скорость потока: 0,8 мл/мин

Подвижная фаза: А: 0,1% трифторуксусной кислоты/вода

В: 2-пропанол

Программа времени:		
Стадия	Время (мин)	
1	0,0-7,0	A:B=20:80
2	7,0-7,5	A:B=20:80-5:95
3	7,5-11,0	A:B=5:95
4	11,0-11,1	A:B=5:95-20:80
5	11,1-15,0	A:B=20:80

Результаты представлены в Таблице 7.

Таблица 7

Пример/ Ссылочный пример	Соединение	Содержание (мг/мл)	средний размер частиц (Z- среднее, нм)	индекс полидисперсности (PDI)	дзета- потенциал (мВ)
Пример 6	Пример 1	2,1	98,4	0,229	-74,7
Пример 7	Пример 2	2,2	84,6	0,212	-71,4
Ссылочный пример 16	Ссылочный пример 9	2,0	123,0	0,122	-64,8
Ссылочный пример 17	Ссылочный пример 10	невозможно измерить			

[0157]

Испытание 3

Равную смесь овальбумина (OVA) (2 мг/мл) в качестве антигена и композиции, полученной в Примере 6, Примере 7 или Ссылочном примере 16 (содержащей 0,2 или 2 мг/мл соединения Примера 1, Примера 2 или Ссылочного примера 9) вводили внутримышечно в икроножную мышцу 7-недельным самцам мышей C57BL/6 (100 мкл/мышь), что было определено как первая иммунизация. Через две недели такую же смесь снова вводили внутримышечно в икроножную мышцу, что определялось как дополнительная иммунизация. Через неделю после дополнительной иммунизации под ингаляционной анестезией брали кровь из сердца, а из крови центрифугированием собирали сыворотку. Значение OVA-специфического IgG2c в каждой сыворотке измеряли следующим методом ELISA. В 96-луночный планшет добавляли раствор OVA (SIGMA), 1% обезжиренное молоко (Wako) для блокирования, добавляли образец сыворотки, разведенный фосфатным буферным раствором, добавляли козье антимышиное IgG2c (Southern Bio) в качестве вторичного антитела, добавляли субстрат пероксидазы (KPL) SureBlue™ TMB Microwell и затем определяли количество продукта ферментативной реакции при помощи микропланшетного ридера. Результаты представлены на Фиг. 1 и 2.

Пример 1, Пример 2 и Ссылочный пример 9 демонстрировали значительно сильную индукцию OVA-специфического IgG2c по сравнению с группой отрицательного контроля.

[0158]

Испытание 4

Равную смесь, полученную в испытании 3, овальбумина (OVA)(2 мг/мл) и композиции, полученной в Примере 6, Примере 7 или Ссылочном примере 16 (содержащей 0,2 или 2 мг/мл соединения Примера 1, Примера 2 или Ссылочного примера 9) вводили мышам (100 мкл/мышь). Получали клетки селезенки мыши, к клеткам добавляли OVA и брефельдин А (eBioscience) и клетки культивировали в течение ночи. Собранные клетки окрашивали APC-меченым антимышиным CD3ε антителом (Invitrogen), PerCP-меченым антимышиным CD4 антителом (BioLegend) и красителем Fixable Viability Dye eFluor™ 520 (Invitrogen) и фиксировали буфером для фиксации/пермеабиллизации (Invitrogen). Клетки обрабатывали буфером для пермеабиллизации (Invitrogen) и затем окрашивали коктейлем антител, включающим BV421-меченное анти-IFN-γ антитело (BioLegend), PE-Cy7-меченное анти-IL-2 антитело (eBioscience) и PE-меченное TNF-α (BioLegend). Данные получали и анализировали при помощи FACS Cant II (BD Biosciences) и программного обеспечения FLOWJO (TreeStar). Результаты представлены на Фиг. 3 и 4.

Отдельно клетки селезенки окрашивали V450-меченым антимышиным CD3ε антителом (Invitrogen), Alexa Fluor™ 647-меченым антимышиным CD8 антителом (MBL), PE-меченым H-2Kb OVA Tetramer-SIINFEKL (MBL) и красителем Fixable Viability Dye eFluor™ 520 (Invitrogen). Данные получали и анализировали при помощи FACS Cant II (BD Biosciences) и программного обеспечения FLOWJO (TreeStar). Результаты представлены на Фиг. 5 и 6.

Кроме того, отдельно клетки селезенки окрашивали V450-меченым антимышиным CD3ε антителом (Invitrogen), Alexa Fluor™ 647-меченым антимышиным CD8 антителом (MBL), PE-Cy7-меченым антимышиным CD44 антителом (Invitrogen), PerCP-Cy5.5-меченым антимышиным CD62L антителом (Invitrogen) и красителем Fixable Viability Dye eFluor™ 520 (Invitrogen). Данные получали и анализировали при помощи FACS Cant II (BD Biosciences) и программного обеспечения FLOWJO (TreeStar). Результаты представлены на Фиг. 7 и 8.

При использовании соединения Примера 1, Примера 2 или Ссылочного примера 9, процент OVA-специфических хелперных Т-клеток 1 типа, особенно OVA-специфических многофункциональных CD4-положительных Т-лимфоцитов, процент MHC-рестриктированных OVA-специфических CD8-положительных Т-лимфоцитов (OVA тетрамер-положительных CD8Т-клеток на Фиг. 5 и 6) и процент CD8-положительных эффекторных Т-лимфоцитов памяти были значительно увеличены по сравнению с группой отрицательного контроля.

[0159]

Результаты в испытаниях 3 и 4 показали, что примеры соединений по настоящему изобретению обладают адьювантным эффектом.

ПРОМЫШЛЕННАЯ ПРИМЕНИМОСТЬ

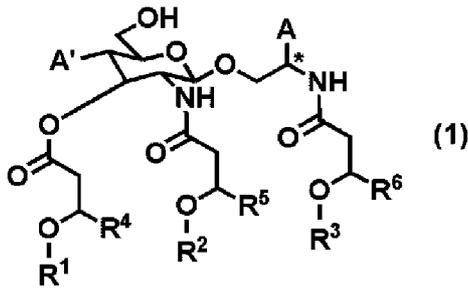
[0160]

Соединения по настоящему изобретению можно использовать в качестве

адъюванта для усиления иммуностимулирующей активности в композиции вакцины.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (1):



или его фармацевтически приемлемая соль, где

A и A' независимо представляют собой водород, гидроксиль или $-(\text{CH}_2)_m\text{-COOH}$, при условии, что по меньшей мере один из A или A' представляет собой $-(\text{CH}_2)_m\text{-COOH}$,

R¹ представляет собой $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{-X}$ или $-\text{CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-X}$,

R² представляет собой $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_o\text{-Y}$ или $-\text{CH}_2\text{-(CH}_2)_o\text{-Y}$,

R³ представляет собой $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_p\text{-Z}$ или $-\text{CH}_2\text{-(CH}_2)_p\text{-Z}$,

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C₆₋₁₀ арил (указанный C₆₋₁₀ арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидроксиль, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидроксиль, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси), при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C₆₋₁₀ арил (указанный C₆₋₁₀ арил может быть замещен 1-5 заместителями, независимо выбранными из гидроксиль, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси) или 5-10-членный гетероарил (указанный 5-10-членный гетероарил может быть замещен 1-4 заместителями, независимо выбранными из гидроксиль, C₁₋₆ алкила, галогена, циано и C₁₋₆ алкокси),

при условии, что когда A представляет собой $-\text{COOH}$ и стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил,

R⁴, R⁵ и R⁶ независимо представляют собой C₁₀₋₂₀ алкил,

m независимо представляет собой целое число от 0 до 6, и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 5 до 20.

2. Соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемая соль, где m имеет значение 0.

3. Соединение по п. 1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где R¹ представляет собой $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_n\text{-X}$, R² представляет собой $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_o\text{-Y}$ и R³ представляет собой $-\text{C}(\text{O})(\text{CH}_2)_p\text{-Z}$.

4. Соединение по любому из п.п. 1-3 или его фармацевтически приемлемая соль, где A представляет собой COOH.

5. Соединение по любому из п.п. 1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где A представляет собой COOH и A' представляет собой гидроксиль.

6. Соединение по любому из п.п. 1-5 или его фармацевтически приемлемая соль,

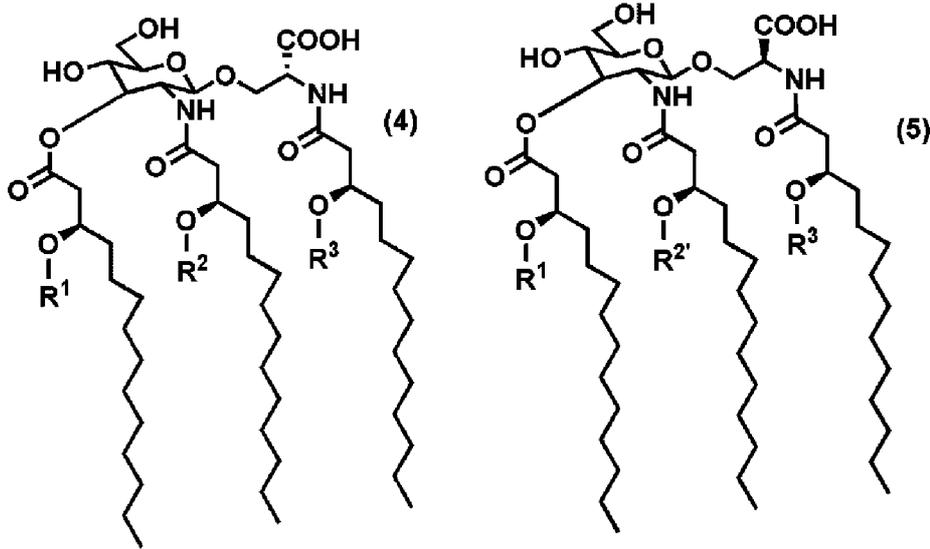
гетероарил, при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил,

при условии, что когда стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил, и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 6 до 10,

или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Соединение по п. 1, которое представлено формулой (4) или формулой (5):



где

R¹ представляет собой -C(O)(CH₂)_n-X,

R² представляет собой -C(O)(CH₂)_o-Y,

R³ представляет собой -C(O)(CH₂)_p-Z,

R^{2'} представляет собой -C(O)(CH₂)_o-CH₃,

X, Y и Z независимо представляют собой метил, C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил, при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z в формуле (4) представляет собой C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил и по меньшей мере один из X или Z в формуле (5) представляет собой C₆₋₁₀ арил или 5-10-членный гетероарил, и

n, o и p независимо представляют собой целое число от 7 до 9,

или его фармацевтически приемлемая соль.

10. Соединение по любому из п.п. 1-9 или его фармацевтически приемлемая соль, где

X, Y и Z независимо представляют собой метил или фенил, при условии, что по меньшей мере один из X, Y или Z представляет собой фенил,

при условии, что когда A представляет собой -COOH и стереохимия * представляет собой S-конфигурацию, Y представляет собой метил.

11. Соединение по п. 1, которое выбрано из следующей группы соединений:

(2R)-2-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеканоил}амино}-3-{{3-{{(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеканоил}амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-{{(3R)-3-((9-

фенилнаноил)окси]тетрадеканоил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота,
 (2S)-2-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеканоил]амино}-3-{{[3-{{[(3R)-3-(
 (decanoилокси)тетрадеканоил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-{{(3R)-3-[(9-
 фенилнаноил)окси]тетрадеканоил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота,
 (2R)-2-{{[(3R)-3-(деcanoилокси)тетрадеканоил]амино}-3-{{[4-{{[(3R)-3-(
 (decanoилокси)тетрадеканоил]окси}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-3-{{(3R)-3-[(9-
 фенилнаноил)окси]тетрадеканоил}амино)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота,
 (2R)-2-{{[(3R)-3-(9-фенилнаноил)окси]тетрадеканоил}амино}-3-{{[3-{{[(3R)-3-(
 (decanoилокси)тетрадеканоил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-{{(3R)-3-(
 (decanoилокси)тетрадеканоил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота и
 (2S)-2-{{[(3R)-3-(9-фенилнаноил)окси]тетрадеканоил}амино}-3-{{[3-{{[(3R)-3-(
 (decanoилокси)тетрадеканоил]амино}-5-гидрокси-6-(гидроксиметил)-4-{{(3R)-3-(
 (decanoилокси)тетрадеканоил}окси)оксан-2-ил]окси}пропановая кислота.

12. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из п.п. 1-11 или его фармацевтически приемлемую соль.

13. Фармацевтическая композиция по п. 12, которая представляет собой липидную композицию.

14. Фармацевтическая композиция по п. 12 или 13, где липидная композиция представляет собой липосомальную композицию, включающую фосфолипид.

15. Фармацевтическая композиция по п. 14, где фосфолипид представляет собой 1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфохолин и фосфатидилглицерин яичного желтка.

16. Фармацевтическая композиция по п. 14 или 15, где липидная композиция содержит по меньшей мере одну добавку, выбранную из группы, состоящей из неорганической кислоты, соли неорганической кислоты, органической кислоты, соли органической кислоты, сахаров, буферного агента, антиоксиданта и полимеров.

17. Фармацевтическая композиция по любому из п.п. в 12-16, которая дополнительно содержит антиген.

18. Фармацевтическая композиция по п. 17, где антиген представляет собой антиген, происходящий из патогена.

19. Адъювант вакцины, содержащий соединение по любому из п.п. 1-11 или его фармацевтически приемлемую соль.

20. Адъювант вакцины по п. 19, который представляет собой адъювант для противоинойфекционной вакцины.

21. Набор, содержащий

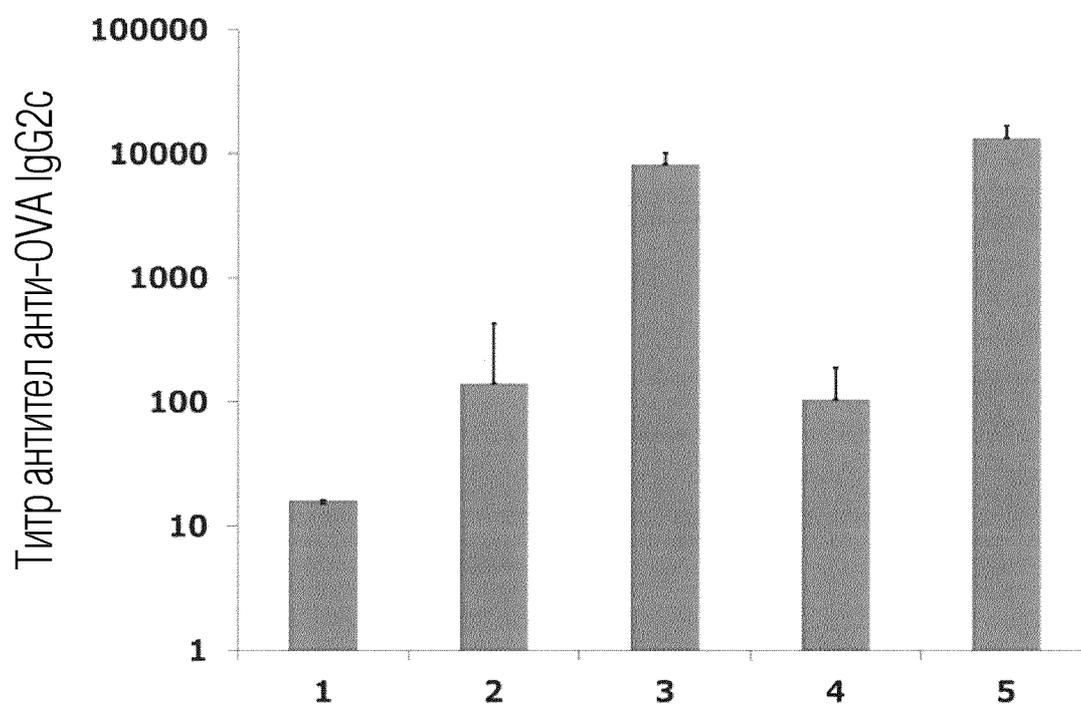
а) соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемую соль, или фармацевтическую композицию, содержащую соединение по п. 1 или его фармацевтически приемлемую соль; и

б) фармацевтическую композицию, содержащую антиген.

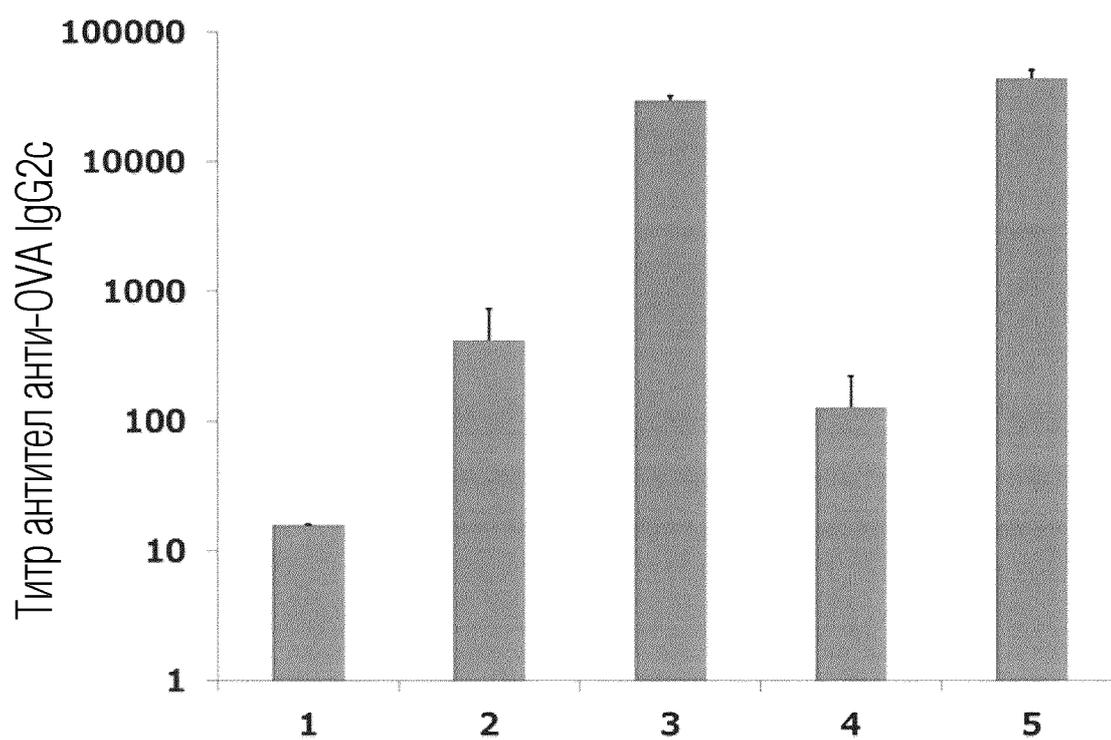
22. Набор по п. 21, где антиген представляет собой антиген, происходящий из патогена.

1/7

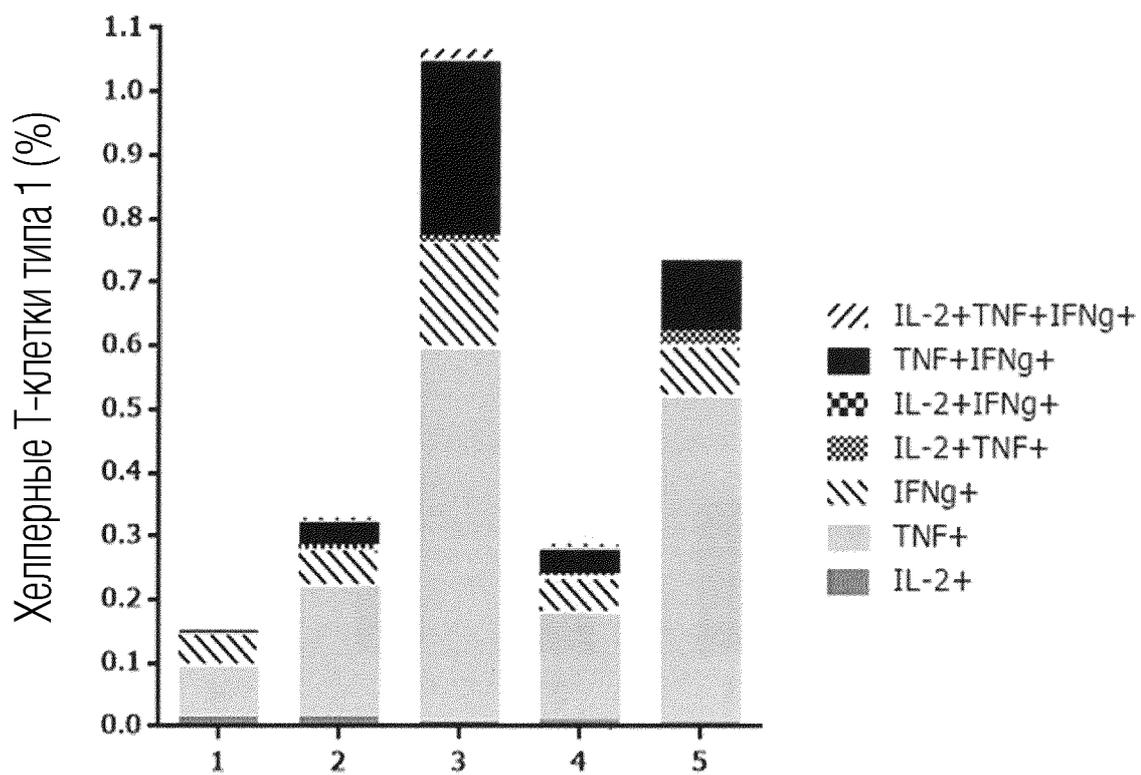
ФИГ. 1



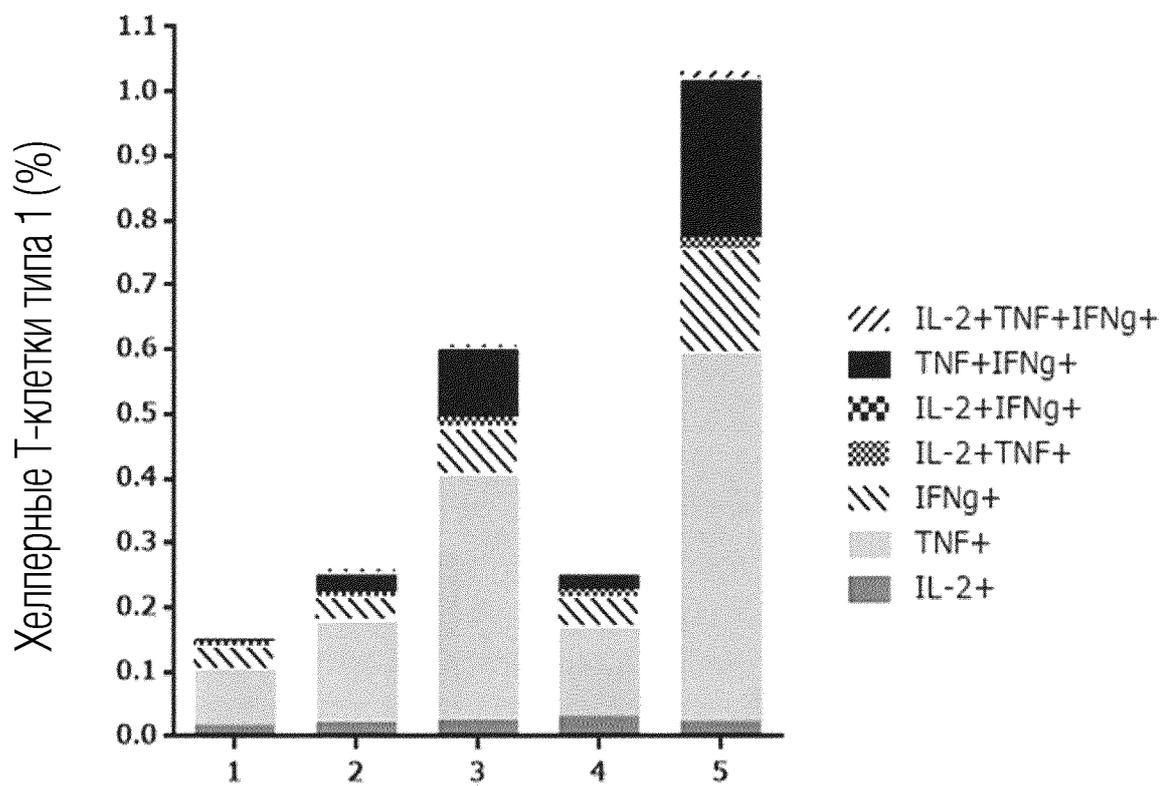
ФИГ. 2



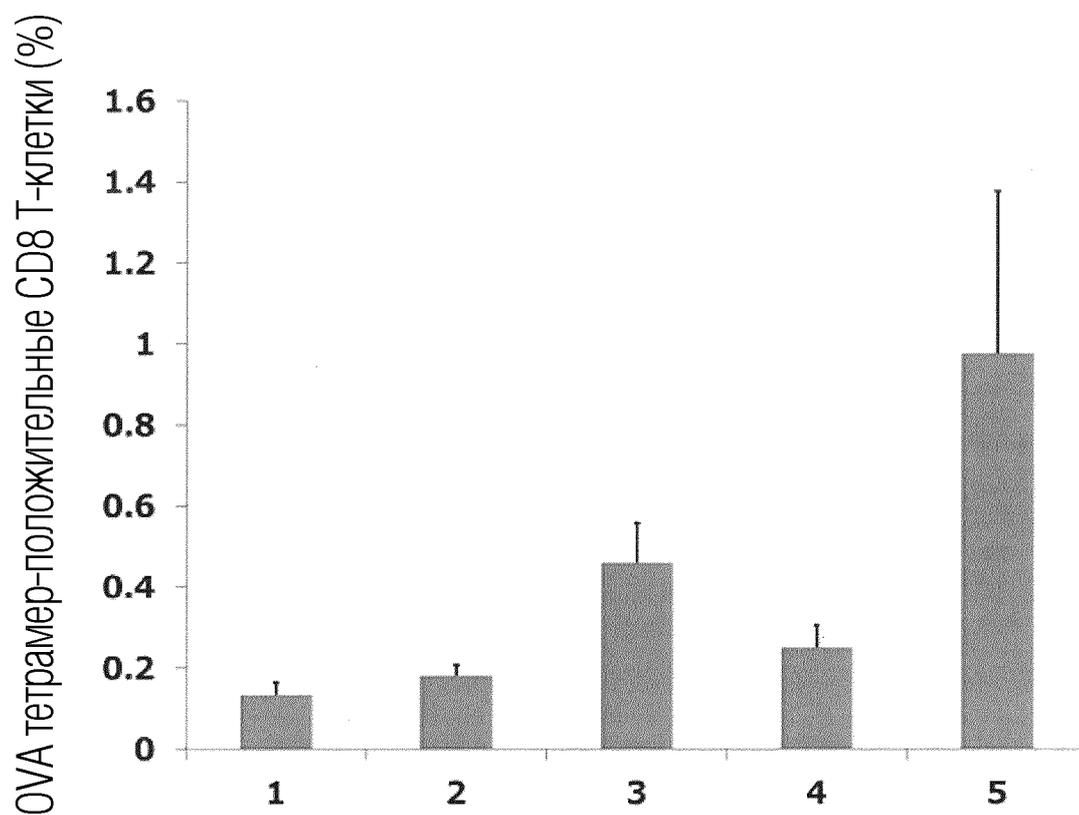
ФИГ. 3



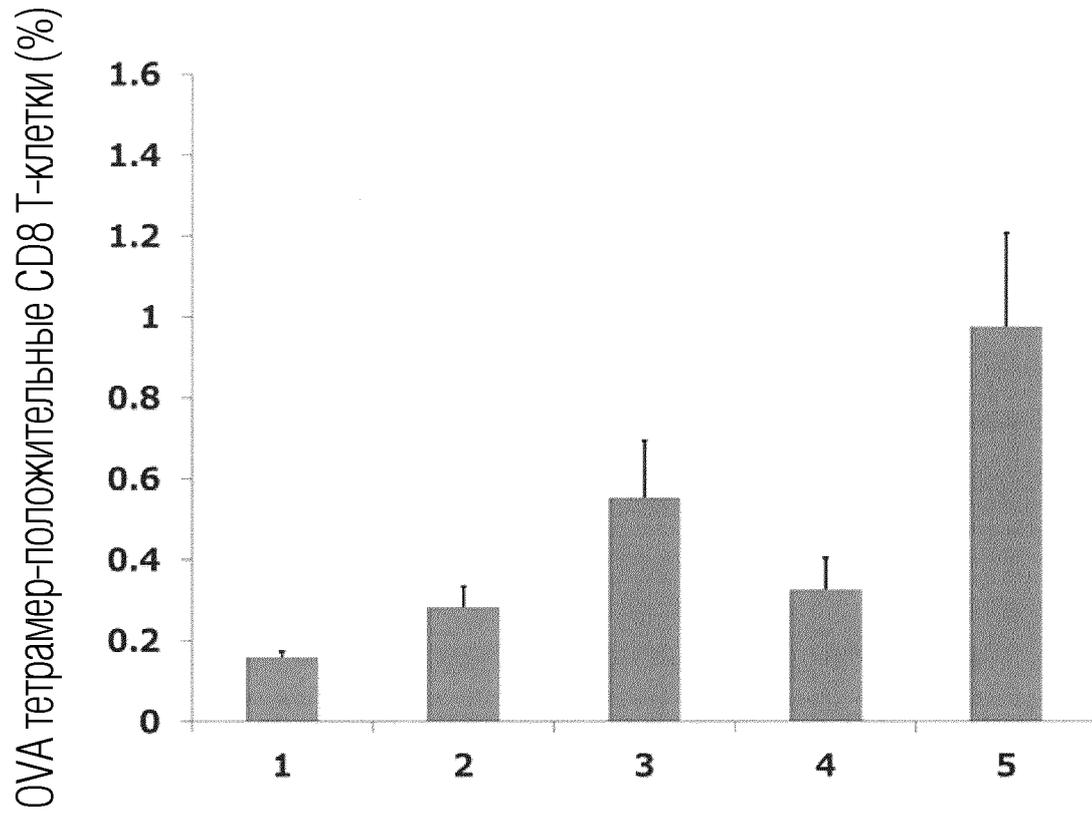
ФИГ. 4



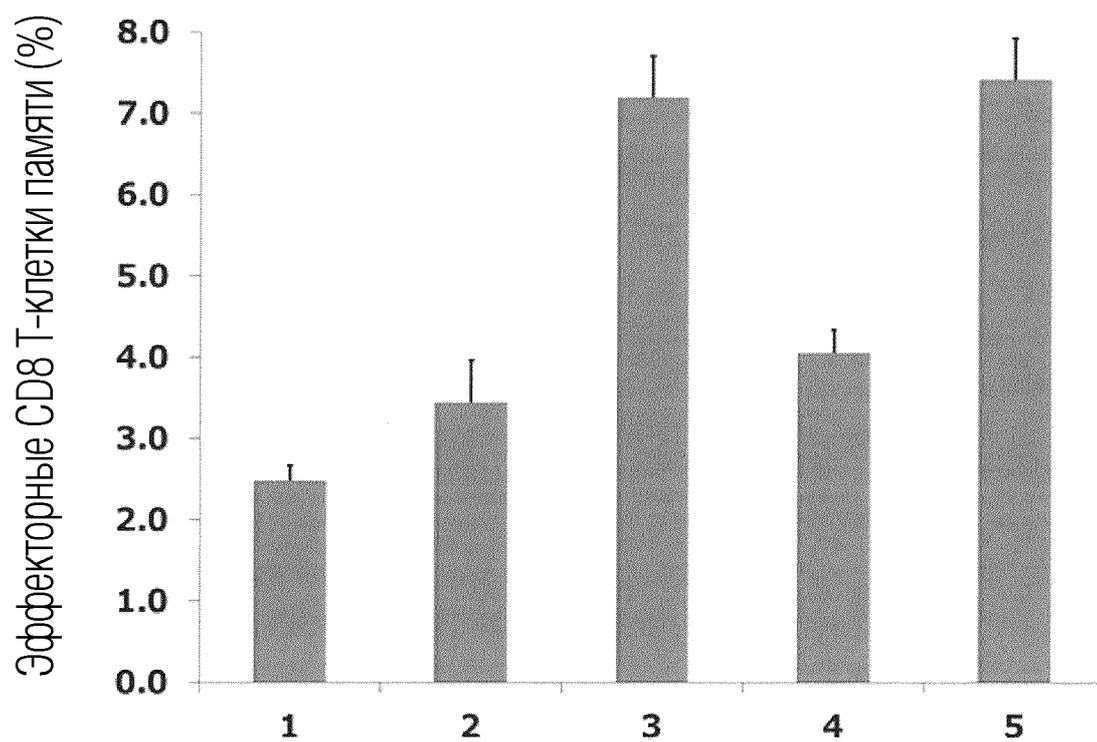
ФИГ. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7



ФИГ. 8

