

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 201791535 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2018.01.31

(22) Дата подачи заявки
2016.03.28

(51) Int. Cl. C07H 19/10 (2006.01)
C07H 19/20 (2006.01)
C07H 1/00 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) НОВОЕ СОЕДИНЕНИЕ 4'-ТИОНУКЛЕОЗИДА, А ТАКЖЕ СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ, ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 201510157772.0

(32) 2015.04.03

(33) CN

(86) PCT/CN2016/077519

(87) WO 2016/155593 2016.10.06

(71) Заявитель:

СЫЧУАНЬ КЭЛУНЬ-БАЙОТЕК
БАЙОФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД.
(CN)

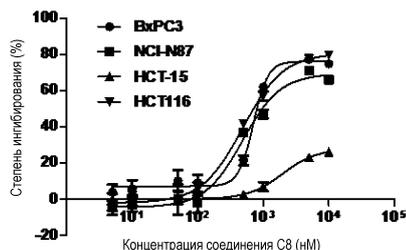
(72) Изобретатель:

Е Хун, Лю Ган, Юй Нань, Цзэн Хун,
Чжао Минлянь, Цин Янь, Дэн Хуа,
Ли Вэньцзя, Ли Дунхун, Су Дунхай,
Чжун Вэй, Ли Шаохуа, У Сюньвэй,
Ван Личунь, Ван Цзини (CN)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к новому соединению 4'-тионуклеозида, способу его получения, содержащей его фармацевтической композиции и его применению. Конкретно, настоящее изобретение относится к фосфамидному производному 4'-тионуклеозида, способу его получения, содержащей его фармацевтической композиции, применению его в получении лекарственного средства для предотвращения или лечения заболеваний с нарушенной пролиферацией клеток (например, опухолей или рака и родственных заболеваний) или вирусных инфекционных заболеваний, и способу его применения для предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток (например, опухолей или рака и родственных заболеваний) или вирусных инфекционных заболеваний.



A1

201791535

201791535

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-542872EA/071

НОВОЕ СОЕДИНЕНИЕ 4'-ТИОНУКЛЕОЗИДА, А ТАКЖЕ СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ, ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к новому 4'-тионуклеозидному соединению, к способу его получения, к содержащей его фармацевтической композиции и его применению. Конкретно, настоящее изобретение относится к фосфамидному производному 4'-тионуклеозида, к способу его получения, к содержащей его фармацевтической композиции и его применению для предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток (например, опухоли, рака и родственных заболеваний) или вирусного инфекционного заболевания.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Природный нуклеозид представляет собой гликозид, содержащий рибозу или дезоксирибозу и основание (такое как аденин, тимин, гуанин, цитозин или урацил), и представляет собой важный компонент ДНК и РНК. Неприродные синтезированные нуклеозидные аналоги представляют собой важный класс химиотерапевтических лекарственных средств для опухолей, и их называют антиметаболитами. Их эффект в основном достигается влиянием на ферментную систему в опухолевых клетках, посредством этого ингибируя синтез ДНК и РНК. Согласно статистике ВОЗ, рак представляет собой одну из главных причин смертности по всему миру. Более того, резистентность к лекарственным средствам раковых клеток является широко распространенной, и существует острая необходимость в разработке новых противораковых лекарственных средств для сохранения здоровья людей. В связи с этим, в фармацевтической промышленности существует непростая задача разработки безопасных и надежных противораковых лекарственных средств. Терапия, в которой применяют специфическое для органа нуклеозидное пролекарство, представляет собой один из самых многообещающих терапевтических способов.

Нуклеозидные лекарственные средства, такие как гемцитабин, азацитидин, децитабин, цитарабин, флударабин, кладрибин, 6-

азауридин, тиазофурин и атромид и т.д., широко применяют для лечения различных видов рака. Имеется большое количество нуклеозидных лекарственных средств, которые находятся в настоящее время на различных стадиях клинических разработок.

Гемцитабин представляет собой пиримидиновый нуклеозидный аналог, разработанный Eli Lilly and Company в США, и он представляет собой важное противораковое лекарственное средство на основе нуклеозида в качестве терапевтического агента первой линии для прогрессирующего рака поджелудочной железы, прогрессирующего немелкоклеточного рака легкого, локализованного или метастатического рака мочевого пузыря и метастатического рака молочной железы. Он обладает широким спектром противоопухолевой активности, и является эффективным для ряда дополнительных солидных опухолей. Гемцитабин обычно требуется вводить в комбинации с паклитакселом, цисплатиной и/или карбоплатиной. Гемцитабин обладает низкой клеточной проницаемостью, низкой биодоступностью и коротким временем полувыведения в клетках (между 32 и 94 минутами), и таким образом, требуется непрерывное внутривенное введение высокой дозы (с рекомендованной дозой 1000 мг/м^2) так, чтобы поддерживать эффективную концентрацию лекарственного средства и токсичность для раковых клеток. Ограничивающая дозу токсичность, вызванная применяемой высокой дозой гемцитабина, влияет на клиническую эффективность, и приводит в результате к группе побочных эффектов и угроз безопасности, таких как лейкопения, нарушение трансаминазы, протеинурия, а также тошнота и рвота и т.д. Кроме того, гемцитабин обладает рядом недостатков, включая риск тканевой специфичности, которая приводит к большим системным токсическим эффектам; быстрый метаболизм и короткое время полужизни в плазме; лекарственную устойчивость в опухолях; слабые эффекты, достигаемые пероральным применением, обычное требование введения внутривенно, высокую дозу и несколько побочных эффектов; низкую эффективность, достигаемую при введении только данного лекарственного средства, и необходимость совместного введения другого противоракового лекарственного средства; и т.д.

Гемцитабин обладает низкой пероральной биодоступностью и, таким образом, обычно требуется вводить его внутривенно. Низкая пероральная биодоступность является результатом пресистемного метаболизма (смотри Shipley LA., et al., "Metabolism and disposition of gemcitabine, and oncolytic deoxycytidine analog, in mice, rats, and dogs". Drug Metabolism & Disposition. 20(6):849-55, 1992). Кроме того, при дозировании перорально, гемцитабин участвует в вызывании нежелательных ограничивающих дозу поражений желудочно-кишечного тракта, характеризующихся умеренным-заметным повреждением мукозального эпителия (атрофическая энтеропатия) по всей длине желудочно-кишечного тракта у мышей, которым давали единичную пероральную (принудительное питание) дозу гемцитабина 167, 333 или 500 мг/кг (смотри Horton ND et al., "Toxicity of single-dose oral gemcitabine in mice", American Association for Cancer Research, Poster Presentation, Orlando, FL, March 27-31, 2004). В предыдущем исследовании, проводимом на мышах, смерть или гастроинтестинальную токсичность не наблюдали, когда значительную дозу вводили внутривенно.

Более того, гемцитабин, подобно другим нуклеозидным лекарственным средствам, представляет собой гидрофильное соединение и, таким образом, не может проходить через клеточные мембраны в клетку пассивной диффузией, но требует специального транспортного белка для доставки в опухолевые клетки. Изменение транспортной активности нуклеозида считают важной причиной устойчивости к гемцитабину. Человеческий уравновешенный нуклеозидный транспортер 1 (hENT1) представляет собой важный транспортный белок, в настоящее время обнаруженный для транспорта гемцитабина в опухолевые клетки. Поскольку снижение внутриклеточного накопления лекарственного средства, вероятно, будет приводить к сниженной чувствительности к гемцитабину, ученые Clavis Pharma, Norway, получили 5'-эфирное производное элаидиновой кислоты гемцитабина, CP-4126, которое значительно увеличивает липофильность по сравнению с гемцитабином. Исследования показали, что CP-4126 может проникать в опухолевые

клетки независимо от hENT1 транспортера и, таким образом, ожидают, что он будет проявлять лучший противоопухолевый эффект у пациентов с опухолью с низкой экспрессией hENT1.

4'-тионуклеозид относится к нуклеозидному аналогу, в котором атом кислорода в фуранозном кольце замещен атомом серы. Способ синтеза 4'-тионуклеозидов является длинным и трудным, что заметно ограничивает исследования данных соединений. US 6147058 описывает 4'-тионуклеозидное соединение, которое обладает ингибирующей активностью в модели рака толстой кишки на безтимусных мышах. Показано, что данное соединение обладает лучшим эффектом по ингибированию роста опухоли, чем гемцитабин (Cancer Let. 1999, 144, 177-182; Int. J. Cancer, 2005, 114, 1002-1009). US 5128458 описывает 2',3'-дидезокси-4'-тиорибонуклеозиды с хорошими эффектами по лечению и вирусного инфекционного заболевания (такого как ВИЧ, гепатит В или С) и заболевания с нарушением пролиферации клеток.

Хотя 4'-тионуклеозидное соединение обладает лучшим эффектом по ингибированию роста опухоли, оно также обладает недостатками, аналогичными недостаткам гемцитабина, такими как низкая пероральная биодоступность, быстрый метаболизм, множественные побочные эффекты и лекарственная устойчивость и т.д.

Устойчивость к 4'-тионуклеозидным лекарственным средствам представляет собой основную причину короткого периода выживаемости пациента. Основные причины развития устойчивости включают: 1) отсутствие соответствующих транспортных белков на поверхности опухолевых клеток, что препятствует эффективному прохождению нуклеозидных лекарственных средств через клеточные мембраны; 2) низкую эффективность превращения лекарственного средства в активные молекулы, такие как трифосфат; и 3) метаболизм лекарственного средства до неактивных молекул в присутствии фермента.

Поскольку 4'-тионуклеозидное лекарственное средство может быстро подвергаться гидролизу до неактивных молекул и терять активность, на настоящий момент отсутствует 4'-тионуклеозидное лекарственное средство для лечения рака, такого как рак печени.

К настоящему времени, проблемы, встречающиеся при

разработке 4'-тионуклеозидных лекарственных средств делают их сложным одобрение регуляторными органами. Подход с применением пролекарств применяют для преодоления данных проблем. В настоящее время, многие фармацевтические компании все еще работают по разработке способов лечения рака, применяя другие пролекарства (смотри G. Xu, H. L. McLeod, Clin. Cancer Res., 2001, 7, 3314-3324; M. Rooseboom, J. N. M. Commandeur, N. P. E. Vermeulen, Pharmacol. Rev., 2004, 56, 53-102; W. D. Wu, J. Sigmond, G. J. Peters, R. F. Borch, J. Med. Chem. 2007, 50, 3743-3746).

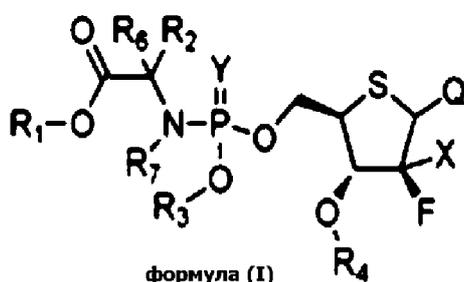
После проникновения в тело, нуклеозидное лекарственное средство будет вначале фосфорилироваться, образуя активный метаболит, монофосфат, посредством катализа соответствующей киназы, и затем монофосфат будет превращаться в трифосфат. Монофосфорилирование нуклеозидного лекарственного средства часто представляет собой ограничивающую скорость стадию в метаболизме лекарственного средства. Киназы, катализирующие монофосфорилирование нуклеозида в теле человека (тимидинкиназа (TK), дезоксицитидинкиназа (dCK), дезоксигуанозинкиназа (dGK) и аденозинкиназа (AK)), обладают ограниченным сродством к нуклеозидам, и киназная активность подвержена ингибированию нуклеотидмонофосфатом (NA-MP). Данные факторы ограничивают *in vivo* активацию нуклеозидных лекарственных средств, и влияют на проявление лекарственной активности. Для решения данной проблемы исследователи делают попытки модифицировать нуклеозидные лекарственные средства фосфорилированием так, чтобы получить соответствующие фосфаты или фосфамид (ChemMedChem, 2009, 4, 1779-1791).

Однако, при разработке лекарственного средства посредством модификации, трудно определить, может ли модифицированное лекарственное средство продуктивно высвободить исходное лекарственное средство после проникновения в тело, поскольку исходное лекарственное средство является разным в разных случаях, и модифицированное лекарственное средство часто обладает сниженной активностью или не обладает активностью, или приводит в результате к новым побочным эффектам. В связи с этим,

за годы исследований в настоящее время имеющиеся в наличии 4'-тионуклеозидные соединения все еще имеют проблемы, которые трудно преодолеть. В настоящее время, после того как гемцитабин находился на рынке в течение многих лет, все еще нет 4'-тионуклеозидного соединения, одобренного для клинического применения.

СУЩНОСТЬ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно одному аспекту настоящего изобретения, обеспечивают 4'-тио-2'-фторнуклеозидфосфамидное соединение, как представлено формулой (I):



В котором:

X представляет собой водород, C₁₋₆ алкил, галоген, N₃, OH, CN или SH;

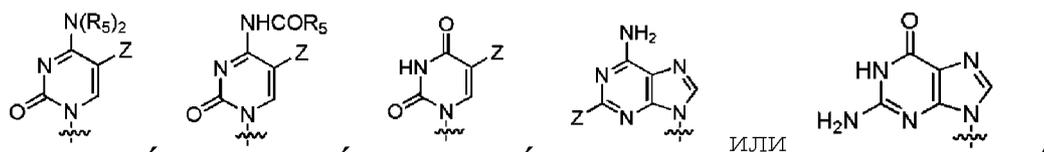
Y представляет собой кислород или серу;

каждый R₁, R₂, R₆ и R₇ независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁₋₁₀ алкила, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного гетероциклила и необязательно замещенного гетероарила, где R₂ и R₆ можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O, и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо;

R₃ выбран из группы, состоящей из необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

R₄ выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C₁₋₁₀ ацила;

Q представляет собой пиримидиновое основание или пуриновое основание, имеющее следующую структуру:



R_5 при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила и необязательно замещенного циклоалкила; и

Z представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-10} алкил или галоген;

выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, алкила, амино, алкиламино, алкокси, галогеналкила, галогеналкокси, гидроксид, гидроксидалкила, алкоксидалкила, амидо, сульфонамидо, циано, нитро, нитрозо, азидо, альдегида, алкенила, алкинила, циклоалкила, арила, аралкила, арилокси, гетероарила, гетероарилокси, ацила, карбоксила, алкилкарбонила, арилкарбонила, гетероарилкарбонила и карбоксилата; и заместители можно соединять друг с другом, получая 3-8 членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S;

или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения, обеспечивают фармацевтическую композицию или фармацевтический состав, где фармацевтическая композиция или фармацевтический состав содержат 4'-тио-2'-фторнуклеозид фосфамидное соединение выше, как представлено формулой (I), или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, гидрат, сольват, изомер, любую его кристаллическую форму или рацемат, его метаболит, или их смесь, в качестве активного ингредиента, и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант, вспомогательное вещество или эквивалентную фармацевтически приемлемую среду. Фармацевтическая композиция или фармацевтический состав может быть в форме, подходящей для введения млекопитающему, включая твердый препарат, полутвердый

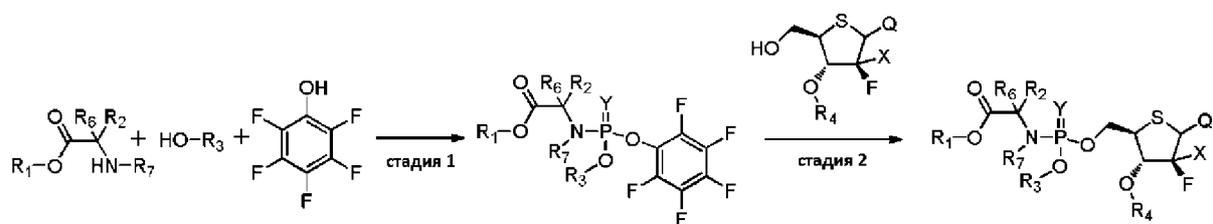
препарат, жидкий препарат и газообразный препарат и т.д.

Согласно следующему аспекту настоящего изобретения, обеспечивают применение 4'-тио-2'-фторнуклеозидного фосфамидного соединения выше, как представлено формулой (I), в получении лекарственного средства для предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток или вирусного инфекционного заболевания у млекопитающего. Заболевание с нарушенной пролиферацией клеток у млекопитающего представляет собой, например, рак и/или опухоль и родственные им заболевания. Необязательно, лекарственное средство дополнительно содержит дополнительный противоопухолевый агент.

Согласно следующему аспекту настоящего изобретения, обеспечивают способ предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток и/или вирусного инфекционного заболевания у млекопитающего, где способ включает введение млекопитающему эффективного количества 4'-тио-2'-фторнуклеозидного фосфамидного соединения выше, как представлено формулой (I), или его фармацевтически приемлемой соли, эфира, гидрата, сольвата, изомера, любой его кристаллической формы или рацемата, его метаболита, или их смеси. Заболевание с нарушенной пролиферацией клеток у млекопитающего представляет собой, например, рак и/или опухоль и родственные им заболевания у млекопитающего.

Согласно следующему аспекту настоящего изобретения, обеспечивают 4'-тио-2'-фторнуклеозидное фосфамидное соединение выше, как представлено формулой (I), или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, гидрат, сольват, изомер, любую его кристаллическую форму или рацемат, его метаболит, или их смесь для предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток и/или вирусного инфекционного заболевания у млекопитающего. Заболевание с нарушенной пролиферацией клеток у млекопитающего представляет собой, например, рак и/или опухоль и родственные им заболевания у млекопитающего.

Согласно следующему аспекту настоящего изобретения, обеспечивают способ получения соединения выше, как представлено формулой (I), где способ включает следующие стадии:



Где каждая из групп представляет собой, как определено выше, и стадию 1 предпочтительно проводят в присутствии POCl_3 .

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

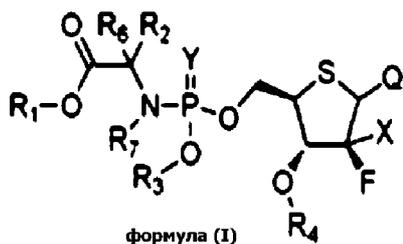
Далее, настоящее изобретение будет описано более подробно со ссылкой на прилагаемые чертежи, где:

Фигура 1 показывает эффекты соединения примера 8 (С8) на четыре различные опухолевые клетки при различных концентрациях.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НАСТОЯЩЕГО ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соединение

Вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение формулы (I),



где:

X представляет собой водород, C_{1-6} алкил, галоген, N_3 , OH, CN или SH;

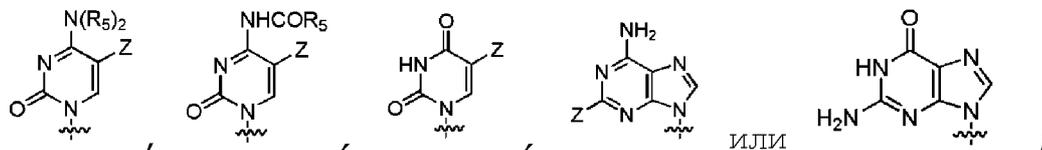
Y представляет собой кислород или серу;

каждый R_1 , R_2 , R_6 и R_7 независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного гетероциклила и необязательно замещенного гетероарила, где R_2 и R_6 можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O, и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо;

R_3 выбран из группы, состоящей из необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

R_4 выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_{1-10} ацила;

Q представляет собой пиримидиновое основание или пуриновое основание, имеющее следующую структуру:



R_5 при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила и необязательно замещенного циклоалкила; и

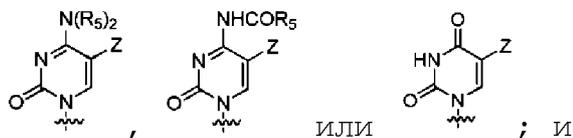
Z представляет собой водород, необязательно замещенный C_{1-10} алкил или галоген;

Выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, алкила, amino, алкиламино, алкокси, галогеналкила, галогеналкокси, гидроксид, гидроксидалкила, алкоксидалкила, амидо, сульфонамидо, циано, нитро, нитрозо, азидо, альдегида, алкенила, алкинила, циклоалкила, арила, аралкила, арилокси, гетероарила, гетероарилокси, ацила, карбоксила, алкилкарбонила, арилкарбонила, гетероарилкарбонила и карбоксилата; и заместители можно соединять друг с другом, получая 3-8 членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S;

или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

Другой вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где:

Q представляет собой пиримидиновое основание, имеющее следующую структуру:

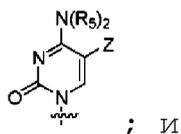


Z представляет собой водород, метил или галоген;

или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где

Q представляет собой пиримидиновое основание, имеющее структуру, как показано ниже:



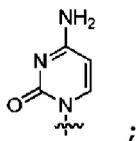
Z представляет собой водород, метил или галоген;

или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где:

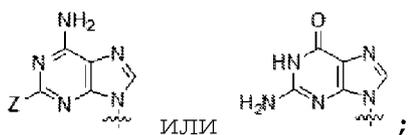
каждый R_1 , R_2 , R_6 и R_7 независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила, необязательно замещенного циклоалкила и необязательно замещенного арила, где R_2 и R_6 можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное, или ароматическое кольцо;

Q представляет собой цитозин, имеющий следующую структурную формулу:



или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где Q выбран из



или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

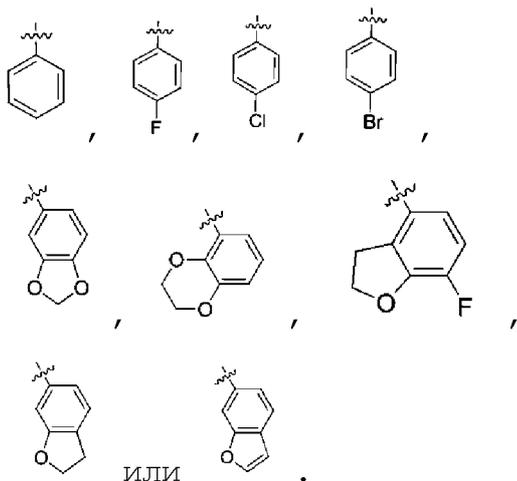
Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где X представляет собой водород или галоген, и галоген представляет собой фтор, хлор, бром или йод.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где Y представляет собой кислород.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где каждый R_1 , R_2 , R_6 , и R_7 независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила и необязательно замещенного арила (предпочтительно необязательно замещенного C_{6-14} арила), выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_{1-6} алкила и C_{6-14} арила. Самое предпочтительное, каждый R_1 , R_2 , R_6 и R_7 независимо выбран из группы, состоящей из водорода, метила, этила, пропила, изопропила, фенила, бензила и 4-фторбензила.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где R_3 выбран из группы, состоящей из необязательно замещенного арила, предпочтительно необязательно замещенного C_{6-14} арила, более предпочтительно необязательно замещенного фенила, выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_{1-6} алкила и C_{1-6} алкокси, и заместители можно соединять друг с другом, получая 3-8 членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 (например, 1, 2 или 3) O. Самое предпочтительное, R_3 имеет структуру, как

показано ниже:



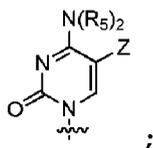
Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где R_4 представляет собой водород.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где R_5 при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_{1-10} алкила (например, гепт-4-ила).

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где Z представляет собой водород, метил, фтор или хлор.

Настоящее изобретение включает соединение выше формулы (I), полученное любой комбинацией групп в определениях описанных выше различных вариантов осуществления, и не ограничено каждым отдельным вариантом осуществления.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где Q представляет собой



X представляет собой водород, C_{1-6} алкил, галоген, N_3 , OH, CN или SH;

Y представляет собой кислород или серу;

каждый R_1 , R_2 , R_6 и R_7 независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила, необязательно

замещенного циклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного гетероциклила и необязательно замещенного гетероарила, где R_2 и R_6 можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O, и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо;

R_3 выбран из группы, состоящей из необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

R_4 выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_{1-10} ацила;

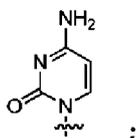
R_5 при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила и необязательно замещенного циклоалкила; и

Z представляет собой водород, метил или галоген;

Выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, алкила, амино, алкиламино, алкокси, галогеналкила, галогеналкокси, гидроксид, гидроксилалкила, алкоксилалкила, амидо, сульфонамидо, циано, нитро, нитрозо, азидо, альдегида, алкенила, алкинила, циклоалкила, арила, аралкила, арилокси, гетероарила, гетероарилокси, ацила, карбоксила, алкилкарбонила, арилкарбонила, гетероарилкарбонила и карбоксилата; и заместители можно соединять друг с другом, получая 3-8 членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S;

или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), где Q представляет собой цитозин, имеющий следующую структурную формулу:



X представляет собой водород, C₁₋₆ алкил, галоген, N₃, OH, CN или SH;

Y представляет собой кислород или серу;

каждый R₁, R₂, R₆ и R₇ независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁₋₁₀ алкила, необязательно замещенного циклоалкила и необязательно замещенного арила, где R₂ и R₆ можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное, или ароматическое кольцо;

R₃ выбран из группы, состоящей из необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

R₄ выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C₁₋₁₀ ацила;

R₅ при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁₋₁₀ алкила и необязательно замещенного циклоалкила; и

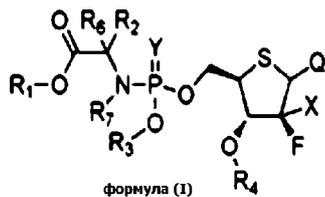
Z представляет собой водород, необязательно замещенный C₁₋₁₀ алкил или галоген;

Выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, алкила, амино, алкиламино, алкокси, галогеналкила, галогеналкокси, гидрокси, гидроксипалкила, алкоксипалкила, амидо, сульфонамидо, циано, нитро, нитрозо, азидо, альдегида, алкенила, алкинила, циклоалкила, арила, аралкила, арилокси, гетероарила, гетероарилокси, ацила, карбоксила, алкилкарбонила, арилкарбонила, гетероарилкарбонила и карбоксилата; и заместители можно соединять друг с другом, получая 3-8 членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S;

или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения

обеспечивает соединение выше формулы (I),



где:

X представляет собой водород, C₁₋₆ алкил, галоген, N₃, OH, CN или SH;

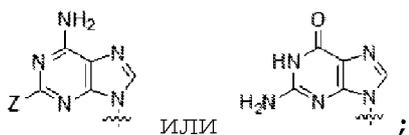
Y представляет собой кислород или серу;

каждый R₁, R₂, R₆ и R₇ независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁₋₁₀ алкила, необязательно замещенного циклоалкила и необязательно замещенного арила, где R₂ и R₆ можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O, и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное, или ароматическое кольцо;

R₃ выбран из группы, состоящей из необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

R₄ выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C₁₋₁₀ ацила;

Q представляет собой пуриновое основание, имеющее следующую структуру:



R₅ при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁₋₁₀ алкила и необязательно замещенного циклоалкила; и

Z представляет собой водород, метил или галоген;

Выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, алкила, амино, алкиламино, алкокси, галогеналкила, галогеналкокси, гидрокси, гидроксипалкила, алкоксипалкила, амидо, сульфонамидо, циано, нитро, нитрозо, азидо, альдегида, алкенила, алкинила,

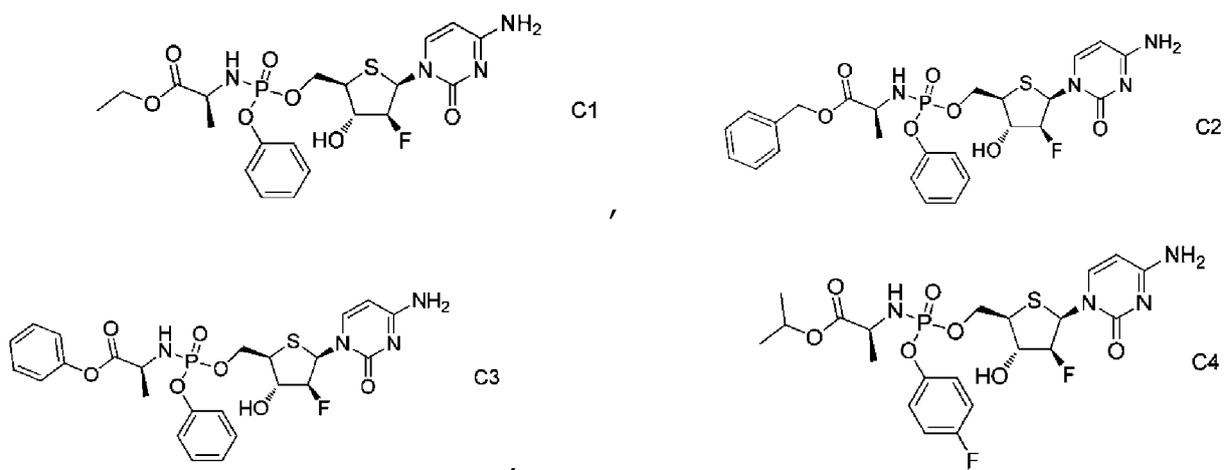
циклоалкила, арила, аралкила, арилокси, гетероарила, гетероарилокси, ацила, карбоксила, алкилкарбонила, арилкарбонила, гетероарилкарбонила и карбоксилата; и заместители можно соединять друг с другом, получая 3-8 членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S;

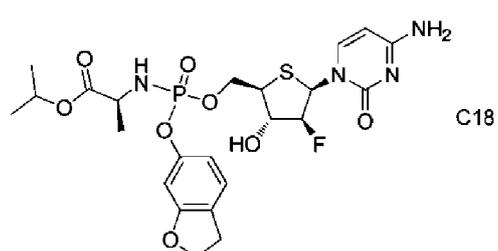
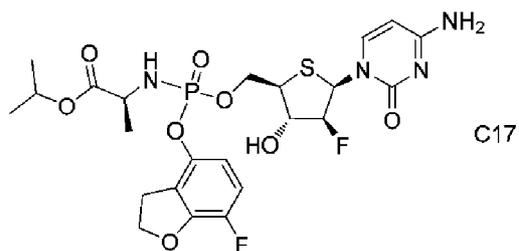
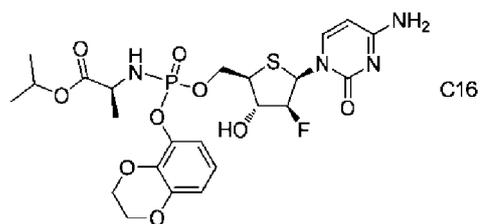
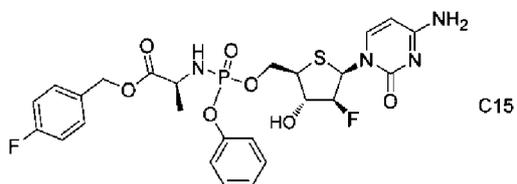
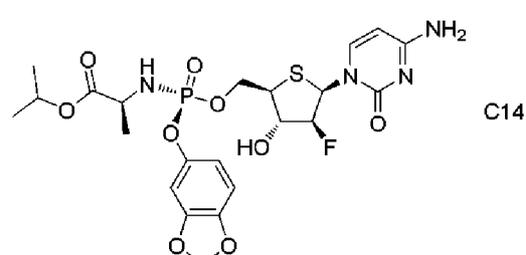
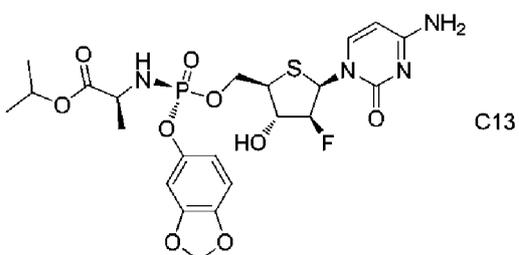
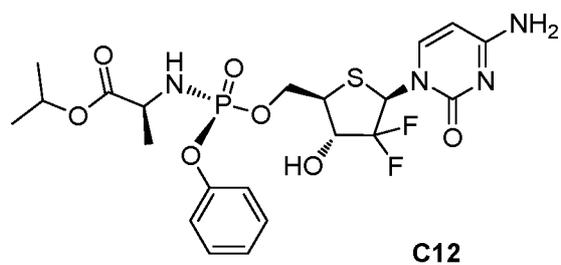
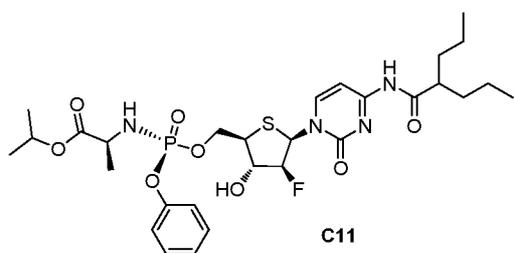
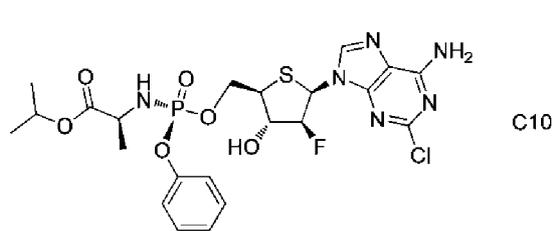
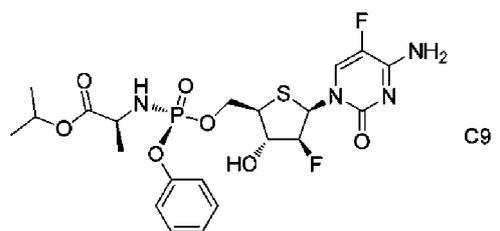
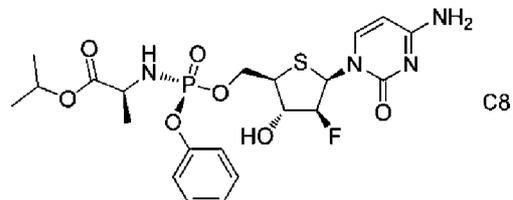
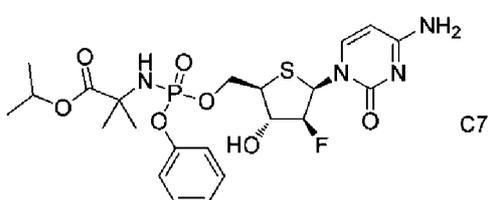
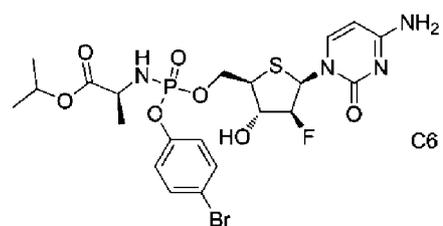
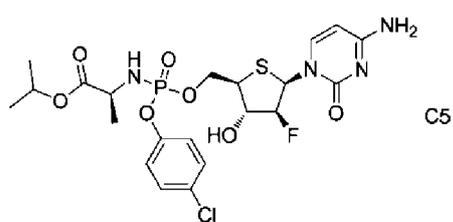
или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

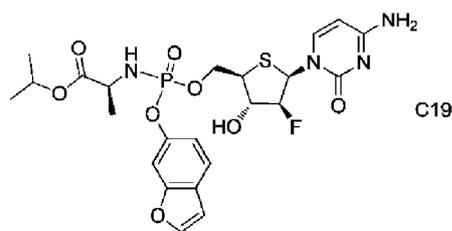
Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), которое представляет собой 4'-тио-2,2-дифторнуклеозидное фосфамидное соединение (т.е., X в формуле (I) представляет собой F), и Q представляет собой пиримидиновую группу в определении выше, и каждый из оставшихся заместителей представляет собой, как определено выше.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение выше формулы (I), которое представляет собой 4'-тио-2,2-дифторнуклеозидное фосфамидное соединение (т.е., X в формуле (I) представляет собой F), и Q представляет собой цитозиновую группу в ее определении, и каждый из оставшихся заместителей представляет собой, как определено выше.

Предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения являются следующими:







или их фармацевтически приемлемая соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любая его кристаллическая форма или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

В обширном исследовании, структурные модификации и скрининг на активность осуществляли для 4'-тио-2'-фторнуклеозидного соединения в настоящей заявке, и получили соединение со специфическим фосфамидным заместителем в положении 5 настоящего изобретения. Соединение настоящего изобретения обладает превосходной фармацевтической активностью, включая противоопухолевый/противораковый эффект и эффект на вирусное инфекционное заболевание, а также повышенную жирорастворимость, улучшенную биодоступность, сниженное раздражение и улучшенное поглощение. Устраняют проблемы скорости метаболизма, имеющиеся у существующих лекарственных средств, токсичность значительно снижают и улучшают профиль безопасности. Фармакологический эффект можно достигать различными путями введения.

Соединение формулы (I), описанное в настоящем изобретении, относится ко всем соединениям, включенным формулой (I), их фармацевтически приемлемым солям, эфирам, гидратам, сольватам, изомерам, или любой их кристаллической форме или рацемату, или их метаболитам, или их смесям.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, гидрат, сольват, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь, в качестве активного ингредиента, и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант, вспомогательное вещество или эквивалентную фармацевтически приемлемую среду.

Фармацевтическая композиция может содержать соединение формулы (I) в виде однократной дозы в диапазоне 0,1-1000 мг,

предпочтительно 1-800 мг, более предпочтительно 10-600 мг, особенно предпочтительно 50-450 мг, и самое предпочтительное 100-300 мг.

Фармацевтическая композиция может быть в виде, например, твердого, полутвердого, жидкого или газообразного препарата. В частности, твердый препарат представляет собой, например таблетку, капсулу, порошок, гранулу или суппозиторий и т.д.; жидкий препарат представляет собой, например, раствор, суспензию или инъекцию. Композиция может также представлять собой препарат, такой как липосома и микросфера. В частности, фармацевтическая композиция представляет собой лекарственную форму, подходящую для перорального введения.

Фармацевтическая композиция может быть в форме единичной дозы или множества доз, причем каждая доза содержит подходящее количество соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, эфира, гидрата, сольвата, изомера, или любой его кристаллической формы или рацемата, или его метаболита, или их смеси.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, эфира, гидрата, сольвата, изомера, любой его кристаллической формы или рацемата, его метаболита, или их смеси в качестве активного ингредиента в получении лекарственного средства для предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток или вирусного инфекционного заболевания у млекопитающего. Лекарственное средство может содержать соединение формулы (I) в виде однократной дозы в диапазоне 0,1-1000 мг, предпочтительно 1-800 мг, более предпочтительно 10-600 мг, особенно предпочтительно 50-450 мг и самое предпочтительное 100-300 мг.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает способ лечения или предотвращения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток или вирусного инфекционного заболевания у млекопитающего, где способ включает введение млекопитающему эффективного количества соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, эфира, гидрата,

сольвата, изомера, любой его кристаллической формы или рацемата, его метаболита, или их смеси.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, гидрат, сольват, изомер, любую его кристаллическую форму или рацемат, его метаболит, или их смесь для лечения или предотвращения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток или вирусного инфекционного заболевания у млекопитающего.

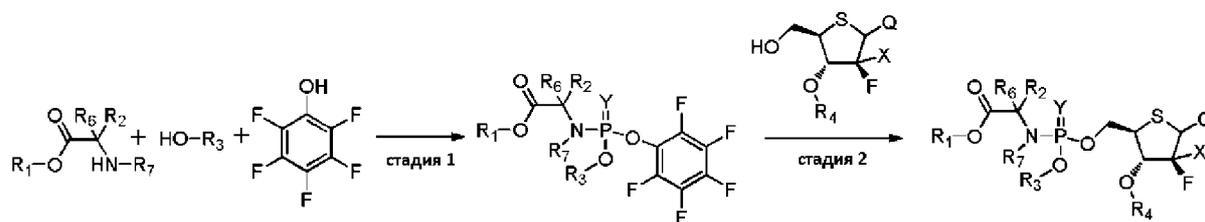
Заболевание с нарушенной пролиферацией клеток или вирусное инфекционное заболевание представляет собой, например, рак и/или опухоль и родственные им заболевания. Рак и/или опухоль включает опухоли и/или рак и родственные заболевания пищевода, желудка, кишечника, прямой кишки, полости рта, глотки, гортани, легких, толстой кишки, груди, матки, эндометрия, яичника, предстательной железы, яичка, мочевого пузыря, почек, печени, поджелудочной железы, костей, соединительной ткани, кожи, глаз и мозга, нервной системы, а также рак щитовидной железы, лейкемию, болезнь Ходжкина, лимфому и миелому.

Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, гидрат, сольват, изомер, любую его кристаллическую форму или рацемат, его метаболит, или их смесь можно вводить в комбинации с дополнительным противоопухолевым агентом для предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток (такого как рак и/или опухоль и родственные им заболевания) у млекопитающего. Дополнительный противоопухолевый агент относится к веществу с активностью против опухоли/рака и родственных им заболеваний, и включает, но не ограничивается, эрлотиниб или цисплатину.

Соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, гидрат, сольват, изомер, любую его кристаллическую форму или рацемат, его метаболит, или их смесь можно вводить в комбинации с дополнительным противовирусным агентом для предотвращения или лечения вирусного инфекционного заболевания. Дополнительный противовирусный агент включает, но не ограничивается, ламивудин, энтекавир, невирапин или ставудин.

Выражение "вводимый в комбинации" включает два или более лекарственных средств, вводимых одновременно, последовательно или по очереди, и в частности включает два или более лекарственных средств, полученных в одной или более единичных доз так, чтобы получить фармацевтический продукт, пригодный для введения в комбинации, который вводят нуждающемуся в лечении млекопитающему.

Следующий вариант осуществления настоящего изобретения обеспечивает способ получения соединения формулы (I), включающий следующие стадии:



Где каждая из групп представляет собой, как определено выше, и стадию 1 предпочтительно проводят в присутствии POCl_3 .

Если иначе не определено в контексте, предполагается, что все технические и научные термины, применяемые в настоящем изобретении, имеют те же значения, как обычно известно специалисту в данной области техники. Предполагается, что ссылки на способы, применяемые в настоящем изобретении, относятся к способам, как обычно известно специалисту в данной области техники, включая варианты данных способов или замены эквивалентными способами, которые будут очевидны специалисту в данной области техники. Тогда как считают, что большинство из следующих терминов будут ясны специалисту в данной области техники, тем не менее, следующие определения приводят для лучшей иллюстрации настоящего изобретения.

Выражение "как определено выше" относится к первому и/или самому широкому определению, приведенному в заявке, а также вариантам, подходящим по контексту.

Термины "содержит", "включает", "имеет" или "относится к", а также другие варианты, применяемые в настоящем изобретении, являются включающими или неограничивающими, и не исключают дополнительных неперечисленных элементов или стадий способа.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "соединение настоящего изобретения" в общем относится к объему соединений, определенных формулой выше (I), или их фармацевтически приемлемых солей, эфиров, гидратов, сольватов, изомеров, любой его кристаллической форме или рацемату, их метаболитам, или их смесям.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "метаболит" относится к соединению, получаемому *in vivo* после применения лекарственного средства на нуждающемся субъекте.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к солям, которые сохраняют биологическую активность и свойства исходного соединения, и их можно получить следующим способом: акцептирующие протон молекулы частично протонируют и/или подающие протон молекулы частично депротонируют. Следует отметить, что частичное протонирование акцептирующей протон молекулы приводит в результате к катионным молекулам, заряд которых сбалансирован присутствием физиологического аниона, тогда как частичное депротонирование подающей протон молекулы приводит в результате к анионным молекулам, заряд которых сбалансирован присутствием физиологического катиона.

Фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (I) включает его соль присоединения кислоты и соль присоединения основания.

Подходящую соль присоединения кислоты получают из кислоты, которая образует нетоксичную соль, и она включает неорганическую кислоту и органическую кислоту. В настоящем изобретении, подходящая неорганическая соль представляет собой соль, как определено в области химии, такую как хлористоводородная кислота, серная кислота или фосфорная кислота и т.д. Подходящая органическая кислота включает органическую сульфокислоту, органическую карбоновую кислоту или аминокислоту, и т.д. Подходящая органическая сульфокислота представляет собой, например, C₆₋₁₆ арилсульфокислоту, C₆₋₁₆ гетероарилсульфокислоту, или C₁₋₁₆ алкилсульфокислоту, и подходящая органическая карбоновая

кислота представляет собой, например монокарбоновую кислоту или поликарбоновую кислоту, включая C_{1-16} алкилкарбоновую кислоту, C_{6-16} арилкарбоновую кислоту и C_{4-16} гетероарилкарбоновую кислоту. Органическая карбоновая кислота может также представлять собой, например, аминокислоту, различные типы которой являются подходящими, в частности нейтральные аминокислоты, которые являются компонентами белков. Конкретные примеры солей, образуемых из кислот выше, включают ацетатную, аспартатную, бензоатную, безилатную, бикарбонатную/карбонатную, бисульфатную/сульфатную, боратную, камфорсульфонатную, цитратную, цикламатную, эдизилатную, эсилатную, формиатную, фумаратную, глюцептатную, глюконатную, глюкуронатную, гексафторфосфатную, гидрохлоридную/хлоридную, гидробромидную/бромидную, гидроиодидную/йодидную, изетионатную, лактатную, малатную, малеатную, малонатную, мезилатную, метилсульфатную, нафтилатную, 2-напсилатную, никотинатную, нитратную, оротатную, оксалатную, пальмитатную, памоатную, фосфатную/гидрофосфатную/дигидрофосфатную, пироглутаматную, сахаратную, стеаратную, сукцинатную, таннатную, тартратную, тозилатную, трифторацетатную и ксинофоатную соли.

Подходящую соль присоединения основания получают из основания, которое образует нетоксичные соли, и оно включает неорганическое основание и органическое основание. Конкретные примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамина и цинка.

Для обзора подходящих солей, смотри "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl и Wermuth (Wiley-VCH, 2002). Способы получения фармацевтически приемлемых солей соединений настоящего изобретения являются известными специалисту в данной области техники.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "изомер" относится к отличному соединению с той же молекулярной формулой, и включает стереоизомер. Термин "стереоизомер" представляет собой изомер, который отличается просто расположением атомов в

пространстве. α - и β - указывает конкретную стереохимическую конфигурацию заместителя при асимметрическом атоме углерода в химической структуре, как нарисовано.

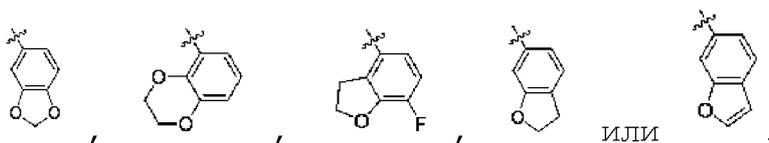
Соединение настоящего изобретения могут содержать один или более хиральных центров, и могут, следовательно, существовать в виде ряда стереоизомерных конфигураций. Благодаря наличию данных хиральных центров, соединение настоящего изобретения может существовать в виде рацемата, смеси энантиомеров, а также смеси каждого энантиомера и диастереомера и диастереомеров. Все данные рацематы, энантиомеры и диастереомеры включены в объем "соединения настоящего изобретения". Термины "R" и "S" применяют в органической химии для обозначения конкретной конфигурации хирального центра.

Соединение настоящего изобретения могут существовать в виде гидрата или в виде сольвата, где соединение настоящего изобретения содержит полярный растворитель, в частности воду, метанол или этанол, например, в качестве структурного элемента кристаллической решетки соединения. Количество полярного растворителя, в частности воды, может составлять стехиометрическое или нестехиометрическое соотношение.

Настоящее изобретение включает все возможные кристаллические формы или полиморфы соединения настоящего изобретения, или в виде одного полиморфа, или в виде смеси более одного полиморфа, в любом соотношении.

Термин "необязательно" обозначает то, что элемент может, но необязательно, присутствовать в соответствующей ситуации или условиях. Термин включает пример, когда заместитель присутствует или не присутствует, и также включает пример, который замещен одним или более заместителями. Термин "замещенный" обозначает то, что один или более (например, один, два, три или четыре) водорода при указанном атоме замещены выборкой из указанной группы, при условии, что нормальная валентность указанного атома в существующих условиях не превышает, и что замещение приводит в результате к стабильному соединению. Комбинации заместителей и/или переменных являются допустимыми, только если данная

комбинация приводит в результате к стабильным соединениям. В соединении формулы (I) настоящего изобретения, выражение "необязательно замещенный" включает ситуации, когда соединение замещено одним или более заместителями, и когда выражение "необязательно замещенный" относится к ситуации, когда соединение замещено несколькими заместителями, заместители можно подходящим способом соединять друг с другом, образуя насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из кислорода (O), азота (N) и серы (S), и данное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо может далее образовывать кольцо с группой, которую замещают. Например, конкретные примеры термина "необязательно замещенный арил" включают дигидробензотиофенил, а также группу, имеющую следующую структуру:



Как применяют в настоящем изобретении, термин "алкил" относится к неразветвленному или разветвленному, нециклическому или циклическому, насыщенному, моновалентному углеводородному остатку, который предпочтительно содержит 1-14 атомов углерода (C_{1-14} алкил), более предпочтительно содержит 1-10 атомов углерода (C_{1-10} алкил), более предпочтительно содержит 1-6 атомов углерода (C_{1-6} алкил), и особенно предпочтительно содержит 1-4 атомов углерода (C_{1-4} алкил). Примеры алкильной группы включают, но не ограничиваются, низшие алкильные группы, включая метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-бутил или пентил, изопентил, неопентил, гексил, гептил (например, гепт-4-ил) и октил.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "циклоалкил" относится к насыщенному, неароматическому, моноциклическому или полициклическому (такому как бициклическое) углеводородному кольцу. Когда циклоалкил содержит два или более колец, кольца могут быть конденсированы вместе. В его кольце, циклоалкильная группа может содержать 3-10 атомов (C_{3-10} циклоалкил),

предпочтительно 3-8 кольцевых атомов (C_{3-8} циклоалкил), более предпочтительно 3-6 кольцевых атомов (C_{3-6} циклоалкил), и особенно предпочтительно 3-4 кольцевых атома (C_{3-4} циклоалкил). Циклоалкильная группа включает, но не ограничивается, моноциклы, такие как циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, циклононил, или бициклы, включая спиро, конденсированные или мостиковые системы (такие как бицикло[1,1,1]пентанил, бицикло[2,2,1]гептанил, бицикло[3,2,1]октанил или бицикло[5,2,0]нонанил, декагидронафтаденил и т.д.), необязательно замещенные 1 или более (таким как 1-3) подходящими заместителями.

Если не указано иначе, термин "алкенил", как применяют в настоящем изобретении, относится к углеводородному остатку, содержащему 2-10 атомов углерода и содержащему одну или более олефиновых двойных связей, и она предпочтительно содержит 2-8 атомов углерода (C_{2-8} алкенил), более предпочтительно содержит 2-6 атомов углерода (C_{2-6} алкенил), и особенно предпочтительно содержит 2-4 атома углерода (C_{2-4} алкенил). Примеры алкенильной группы включают винил, 1-пропенил, 2-пропенил или 2-бутенил и т.д.

Если не указано иначе, термин "алкинил", как применяют в настоящем изобретении, относится к неразветвленной или разветвленной углеводородной группе, содержащей 2-10 атомов углерода (C_{2-10} алкинил), и содержащей одну или две тройные связи, и она предпочтительно содержит 2-8 атомов углерода (C_{2-8} алкинил), более предпочтительно содержит 2-6 атомов углерода (C_{2-6} алкинил), и особенно предпочтительно содержит 2-4 атомов углерода (C_{2-4} алкинил). Примеры алкинильной группы представляют собой этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 1-бутинил, 2-бутинил или 3-бутинил.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "амино" представляет собой $-NH_2$, и алкиламино представляет собой $-NR'R''$, где R' и R'' являются одинаковыми или отличными и представляют собой H или алкильную или циклоалкильную группу, как определено выше.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "алкокси" представляет собой -O-алкил, где алкил представляет собой, как определено выше (например, C₁₋₁₄ алкил, C₁₋₁₀ алкил, C₁₋₆ алкил или C₁₋₄ алкил), такие как метокси, этокси, *n*-пропокси, изопропокси, *n*-бутокси, изобутокси, *трет*-бутокси, пентокси, гексокси и т.д., а также их изомеры.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "галоген" относится к фтору, хлору, бромю или йоду.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "галогеналкил" относится к алкильной группе, как определено выше, в которой 1, 2, 3 или более атомов водорода замещены галогенами. Примеры представляют собой 1-фторметил, 1-хлорметил, 1-бромметил, 1-йодметил, трифторметил, трихлорметил, трибромметил, трийодметил, 1-фторэтил, 1-хлорэтил, 1-бромэтил, 1-йодэтил, 2-фторэтил, 2-хлорэтил, 2-бромэтил, 2-йодэтил, 2,2-дихлорэтил, 3-бромпропил или 2,2,2-трифторэтил.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "галогеналкокси" относится к алкокси группе, как определено выше, в которой 1, 2, 3 или более атомов водорода замещены галогенами.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "ацил" представляет собой группу формулы -C(=O)R, в которой R представляет собой водород или алкильную группу, как определено выше (например, C₁₋₁₄ алкил, C₁₋₁₀ алкил, C₁₋₆ алкил или C₁₋₄ алкил).

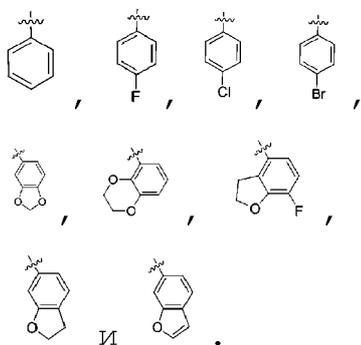
Как применяют в настоящем изобретении, термин "алкилкарбонил" представляет собой группу формулы -C(=O)R, в которой R представляет собой алкильную группу, как определено выше (например, C₁₋₁₄ алкил, C₁₋₁₀ алкил, C₁₋₆ алкил или C₁₋₄ алкил).

Как применяют в настоящем изобретении, термин "амидо" представляет собой группу формулы -NC(=O)R'R'', в которой R' и R'' являются одинаковыми или отличными, и представляют собой водород или алкильную группу, как определено выше (например, C₁₋₁₄ алкил, C₁₋₁₀ алкил, C₁₋₆ алкил или C₁₋₄ алкил).

Как применяют в настоящем изобретении, термин "гидроксиалкил" представляет собой группу формулы -R-OH, в которой R представляет собой алкиленовую группу. Если не указано

иначе, термин "алкилен", как применяют в настоящем изобретении, относится к двухвалентной, насыщенной, нормальной углеводородной группе, содержащей 1-10 атомов углерода (C_{1-10} алкилен), более предпочтительно 1-6 атомов углерода (C_{1-6} алкилен), и особенно предпочтительно 1-4 атомов углерода (C_{1-4} алкилен), или разветвленной, насыщенной, двухвалентной углеводородной группе, содержащей 3-10 атомов углерода (C_{3-10} алкилен), более предпочтительно 3-8 атомов углерода (C_{3-8} алкилен), и особенно предпочтительно 3-5 атомов углерода (C_{3-5} алкилен). Примеры алкиленовой группы включают, но не ограничиваются, метилен, этилен, пропилен, 2-метил-пропилен, бутилен и 2-этилбутилен и т.д.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "арил" относится к группе, содержащей, по меньшей мере, одно ароматическое кольцо, т.е., содержащей сопряженную π -электронную систему, и он включает моноциклическую арильную группу и бициклическую арильную группу. Она содержит 6-14 атомов углерода (C_{6-14} арил), такой как фенил и нафтил и т.д. Необязательно замещенный арил включает арильную группу, замещенную несколькими заместителями, и заместители можно подходящим способом соединять друг с другом, получая насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S. Арильная группа предпочтительно включает следующие группы:



Как применяют в настоящем изобретении, термин "аралкил" представляет собой группу $R'R''$ -, в которой R' представляет собой арильную группу, как определено в настоящем изобретении, и R'' представляет собой алкиленовую группу, как определено в

настоящем изобретении. Ясно, что место присоединения аралкильного фрагмента будет находиться в алкиленовой группе. Обычно, арильная группа может содержать 6-14 атомов углерода, и алкильная группа может содержать 1-6 атомов углерода. Примеры аралкила включают, но не ограничиваются бензил, 4-фторбензил, фенилэтил, фенилпропил и фенилбутил.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "арилокси" представляет собой $-O-R$, и R представляет собой арильную группу, как определено выше.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "арилкарбонил" представляет собой группу формулы $-C(=O)Ar$, в которой Ar представляет собой арильную группу, как определено выше.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "гетероциклил" относится к 3-16 членному насыщенному или ненасыщенному кольцу, содержащему 1-4 (например, один, два, три или четыре) гетероатома, выбранные из N, O, S и P, причем оставшиеся атомы являются атомами углерода. В частности, 3-10 членный гетероциклил представляет собой группу, содержащую 3-10 атомов углерода, а также гетероатом в своих кольцах, такую как, но неограничиваясь, оксиранил, азиридирил, азетидинил, оксетанилтетрагидрофуранил, диоксолинил, пирролидинил, пирролидинонил, имидазолидинил, пиразолидинил, пирролинил, тетрагидропиранил, пиперидинил, морфолинил, дитианил, тиоморфолинил, пиперазинил или тритианил.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "гетероарил" относится к циклической ароматической группе, содержащей 1-3 гетероатома, выбранные из N, O и S атомов в качестве кольцевых атомов, причем оставшиеся кольцевые атомы являются атомами углерода, где кольцо представляет собой 4-16 членное моноциклическое или конденсированное кольцо, предпочтительно 5-12 членное моноциклическое или конденсированное кольцо или 5-8 членное моноциклическое или конденсированное кольцо. Примеры гетероарильной группы включают, но не ограничиваются, фурил, тиенил, оксазолил, изоксазолил, тиазолил, изотиазолил, оксадиазолил, триазолил, тиадиазолил, пиридил, пирролил,

пиразолил, N-алкилпирролил, пиримидинил, пиразинил, имидазолил, пиридазинил, фталазинил, фталазин-1-(2H)-1-ил, пиридо[3,2-d]пиридазин-5(6H)-8-ил, триазинил и т.д., а также их бензопроизводные.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "гетероарилкарбонил" определяют аналогично определению "арилкарбонильной группы", и представляет собой группу формулы $C(=O)R$, в которой R представляет собой гетероарильную группу, как определено выше.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "гетероарилокси" представляет собой группу формулы гетероарил-O-, в которой гетероарильная группа представляет собой, как определено выше.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "сульфонамидо" представляет собой группу формулы $-SO_2NR'R''$, в которой R' и R'' являются одинаковыми или отличными, и каждый независимо представляет собой водород или алкил или циклоалкильную группу, как определено выше.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "карбоксил" представляет собой группу формулы $-COOH$, и термин "карбоксилат" представляет собой $-COOR$, в которой каждый R независимо представляет собой алкильную группу, как определено выше.

В общей формуле или конкретных соединениях настоящего изобретения, каждая группа, или атом, или радикал включает группу, или атом, или радикал с замещением изотопом, например, "водород" включает H, 2H (дейтерий) или 3H (тритий); C_{1-14} алкильная группа включает алкильную группу, в которой один или более, или все из атомов углерода представляют собой ^{12}C , ^{13}C или ^{14}C ; и дополнительные примеры включают изотопы N, P или O.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "фармацевтически приемлемый носитель" относится к неактивным ингредиентам в фармацевтической композиции или фармацевтическом препарате, которые не вызывают заметного раздражения и не влияют на свойства биологически активных соединений, применяемых в организме, и он включает разбавитель, адъювант, вспомогательное

вещество или эквивалентную фармацевтически приемлемую среду, вводимую вместе с терапевтическим агентом.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "вспомогательное вещество" относится к веществу для получения фармацевтической композиции, и оно является в общем безопасным, нетоксичным, и ни биологически, ни иначе нежелательным, и включает различные вспомогательные вещества, пригодные для ветеринарного применения, а также фармацевтического применения на людях.

Фармацевтически приемлемый носитель, который можно применять в фармацевтической композиции настоящего изобретения включает, но не ограничивается, стерильные жидкости, такие как воду и масла, включая жидкости нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как кокосовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и подобные. Вода представляет собой пример носителя, когда фармацевтическую композицию вводят внутривенно. Физиологические соляные растворы, а также водную декстрозу и глицериновые растворы, можно также применять в качестве жидких носителей, в частности для инъеклируемых растворов. Подходящие фармацевтические вспомогательные вещества включают крахмал, глюкозу, лактозу, сахарозу, желатин, мальтозу, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропиленгликоль, воду, этанол и подобные. Композиция, при необходимости, может также содержать небольшие количества увлажняющего агента или эмульгатора, или рН буферные агенты. Пероральные составы могут содержать стандартные носители, такие как маннитол, лактоза, крахмал, стеарат магния, сахарин натрия, целлюлоза, карбонат магния фармацевтической степени чистоты и т.д. Примеры подходящих фармацевтических носителей описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (1990).

Как применяют в настоящем изобретении, термин "состав" или "лекарственная форма" включает твердые, полутвердые, жидкие или газообразные составы. Состав или лекарственная форма включает,

но не ограничивается, таблетки, капсулы, леденцы, твердые конфеты, порошки, спреи, кремы, мази, суппозитории, гели, пасты, лосьоны, мази, водные суспензии, растворы для инъекций, эликсиры, сиропы и подобные. Специалисту в данной области техники ясно, что, в зависимости от требуемой дозы и фармакокинетических параметров, соединение настоящего изобретения можно получать в виде различных составов.

Диапазон единичных доз соединения настоящего изобретения составляет 0,1-1000 мг, предпочтительный диапазон единичных доз составляет 1-800 мг, более предпочтительный диапазон единичных доз составляет 10-600 мг, особенно предпочтительный диапазон единичных доз составляет 50-450 мг, и самый предпочтительный диапазон единичных доз составляет 100-300 мг. Состав или лекарственная форма настоящего изобретения может содержать одну или несколько единичных доз соединения настоящего изобретения.

Соединение настоящего изобретения предпочтительно применяют для перорального введения. В различных ситуациях, другие пути введения можно применять, или они даже являются предпочтительными, такие как внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрибрюшинное, внутримышечное или трансдермальное введение, или введение буккальным, назальным, чрезслизистым, местным путем, в виде офтальмического состава, или ингаляцией. Трансдермальное введение может быть очень желательным для пациентов, которые являются раздражительными или не приветствуют пероральную медицину. Соединение настоящего изобретения можно также вводить чрескожным, внутримышечным, интраназальным или интаректальным путем в конкретных обстоятельствах. Путь введения может изменяться любым способом, в зависимости от физических свойств лекарственных средств, удобства для пациента и лица, осуществляющего уход за больными, и других релевантных условий (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Co. (1990)).

В другом аспекте, настоящее изобретение обеспечивает применение соединения настоящего изобретения для одновременного, отдельного или последовательного применения в комбинации с дополнительным терапевтическим агентом (таким как дополнительный

противораковый/противоопухолевый агент или дополнительный противовирусный агент).

Диапазон доз соединения настоящего изобретения или содержащего его продукта (такого как фармацевтическая композиция, фармацевтический состав или лекарственная форма) составляет 0,1-1000 мг/кг веса тела в день, предпочтительный диапазон доз составляет 1-800 мг/кг веса тела в день, предпочтительный диапазон доз составляет 10-600 мг/кг веса тела в день, особенно предпочтительный диапазон доз составляет 100-400 мг/кг веса тела в день, и самый предпочтительный диапазон доз составляет 120-250 мг/кг веса тела в день. Точную дозу, требуемую для лечения пациента, может определить терапевт с учетом стадии и тяжести заболевания, а также конкретных нужд и реакции пациента.

Если не указано иначе, термин "лечить" или "лечение", как применяют в настоящем изобретении, обозначает обращение, облегчение, ингибирование развития или предотвращение расстройства или заболевания, для которого применяют данный термин, или одного или более симптомов данного расстройства или заболевания.

Как применяют в настоящем изобретении, термин "млекопитающее" включает человека или животное, отличное от человека. Примеры субъекта, являющегося человеком, включают субъекта, являющегося человеком и имеющего заболевание или расстройство (такое как заболевание, описанное в настоящем изобретении) (называют пациентом), или нормального субъекта. Термин "животное, отличное от человека", как применяют в настоящем изобретении, включает приматов, отличных от человека, домаший скот и/или одомашенных животных, таких как овцы, собаки, кошки, коровы, свиньи и подобные.

Примеры

Настоящее изобретение далее описано подробно со ссылкой на следующие примеры и конкретные варианты осуществления. Однако не следует считать, что объем настоящего изобретения ограничен просто следующими примерами, все технические решения, основанные

на содержании настоящего изобретения, включены в объем настоящего изобретения.

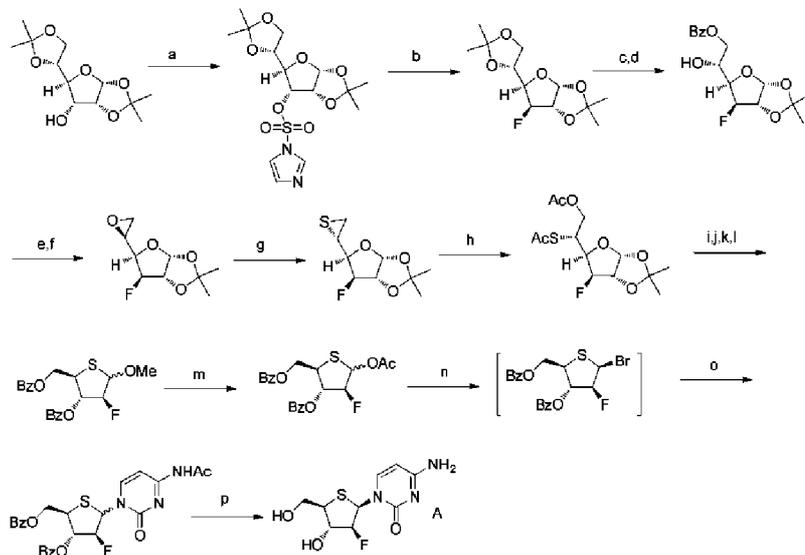
Сокращения, как применяют в настоящем изобретении, имеют следующие значения:

Сокращение	Значение	Сокращение	Значение
AcOH	Уксусная кислота	H ₂ O	вода
AcOK	Ацетат калия	HPLC	Высокоэффективная жидкостная хроматография
Ac ₂ O	Уксусный ангидрид	H ₂ SO ₄	Серная кислота
водн.	Водный раствор	KF	Фторид калия
BCl ₃	Трихлорид бора	MeOH	метанол
BnBr	бензилбромид	MsCl	метилсульфонилхлорид
BzCl	бензоилхлорид	NaBH ₄	Боргидрид натрия
Bz ₂ O	Ангидрид бензойной кислоты	NaN	Гидрид натрия
m-CPBA	Метахлорнадбензойная кислота	Na ₂ S	Сульфид натрия
DAST	Трифторид диэтиламиносеры	NH ₃	аммиак
DCE	дихлорэтан	NaIO ₄	Периодат натрия
DCM	дихлорметан	NaOMe	Метоксид натрия
DMAP	4-диметиламинопиридин	SO ₂ Cl ₂	сульфонилхлорид
DMF	N,N-диметилформамид	TBAF	фторид тетрабутиламония
DMSO	диметилсульфоксид	TBDPSCl	трет-бутилдифенилхлорсилан
Et ₃ N	триэтиламин	TFA	трифторуксусная кислота
HBr	Бромоводородная кислота	THF	тетрагидрофуран
HCl	Хлористоводородная кислота	TMSOTf	триметилсилилтрифлат

Пример 1

Получение (S)-этил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(феноксифосфорил)амино)пропаноата (C1).

(1) Получение 1-((2R, 3S, 4S, 5R)-3-фтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидротиофен-2-ил)цитозина (соединение А, т.е. основное соединение).



(a) SO_2Cl_2 , имидазол, DCM; (b) KF, 2-метоксиэтанол, кипячение с обратным холодильником; (c) 2M HCl, THF; (d) BzCl, пиридин, DCM; (e) MsCl, пиридин; (f) NaOMe, MeOH; (g) тиомочевина, MeOH, кипячение с обратным холодильником; (h) AcOK, Ac_2O , AcOH, кипячение с обратным холодильником; (i) 90% TFA; (j) NaIO_4 , MeOH, H_2O ; (k) HCl, MeOH, кипячение с обратным холодильником; (l) BzCl, пиридин; (m) H_2SO_4 , Ac_2O , AcOH; (n) HBr, AcOH, DCM; (o) силилированный N-ацетилцитозин, 80°C ; (p) водн. NH_3 , MeOH, ВЭЖХ разделение.

1-((2R, 3S, 4S, 5R)-3-фтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидротиофен-2-ил)цитозин (соединение А), применяемое в настоящем примере, получали способом в литературе (J. Org. Chem. 1999, 64, 7912-7920).

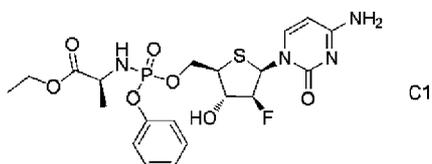
(2) Получение (S)-этил 2-(((пентафторфенокси) (фенокси) фосфорил) амино)пропаноата (соединение B1)

Хлорокись фосфора (1,53 г, 10 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл), и затем охлаждали до -60°C . Медленно добавляли по каплям раствор фенола (940 мг, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл). После перемешивания в течение ночи при комнатной температуре,

реакционный раствор охлаждали до 0°C и добавляли гидрохлорид этилового эфира L-аланина (1,53 г, 10 ммоль). После того как реакционный раствор охлаждали до -60°C, добавляли по каплям раствор триэтиламина (2,02 г, 20 ммоль) в дихлорметане (5 мл), и реакционный раствор нагревали до комнатной температуры. Раствор пентафторфенола (1,84 г, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляли по каплям к раствору выше, который затем перемешивали при -5°C в течение 2 часов. После завершения реакции, реакционный раствор гасили добавлением воды, экстрагировали этилацетатом, сушили, концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение (соединение В1).

(3) Получение (S)-этил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (фенокси) фосфорил)амино)пропаноата (С1).

Соединение А (260 мг, 1 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (50 мл), и воздух заменяли аргоном три раза. трет-Бутилмагнийхлорид (1,0 моль/л, 1,2 мл, 1,2 ммоль) добавляли по каплям при -10°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов, и она реагировала в течение 0,5 часа перед нагревом до комнатной температуры. Добавляли по каплям раствор промежуточного соединения, соединения В1, (0,53 г, 1,2 ммоль), в безводном THF (10 мл). Реакцию проводили при 30°C в течение 15 часов, затем гасили добавлением по каплям метанола (10 мл), концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая соединение С1.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 517,7 (M+1)

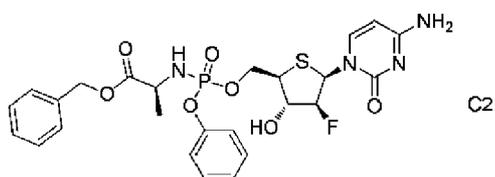
¹H NMR (DMSO-d₆, 400 МГц) δ 7,86 (д, J=3,4 Гц, 1H), 7,38 (т, J=7,6 Гц, 2H), 7,31-7,17 (м, 5H), 6,56 (дд, J=4 Гц, 14 Гц, 1H),

6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 3H), 3,80–3,78 (м, 1H), 1,28–1,23 (м, 6H).

Пример 2

Получение (S)-бензил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (C2).

Соединение C2 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, фенол, гидрохлорид бензилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

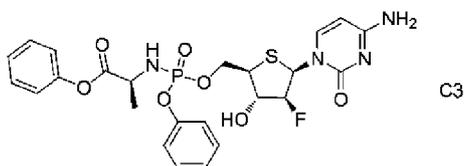
ESI-MS: 579,6 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,31–7,17 (м, 10H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,36 (с, 2H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 3,80–3,78 (м, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H).

Пример 3

Получение (S)-фенил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (C3).

Соединение C3 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, фенол, гидрохлорид фенилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 565,1 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,31–7,17 (м, 10H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 3,80–3,78 (м, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H).

Пример 4

Получение (S)-изопропил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(4-фторфенокси)фосфорил)амино)пропаноата (C4).

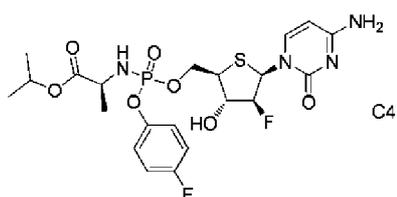
(1) Получение (S)-изопропил 2-(((пентафторфенокси)(4-фторфенокси)фосфорил)амино)пропаноата.

Хлорокись фосфора (1,53 г, 10 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл), и затем охлаждали до -60°C . Медленно добавляли по каплям раствор 4-фторфенола (1,12 г, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл). После перемешивания в течение ночи при комнатной температуре, реакционный раствор охлаждали до 0°C , и добавляли гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина (1,53 г, 10 ммоль). После охлаждения реакционного раствора до -60°C , добавляли по каплям раствор триэтиламина (2,02 г, 20 ммоль) в дихлорметане (5 мл), и реакционный раствор нагревали до комнатной температуры. Раствор пентафторфенола (1,84 г, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляли по каплям к раствору выше, который затем перемешивали при -5°C в течение 2 часов. После завершения реакции, реакционный раствор гасили добавлением воды, экстрагировали этилацетатом, сушили, концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение.

(2) Получение (S)-изопропил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(4-фторфенокси)фосфорил)амино)пропаноата (C4).

Соединение А (260 мг, 1 ммоль) растворяли в безводном

тетрагидрофуране (50 мл), и воздух заменяли аргоном три раза. *трет*-Бутилмагнийхлорид (1,0 моль/л, 1,2 мл, 1,2 ммоль) добавляли по каплям при -10°C . Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов, и она реагировала в течение 0,5 часа перед нагреванием до комнатной температуры. Добавляли по каплям раствор (S)-изопропил 2-(((пентафторфенокси)(4-фторфенокси)фосфорил)амино)пропаноата (566 мг, 1,2 ммоль) в безводном THF (10 мл). Реакцию проводили при 30°C в течение 15 часов, затем гасили добавлением по каплям метанола (10 мл), концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая соединение С4.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

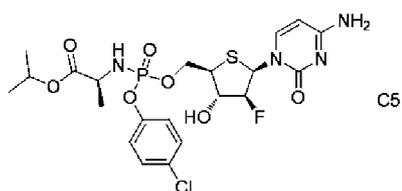
ESI-MS: 549,3 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,35–7,17 (м, 4H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 3,80–3,78 (м, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H).

Пример 5

Получение (S)-изопропил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(4-хлорфенокси)фосфорил)амино)пропаноата (С5).

Соединение С5 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, 4-хлорфенол, гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.



Данные структурных характеристик соединения являются

следующими.

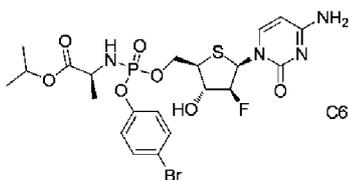
ESI-MS: 565,4 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,30–7,17 (м, 4H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 3,80–3,78 (м, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H).

Пример 6

Получение (S)-изопропил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(4-бромфенокси)фосфорил)амино)пропаноата (С6)

Соединение С6 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, 4-бромфенол, гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 611,2 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,28–7,17 (м, 4H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 3,80–3,78 (м, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H).

Пример 7

Получение изопропил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)-2-метилпропаноата (С7).

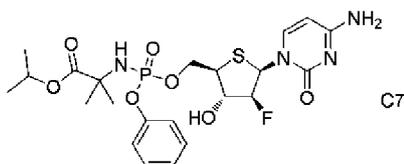
(1) Получение изопропил 2-метил-2-(((пентафторфенокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата.

Хлорокись фосфора (1,53 г, 10 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл), и затем охлаждали до -60°C . Медленно

добавляли по каплям раствор фенола (1,12 г, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл). После перемешивания в течение ночи при комнатной температуре, реакционный раствор охлаждали до 0°C, и добавляли гидрохлорид изопропилового эфира 2-метилаланина (1,82 г, 10 ммоль). После охлаждения реакционного раствора до -60°C, добавляли по каплям раствор триэтиламина (2,02 г, 20 ммоль) в дихлорметане (5 мл), и реакционный раствор нагревали до комнатной температуры. Раствор пентафторфенола (1,84 г, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляли по каплям к раствору выше, который затем перемешивали при -5°C в течение 2 часов. После завершения реакции, реакционный раствор гасили добавлением воды, экстрагировали этилацетатом, сушили, концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение.

(2) Получение изопротил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (фенокси) фосфорил) амино)-2-метилпропаноата (С7).

Соединение А (260 мг, 1 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (50 мл), и воздух заменяли аргоном три раза. трет-Бутилмагнийхлорид (1,0 моль/л, 1,2 мл, 1,2 ммоль) добавляли по каплям при -10°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов, и она реагировала в течение 0,5 часа перед нагреванием до комнатной температуры. Добавляли по каплям раствор изопротил 2-метил-2-(((пентафторфенокси) (фенокси) фосфорил) амино) пропаноата (582 мг, 1,2 ммоль) в безводном THF (10 мл). Реакцию проводили при 30°C в течение 15 часов, затем гасили добавлением по каплям метанола (10 мл), концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая соединение С7.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 545,5 (M+1)

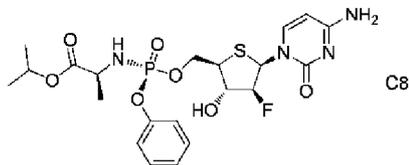
^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,31–7,17 (м, 5H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 1,27 (с, 6H), 1,17 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

Пример 8

Получение (S)-изопропил 2-(((S)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(феноксифосфорил)амино)пропаноата (С8).

(S)-изопропил 2-(((S)- (пентафторфеноксифосфорил)амино)пропаноат, применяемый в настоящем изобретении, получали способом в литературе (*J. Org. Chem.* 2011, 76, 8311–8319).

Соединение С8 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя (S)-изопропил 2-(((S)- (пентафторфеноксифосфорил)амино)пропаноат и соединение А в качестве исходных соединений.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 531,1 (M+1)

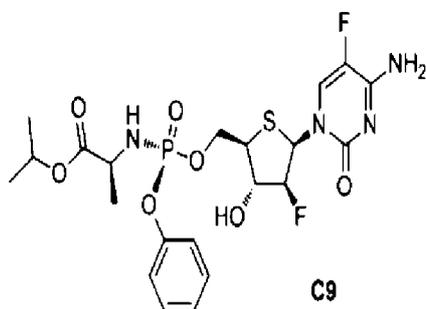
^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,31–7,17 (м, 5H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 3,80–3,78 (м, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,17 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

Пример 9

Получение (S)-изопропил 2-(((S)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-5-фтор-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(феноксифосфорил)амино)пропаноата (С9).

1-((2R,3S,4S,5R)-3-фтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидротиофен-2-ил)-5-фторцитозин, применяемый в настоящем изобретении, получали способом в литературе (*Bioorg. Med. Chem.* 2000, 8, 1545-1558).

Соединение С9 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя (S)-изопропил 2-(((S)-(пентафторфенокси) (фенокси) фосфорил) амино) пропаноат и 1-((2R,3S,4S,5R)-3-фтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидротиофен-2-ил)-5-фторцитозин в качестве исходных соединений.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 549,5 (M+1)

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 8,23 (д, $J=7,3$ Гц, 1H), 7,38-7,31 (м, 3H), 7,23-7,16 (м, 5H), 6,52 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,05-6,03 (м, 2H), 5,03-4,87 (м, 2H), 4,36-4,32 (м, 2H), 4,14-4,12 (м, 1H), 3,80-3,78 (м, 1H), 1,25 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,14 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

Пример 10

Получение (S)-изопропил 2-(((S)-((2R,3S,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил) метокси) (фенокси) фосфорил) амино) пропаноата (С10).

(2R,3S,4S,5R)-5-(6-амино-2-хлор-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-2-(гидроксиметил)тетрагидротиофен-3-ол, применяемый в настоящем изобретении, получали способом в литературе (*Bioorg. Med. Chem.* 2000, 8, 1545-1558).

Соединение С10 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя (S)-изопропил 2-(((S)-

следующими.

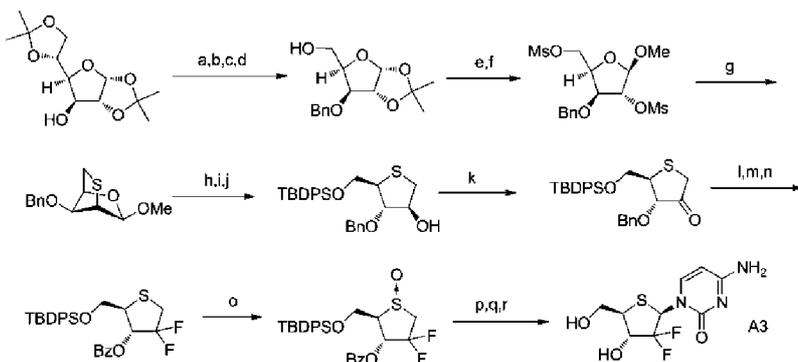
ESI-MS: 657,7 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,38 (т, $J=7,6$ Гц, 2H), 7,31–7,17 (м, 5H), 6,56 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 6,09–6,03 (м, 2H), 5,77 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,03–4,87 (м, 2H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,14–4,12 (м, 1H), 3,80–3,78 (м, 1H), 2,50–2,47 (м, 1H), 1,43–1,22 (м, 17H), 0,94–0,91 (м, 6H).

Пример 12

Получение (S)-изопропил 2-(((S)-(((2R,3S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4,4-дифтор-3-гидрокси-тетрагидротиофен-2-ил)метокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноата (C12).

(1) Получение 1-((2R,4S,5R)-3,3-дифтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидротиофен-2-ил)цитозина

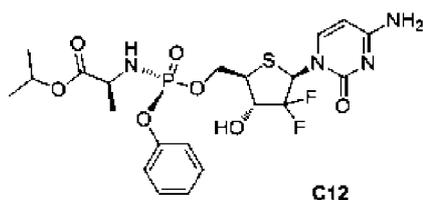


(a) BnBr, NaH, DMF, THF; (b) 2M HCl, THF; (c) NaIO₄, H₂O, MeOH; (d) NaBH₄, MeOH; (e) 5% HCl/MeOH; (f) MsCl, пиридин; (g) Na₂S, DMF, 100°C; (h) 4M HCl, THF; (i) NaBH₄, MeOH; (j) TBDPSCl, имидазол, DMF; (k) Ac₂O, DMSO; (l) DAST, DCM; (m) BCl₃, DCM, -78°C; (n) Bz₂O, Et₃N, DMAP, CH₃CN; (o) м-CPBA, DCM, -78°C; (p) силилированный N-ацетилцитозин, TMSOTf, DCE, 0°C; (q) TBAF, THF; (r) водн. NH₃, MeOH, ВЭЖХ разделение.

1-((2R,4S,5R)-3,3-дифтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)тетрагидротиофен-2-ил)цитозин, применяемый в настоящем изобретении, получали способом в литературе (*J. Org. Chem.* 1997, 62, 3140–3152).

(2) Соединение C12 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя (S)-изопропил 2-(((S)-((пентафторфенокси)(фенокси)фосфорил)амино)пропаноат и 1-((2R,4S,5R)-3,3-дифтор-4-гидрокси-5-

(гидроксиметил) тетрагидротиофен-2-ил) цитозин в качестве исходных соединений.



Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 549,5 (M+1)

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,96 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 7,35 (м, 3H), 7,23–7,17 (м, 5H), 6,46 (дд, $J=4$ Гц, 14 Гц, 1H), 5,98–5,95 (м, 2H), 5,84 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 5,35 (уш с, 1H), 4,36–4,32 (м, 2H), 4,17–4,14 (м, 1H), 3,85–3,80 (м, 1H), 1,13 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,09 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

Примеры 13 и 14

Получение (S)-изопропил 2-(((S)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси) фосфорил) амино) пропаноата (C14) и (S)-изопропил 2-(((R)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси) фосфорил) амино) пропаноата (C13).

(1) Получение (S)-изопропил 2-(((пентафторфенокси) (бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси) фосфорил) амино) пропаноата.

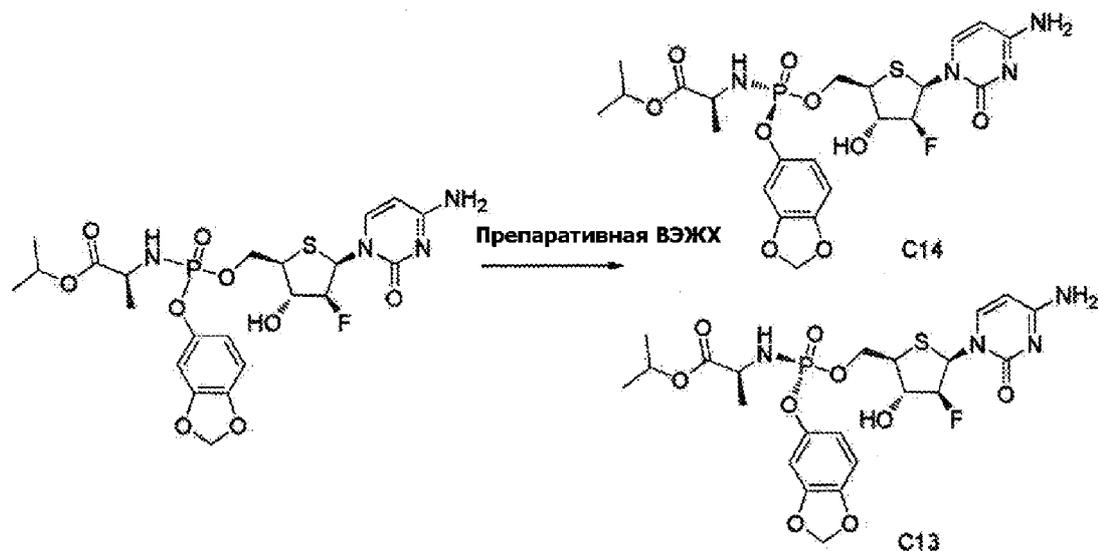
Хлорокись фосфора (1,53 г, 10 ммоль) растворяли в дихлорметане (10 мл), и затем охлаждали до -60°C . Медленно добавляли по каплям раствор сезамола (1,38 г, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл). После перемешивания в течение ночи при комнатной температуре, реакционный раствор охлаждали до 0°C , и добавляли гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина (1,53 г, 10 ммоль). После охлаждения реакционного раствора до -60°C , добавляли по каплям раствор триэтиламина (2,02 г, 20 ммоль) в дихлорметане (5 мл), и

реакционный раствор нагревали до комнатной температуры. Раствор пентафторфенола (1,84 г, 10 ммоль) и триэтиламина (1,01 г, 10 ммоль) в дихлорметане (10 мл) добавляли по каплям к раствору выше, который затем перемешивали при -5°C в течение 2 часов. После завершения реакции, реакционный раствор гасили добавлением воды, экстрагировали этилацетатом, сушили, концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение.

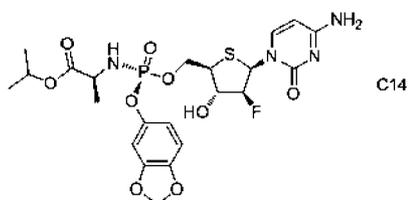
(2) Получение (S)-изопропил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси)фосфорил)амино)пропаноата.

Соединение А (260 мг, 1 ммоль) растворяли в безводном тетрагидрофуране (50 мл), и воздух заменяли аргоном три раза. трет-Бутилмагнийхлорид (1,0 моль/л, 1,2 мл, 1,2 ммоль) добавляли по каплям при -10°C . Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часа, и она реагировала в течение 0,5 часа перед нагреванием до комнатной температуры. Добавляли по каплям раствор (S)-изопропил 2-(((пентафторфенокси)(бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси)фосфорил)амино)пропаноата (596 мг, 1,2 ммоль) в безводном THF (10 мл). Реакцию проводили при 30°C в течение 15 часов, затем гасили добавлением по каплям метанола (10 мл), концентрировали и очищали колоночной хроматографией, получая заявленное в заголовке соединение.

(3) Получение (S)-изопропил 2-(((S)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси)фосфорил)амино)пропаноата (C14) и (S)-изопропил 2-(((R)-(((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)(бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси)фосфорил)амино)пропаноата (C13).



Смесь диастереомеров, полученную на предыдущей стадии, разделяли ВЭЖХ, применяя следующие условия разделения: октадецилированный силикагель применяли в качестве наполнителя (20×250 мм, 5 мкм), температура колонки составляла 40°C, скорость потока составляла 10,0 мл/мин, длина волны детектирования составляла 220 нм, подвижная фаза А представляла собой воду (нейтральная), подвижная фаза В представляла собой метанол, и осуществляли линейное градиентное элюирование. Первый основной пик собирали и лиофилизировали, получая (S)-изопропил 2-(((R)-((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси) фосфорил) амино) пропаноат (C13), 17 мг; и второй основной пик собирали и лиофилизировали, получая (S)-изопропил 2-(((S)-((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (бензо[d][1,3]диоксол-5-илокси) фосфорил) амино) пропаноат (C14), 30 мг.



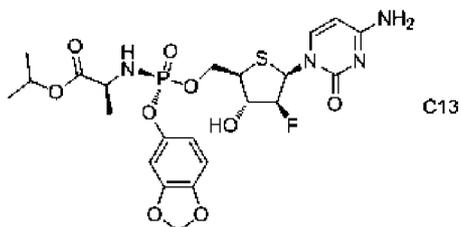
Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 575,2 (M+1)

¹H NMR (DMSO-d₆, 400 МГц) δ 7,93 (д, J=8 Гц, 1H), 7,75 (уш

с, 1H), 7,46 (уш с, 1H), 6,88–6,83 (м, 2H), 6,67–6,65 (м, 1H), 6,51 (д, $J=8$ Гц, 1H), 5,76 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 4,90–4,86 (м, 4H), 4,31 (уш с, 2H), 4,13–4,11 (м, 1H), 3,78–3,76 (м, 1H), 3,50 (уш с, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,16 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162 МГц) δ 4,59.



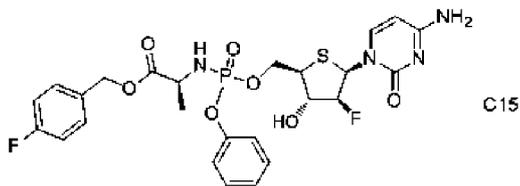
Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 575,2 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,93 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,75 (уш с, 1H), 7,46 (уш с, 1H), 6,88–6,83 (м, 2H), 6,67–6,65 (м, 1H), 6,51 (д, $J=8$ Гц, 1H), 5,76 (д, $J=7,6$ Гц, 1H), 4,90–4,86 (м, 4H), 4,31 (уш с, 2H), 4,13–4,11 (м, 1H), 3,78–3,76 (м, 1H), 3,50 (уш с, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,16 (д, $J=5,2$ Гц, 6H). ^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162 МГц) δ 4,50.

Пример 15

Получение (2S)-4-фторбензил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (фенокси) фосфорил) амино) пропаноата (C15).



Соединение C15 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, фенол, гидрохлорид 4-фторбензильового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.

Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

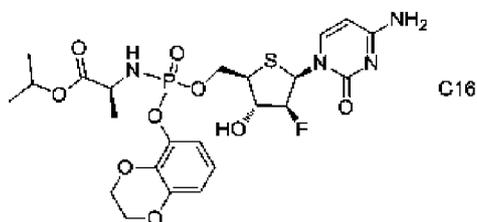
ESI-MS: 597,2 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,86 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,67-7,17 м, 12H), 6,54 (дд, $J=4$ Гц, 14Hz, 1H), 6,21-6,15 (м, 1H), 6,07 (уш с, 1H), 5,78 (д, $J=4$ Гц, 1H), 5,11 (уш с, 2H), 4,31 (уш с, 2H), 4,12-4,10 (м, 1H), 3,94-3,92 (м, 1H), 3,47 (уш с, 1H), 1,26 (д, $J=8$ Гц, 3H).

^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162 МГц) δ 4,02.

Пример 16

(S)-изопропил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)((2,3-дигидробензо[b][1,4]диоксин-5-ил)оxу)фосфорил)амино)пропаноат (C16)



Соединение C16 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, 5-гидрокси-2,3-дигидробензо[1,4]диоксин, гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.

Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 589,2 (M+1)

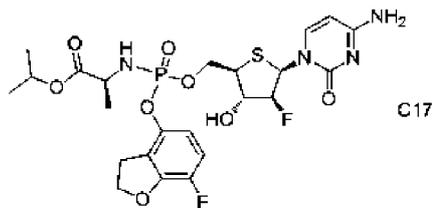
^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,93 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,34 (уш с, 1H), 7,26 (уш с, 1H), 6,91-6,89 (м, 1H), 6,81-6,73 (м, 1H), 6,61-6,56 (м, 1H), 6,11-6,07 (м, 1H), 6,01-5,85 (м, 1H), 5,80-5,75 (м, 1H), 5,04-4,82 (м, 1H), 4,37-4,17 (м, 7H), 3,87-3,83 (м, 1H), 3,50 (уш с, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,16 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162 МГц) δ 4,58.

Пример 17

(S)-изопропил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)((7-фтор-2,3-дигидробензофуран-4-

ил) оху) фосфорил) амино) пропаноат (C17)



Соединение C17 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, 4-гидрокси-7-фтор-2,3-дигидробензофуран, гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.

Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

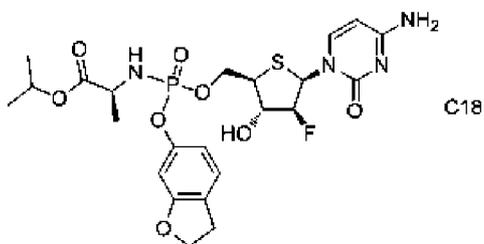
ESI-MS: 591,2 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,89 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,37 (уш с, 1H), 7,29 (уш с, 1H), 7,10-7,06 (м, 1H), 6,76-6,73 (м, 1H), 6,60-6,54 (м, 1H), 6,15-6,10 (м, 2H), 5,81-5,78 (м, 1H), 5,10-4,90 (м, 2H), 4,72-4,61 (м, 3H), 4,36-4,34 (м, 2H), 4,25-4,20 (м, 1H), 3,78-3,75 (м, 1H), 3,53-3,50 (м, 3H), 3,38-3,35 (м, 2H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,16 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162 МГц) δ 4,65.

Пример 18

(S)-изопропил 2-((((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси)((2,3-дигидробензофуран-6-ил)оху)фосфорил)амино)пропаноат (C18)



Соединение C18 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, 6-гидрокси-2,3-дигидробензофуран, гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.

Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

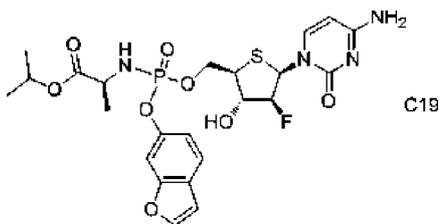
ESI-MS: 573,2 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,89 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,35 (уш с, 1H), 7,26 (уш с, 1H), 7,20-7,18 (м, 1H), 6,68-6,66 (м, 2H), 6,59-6,56 (м, 1H), 6,08-6,03 (м, 1H), 5,80-5,79 (м, 1H), 5,02-4,88 (м, 2H), 4,57 (т, $J=8$ Гц, 3H), 4,60-4,55 (м, 2H), 4,36-4,32 (м, 1H), 3,80-3,75 (м, 1H), 3,47 (уш с, 1H), 3,17-3,13 (м, 2H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,16 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162 МГц) δ 4,20.

Пример 19

(S)-изопропил 2-((((2R,3S,4S,5R)-5-(4-амино-2-оксопиримидин-1(2H)-ил)-4-фтор-3-гидрокситетрагидротиофен-2-ил)метокси) (бензофуран-6-илокси) фосфорил) амино) пропаноат (C19)



Соединение C19 получали согласно способу, аналогичному способу примера 1, применяя хлорокись фосфора, 6-гидроксибензофуран, гидрохлорид изопропилового эфира L-аланина, пентафторфенол и соединение А в качестве исходных соединений.

Данные структурных характеристик соединения являются следующими.

ESI-MS: 571,2 (M+1)

^1H NMR (DMSO- d_6 , 400 МГц) δ 7,89 (д, $J=8$ Гц, 1H), 7,54 (с, 1H), 7,35 (уш с, 1H), 7,26 (уш с, 1H), 7,20-7,18 (м, 1H), 6,68-6,66 (м, 3H), 6,59-6,56 (м, 1H), 6,08-6,03 (м, 1H), 5,80-5,79 (м, 1H), 5,02-4,88 (м, 2H), 4,60-4,55 (м, 3H), 4,36-4,32 (м, 1H), 3,80-3,75 (м, 1H), 3,47 (уш с, 1H), 1,23 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,16 (д, $J=5,2$ Гц, 6H).

^{31}P NMR (DMSO- d_6 , 162 МГц) δ 4,35.

Биологические анализы

Экспериментальный пример 1: эксперимент *in vitro*

Данный экспериментальный пример применяют для оценки эффективности соединений настоящего изобретения в ингибировании пролиферации клеточных линий рака желудка человека NCI-N87, колоректального рака HCT-116, колоректального рака HCT-15 и рака поджелудочной железы VxPC-3.

1. Клетки для эксперимента

Опухолевые клеточные линии, применяемые в настоящем эксперименте, представляли собой раковые клетки желудка NCI-N87 (полученные у Guangzhou Jennio Biological Technology Co., Ltd.), колоректальные раковые клетки HCT-116 (полученные у Chengdu Center for Safety Evaluation of Drugs), колоректальные раковые клетки HCT-15 и раковые клетки поджелудочной железы VxPC-3 (обе получены у ATCC, US).

Клеточные линии выше культивировали в виде монослоя *in vitro*, и условия культивирования были следующими. Каждую из клеточных линий культивировали в соответствующей культуральной среде (RPMI-1640, IMDM и L-15 культуральной среде (изготовитель: Gibco)), дополненной 10% термоинактивированной фетальной бычьей сывороткой (изготовитель: Sigma), в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂. Клетки пересевали обработкой гидролизом трипсином-EDTA.

2. Получение образцов

Для каждого типа опухолевых клеток, применяли группу сравнения, группу с плацебо (содержащую 1% DMSO) и 8 групп с испытуемым соединением при концентрациях 5 нМ, 10 нМ, 50 нМ, 100 нМ, 500 нМ, 1000 нМ, 5000 нМ и 10000 нМ (с каждой концентрацией в трех экземплярах).

Подходящие количества испытуемых соединений взвешивали и растворяли в DMSO (степени чистоты для клеточных культур, Sigma), получая исходные растворы различных концентрационных градиентов согласно требуемым концентрациям. В процессе инкубирования, их разбавляли в 1000 раз, при необходимости, и получали растворы для инкубирования с различными концентрациями лекарственных средств (исходный раствор соединения: среда, содержащая 2% FBS=1:1000).

3. Экспериментальный способ

Эксперимент проводили согласно ССК-8 способу, как описано ниже. Раковые клетки, которые будут испытывать, высевали в 96-луночном планшете для культур при концентрации $5 \sim 10 \times 10^4$ /мл (100 мкл/лунка), с последующим инкубированием при 37°C и 5% CO₂ в течение 24 часов. Среду удаляли, и растворы для инкубирования с различными концентрациями лекарственного средства (200 мкл) соответственно добавляли к каждой лунке, и клетки дополнительно инкубировали в течение 72 часов. После инкубирования, ССК-8 раствор (20 мкл/лунка) добавляли к каждой лунке, которую будут испытывать, и инкубирование продолжали в течение 4 часов в инкубаторе. OD величины при двух длинах волн (длина волны детекции: 450 нМ, и опорная длина волны: 650 нМ) определяли на многофункциональном полностью автоматическом считывающем устройстве для микропланшетов.

Степень ингибирования роста опухолевых клеток рассчитывали согласно следующей формуле:

$$\text{Степень ингибирования} = \left[\frac{(\text{OD}_{\text{среда}} - \text{OD}_{\text{контроль}}) - (\text{OD}_{\text{лекарственное средство}} - \text{OD}_{\text{контроль}})}{\text{OD}_{\text{среда}} - \text{OD}_{\text{контроль}}} \right] * 100\%$$

На основе степени ингибирования подгоняли кривую зависимости концентрация-степень ингибирования, применяя GraphPad prism 5.0 программное обеспечение, и рассчитывали IC₅₀.

Фигура 1 показывает, что соединение примера 8 (С8) обладает мощными ингибирующими эффектами на раковые клетки желудка NCI-N87, колоректальные раковые клетки НСТ-116, колоректальные раковые клетки НСТ-15 и раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3 при 8 концентрациях выше. IC₅₀ величины примерных соединений настоящего изобретения для каждого типа раковых клеток показаны в таблице 1-1-1-4.

Таблица 1-1

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)
	Раковые клетки желудка NCI-N87
С2	0,25
С8	0,483
С13	0,55

C14	0,18
C15	0,24
C16	0,30
C17	0,63
C19	0,35

Таблица 1-2

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)
	Колоректальные раковые клетки НСТ-116
C8	0,485

Таблица 1-3

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)
	Колоректальные раковые клетки НСТ-15
C2	2,97
C8	1,964
C14	9,78
C15	4,08

Таблица 1-4

Соединение	IC ₅₀ (мкМ)
	Раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3
C2	1,28
C8	0,705
C14	2,82
C15	1,80
C16	1,15
C17	3,80
C18	2,74
C19	0,68

Согласно результатам эксперимента, IC₅₀ величины соединений настоящего изобретения были в диапазоне 0,1-1 мкМ для раковых

клеток желудка NCI-N87, в диапазоне 0,1-1 мкМ для колоректальных раковых клеток НСТ-116, в диапазоне 0,5-10 мкМ для колоректальных раковых клеток НСТ-15, и в диапазоне 0,1-5 мкМ для раковых клеток поджелудочной железы ВхРС-3. Соответственно, соединения настоящего изобретения обладают ингибирующей активностью на опухолевые клетки.

Соединение примера 8 (С8) настоящего изобретения обладают мощным противоопухолевым эффектом *in vitro*, и обладают превосходными ингибирующими эффектами на раковые клетки желудка NCI-N87, колоректальные раковые клетки НСТ-116, колоректальные раковые клетки НСТ-15 и раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3. Каждое из соединений примера 2, 14 и 15 обладает превосходными ингибирующими эффектами на раковые клетки желудка NCI-N87, колоректальные раковые клетки НСТ-15 и раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3. Соединения примеров 16, 17 и 19 обладают превосходными ингибирующими эффектами на раковые клетки желудка NCI-N87 и раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3. Соединение примера 13 обладает превосходным ингибирующим эффектом на раковые клетки желудка NCI-N87, и соединение примера 18 обладает превосходным ингибирующим эффектом на раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3.

Экспериментальный пример 2: испытание на активность *in vivo*

Данный экспериментальный пример применяли для оценки эффективности соединений настоящего изобретения в ингибировании пролиферации подкожного ксенотрансплантата человеческих опухолевых клеток различными путями введения.

В качестве примера, в настоящем экспериментальном примере исследовали изменения объема опухоли и веса тела мышей с подкожными ксенотрансплантатами линии человеческих колоректальных раковых клеток НСТ-116 и линии раковых клеток желудка NCI-N87 после введения соединения С8 различными путями так, чтобы определить фармакологическую эффективность и токсичность каждого испытуемого образца на мышях с опухолью колоректальных раковых клеток НСТ-116 или раковых клеток желудка NCI-N87.

1. Клеточные линии для испытания

Раковые клетки желудка NCI-N87 и колоректальные раковые клетки HCT-116 выращивали в виде монослоя *in vitro*, и условия культивирования представляли собой RPMI-1640 культуральную среду, дополненную 10% термоинактивированной фетальной бычьей сывороткой, и инкубирование в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂. Клетки пересевали обработкой гидролизом трипсином-EDTA.

2. Инокуляция опухолевых клеток и группирование животных

Опухолевые клетки соответствующим образом инокулировали в BALB/c безтимусные мыши (SPF степень, женские особи, 16-18 г на мышь, приблизительно 6-8 недельные, Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd.).

Каждую безтимусную мышь инокулировали приблизительно $2,5 \times 10^6$ HCT-116 опухолевыми клетками или приблизительно 3×10^6 NCI-N87 опухолевыми клетками (суспендированными в 0,1 мл PBS) подкожно в подмышку правого бока. После того как инокулированная опухоль достигала размера в диапазоне приблизительно 100-200 мм³, безтимусных мышей с опухолью, которая была слишком маленькой (меньше чем 100 мм³) или слишком большой (больше чем 200 мм³), удаляли из исследования, и оставшихся мышей случайным образом распределяли по группам.

3. Получение образцов

Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (SE- β -CD) формулировали с физиологическим соляным раствором, получая 10% раствор, который затем фильтровали через 0,22 мкм стерильный фильтр для последующего применения.

Подходящее количество испытуемого соединения взвешивали и добавляли в DMSO. Полученный в результате раствор перемешивали до однородности, и 10% раствор SE- β -CD добавляли в зависимости от требуемой концентрации. Раствор перемешивали до однородности, и конечную концентрацию DMSO доводили до 5%. Инъекцию гемцитабина (положительный контроль) непосредственно разбавляли до требуемой концентрации физиологическим соляным раствором. 10% раствор SE- β -CD, содержащий 5% DMSO, получали в качестве контроля с плацебо.

4. Способ испытания

Мышей с опухолью, имеющей объем приблизительно 100-200 мм³,

отбирали и случайным образом распределяли по 5 группам (8 мышей на группу). Объем дозы составлял 10 мл/кг, и введение (внутривенное введение (i.v.) или пероральное введение (p.o.)) осуществляли дважды в неделю в течение 3 недель. Объем опухоли и вес тела измеряли дважды в неделю после введения, и смертность животных наблюдали каждый день.

5. Показатели испытания

5.1 Объем опухоли

Измеряли диаметр опухоли, и объем опухоли рассчитывали согласно следующей формуле: $V=0,5a \times b^2$, где а и b представляют собой наибольший и наименьший диаметры опухоли, соответственно. Противоопухолевый эффект оценивали ингибированием роста опухоли (TGI) (%).

$$TGI (\%) = [1 - (V_{T-end} - V_{T-start}) / (V_{C-end} - V_{C-start})] * 100\%$$

где:

V_{T-end} : средняя величина объема опухоли группы обработки в конце испытания;

$V_{T-start}$: средняя величина объема опухоли группы обработки в начале испытания;

V_{C-end} : средняя величина объема опухоли группы с плацебо в конце испытания; и

$V_{C-start}$: средняя величина объема опухоли группы с плацебо в начале испытания.

5.2 Вес тела: вес тела животного измеряли дважды в неделю.

6. Результаты испытания

6.1 Эффекты на раковые клетки желудка NCI-N87

6.1.1 Регрессия опухоли

По сравнению с контрольной группой с плацебо и группой положительного контроля (инъекция гемцитабина), в группах, обработанных С8 образцами, рост опухоли значительно ингибировался, и было показано, что различные пути введения С8 являются безопасными и хорошо переносимыми.

Результаты TGI и регрессии опухоли каждой группы показаны в таблице 2.

Результаты показывали, что в группах, обработанных С8,

полная регрессия опухоли протекала у всех животных, тогда как в группе, обработанной гемцитабином, полная регрессия опухоли протекала у 2 животных, и частичная регрессия опухоли протекала у 6 животных.

Таблица 2: результаты TGI и регрессии опухоли в модели раковых клеток желудка NCI-N87.

Группа	Соединение	доза (мкмоль/ /кг)	Путь введе ния	TGI (%)	Регрессия опухоли
1	Контроль плацебо	с --	i.v.	/	0
2	Инъекция гемцитабина	190	i.v.	107	2/8 CR, 6/8 PR
4	Соединение С8	190	i.v.	109	8/8 CR
5	Соединение С8	190	p.o.	110	8/8 CR

пояснение: CR представляет собой полную регрессию опухоли;

PR представляет собой частичную регрессию опухоли, т.е., объем опухоли является меньшим, чем объем опухоли в начале введения;

i.v. представляет собой внутривенное введение; и

p.o. представляет собой пероральное введение.

6.1.2 Изменение веса тела и смертность животных

В конце наблюдения (которое продолжали в течение 14 дней после последнего введения) вес тела животных увеличивался во всех группах по сравнению с весом в начале введения, и смерть животных не наблюдали в каждой группе. Результаты показаны в таблице 3.

Таблица 3: изменение веса тела и смертность животных в каждой группе

Группа	Соединение	доза (мкмоль/к г)	Путь введени я	Изменение веса тела
1	Контроль плацебо	с --	i.v.	+11,9%

2	Инъекция гемцитабина	190	i.v.	+4,8%
4	Соединение С8	190	i.v.	+8,1%
5	Соединение С8	190	p.o.	+8,1%

С одной стороны, в испытании на мышах с опухолью линии раковых клеток желудка NCI-N87, по сравнению с контрольной группой с плацебо, в группе, обработанной гемцитабином, полная регрессия опухоли протекала у 2 животных, и частичная регрессия опухоли протекала у 6 животных; тогда как полная регрессия опухоли протекала у всех животных из групп, обработанных внутривенным введением и пероральным введением С8, показывая, что рост опухоли у животных из групп, обработанных С8 (i.v. и p.o.), значительно ингибировался.

С другой стороны, смерть животных не наступала в любой из групп обработки. Вес тела животных увеличивался в различной степени во всех группах по сравнению с весом в начале введения. Неожиданно было обнаружено, что увеличение веса тела в процентах в группах, обработанных соединением С8, было вплоть до в два раза большим, чем в группе, обработанной гемцитабином. Было показано, что испытуемое соединение настоящей заявки обладает значительной фармакологической эффективностью, а также большей безопасностью и профилями переносимости, и обработанный им организм будет более легко восстанавливаться.

6.2 Колоректальные раковые клетки НСТ-116

6.2.1 Регрессия опухоли

По сравнению с контрольной группой с плацебо и группой положительного контроля (инъекция гемцитабина), в группах, обработанных соединением С8, рост опухоли значительно ингибировался, и было показано, что соединение С8 обладает превосходной безопасностью и профилями переносимости.

Результаты TGI и регрессии опухоли каждой группы показаны в таблице 4.

Результаты (полученные после наблюдения в течение 14 дней после последнего введения) показали, что в группах, обработанных соединением С8 (i.v. и p.o.), полная регрессия опухоли протекала

у 1 животного, и частичная регрессия опухоли протекала у 7 животных; тогда как регрессия опухоли не протекала в группе, обработанной гемцитабином.

Таблица 4: результаты TGI и регрессии опухоли в модели колоректальных раковых клеток НСТ-116.

Группа	Соединение	доза (мкмоль /кг)	Путь введе ния	TGI (%)	Регрессия опухоли
1	Контроль плацебо	с --	i.v.	/	0
2	Инъекция гемцитабина	190	i.v.	92	0
4	Соединение С8	190	i.v.	111	1/8 CR, 7/8 PR
5	Соединение С8	190	p.o.	113	1/8 CR, 7/8 PR

6.2.2 Изменение веса тела и смертность животных

В конце наблюдения (которое продолжали в течение 14 дней после последнего введения) вес тела животных снижался (на 2,4%) в группе, обработанной гемцитабином, тогда как вес тела животных увеличивался во всех оставшихся группах, по сравнению с весом в начале введения. Смерть животных не наступала в любой из групп. Подробные результаты показаны в таблице 5.

Таблица 5: изменение веса тела и смертность животных в каждой группе

Группа	Соединение	доза (мкмоль /кг)	Путь введен ия	Изменени е веса тела	смертнос ть
1	Контроль плацебо	с --	i.v.	+8,6%	0
2	Инъекция гемцитабина	190	i.v.	-2,4%	0
4	Соединение С8	190	i.v.	+7,4%	0
5	Соединение С8	190	p.o.	+8,9%	0

В испытании на мышах с опухолью линии колоректальных раковых клеток НСТ-116 по сравнению с контрольной группой с плацебо, регрессия опухоли протекала в группе, обработанной гемцитабином; тогда как в группах, обработанных соединением С8

(включая внутривенное введение и пероральное введение), полная регрессия опухоли протекала у 1 животного, и частичная регрессия опухоли протекала у 7 животных. Таким образом, было показано, что соединение С8 обладает превосходным противоопухолевым эффектом *in vivo*. Между тем, соединение С8 имело высокую полярность и жирорастворимость, а также улучшенные метаболические свойства и биодоступность.

Экспериментальный пример 3: испытание на активность *in vivo*

1. Клеточные линии для испытания, инокуляция опухолевых клеток и группирование животных

Согласно способам, аналогичным способам в разделах 1-2 в экспериментальном примере 2, раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3 выращивали в виде монослоя *in vitro* и инокулировали, и животных случайным образом распределяли по группам.

2. Получение образцов

Сульфобутиловый эфир β -циклодекстрина (SE- β -CD) формулировали с физиологическим соляным раствором, получая 10% раствор, который затем фильтровали через 0,22 мкм стерильный фильтр для последующего применения.

Подходящее количество испытуемого соединения взвешивали и добавляли в DMSO. Затем, 10% раствор SE- β -CD добавляли в зависимости от требуемой концентрации, и конечную концентрацию DMSO доводили до 2,5%. Инъекцию гемцитабина (положительный контроль) непосредственно разбавляли до требуемой концентрации физиологическим соляным раствором. 10% раствор SE- β -CD, содержащий 2,5% DMSO, получали в качестве контроля с плацебо.

3. Способ испытания

Мышей с опухолью, имеющей объем 100-200 мм³, отбирали и случайным образом распределяли по 14 группам (7 мышей на группу). Дозируемый объем составлял 20 мл/кг, и введение (внутривенное введение (*i.v.*)) осуществляли один раз каждые 3 дня, в сумме 4 раза. Объем опухоли и вес тела измеряли дважды в неделю после введения, и за смертностью животных наблюдали каждый день.

4. Показатели испытания

Для статистических расчетов показателей испытания, пожалуйста, ссылайтесь на экспериментальный пример 2.

5. Результаты испытания

Таблица 6: эффективность на подкожном ксенотрансплантате человеческих раковых клеток поджелудочной железы ВхРС-3 у безтимусных мышей

Соединение	доза (ммоль/кг)	Путь введения	TGI (%)
Контроль с плацебо	/	i.v.	-
Инъекция гемцитабина	0,04	i.v.	-2,2
Соединение С8	0,04	i.v.	26,9
Инъекция гемцитабина	0,12	i.v.	28,9
Соединение С8	0,12	i.v.	74,9
Инъекция гемцитабина	0,24	i.v.	45,5
Соединение С8	0,24	i.v.	82,9

Как можно видеть из таблицы выше, соединение С8 настоящего изобретения может эффективно ингибировать рост подкожного ксенотрансплантата человеческих раковых клеток поджелудочной железы ВхРС-3 у безтимусных мышей при различных дозах, и фармакологический эффект соединения С8 был значительно большим, чем эффект инъекции гемцитабина.

Экспериментальный пример 4: испытание на активность *in vivo*

1. Клеточные линии для испытания, инокуляция опухолевых клеток, группирование животных и получение образцов

Согласно способам, аналогичным способам разделов 1-3 в экспериментальном примере 2, раковые клетки поджелудочной железы ВхРС-3 выращивали в виде монослоя *in vitro* и инокулировали; животных случайным образом распределяли по группам; и получали образцы.

2. Способ испытания

Мышей с опухолью, имеющей объем 80-250 мм³, отбирали и случайным образом распределяли по 6 группам (8 мышей на группу). Дозируемый объем составлял 10 мл/кг. Объем опухоли и вес тела измеряли дважды в неделю после введения, и за смертностью животных наблюдали каждый день.

3. Показатели испытания

Для статистических расчетов показателей испытания, пожалуйста, ссылайтесь на экспериментальный пример 2.

4. Результаты испытания

Результаты испытания, полученные введением дважды в неделю в течение трех недель в сумме, показаны в таблице 7-1.

Таблица 7-1: эффективность на подкожном ксенотрансплантате человеческих раковых клеток поджелудочной железы ВхРС-3 у безтимусных мышей

Соединение	доза (ммоль/кг)	Путь введения	TGI (%)
Контроль с плацебо	/	p.o.	/
Соединение С8	0,06	p.o.	47,7
Инъекция гемцитабина	0,12	i.v.	23,6
Соединение С8	0,12	p.o.	53,2

Результаты испытания, полученные введением (внутривенное введение (i.v.) или пероральное введение (p.o.)) один раз в неделю в течение 3 недель, показаны в таблице 7-2.

Таблица 7-2: эффективность на подкожном ксенотрансплантате человеческих раковых клеток поджелудочной железы ВхРС-3 у безтимусных мышей

Соединение	доза (ммоль/кг)	Путь введения	TGI (%)
Инъекция гемцитабина	0,23	i.v.	23,6
Соединение С8	0,23	p.o.	51,0

В данном испытании, соединение С8 настоящего изобретения может эффективно ингибировать рост подкожного ксенотрансплантата человеческих раковых клеток поджелудочной железы ВхРС-3 у безтимусной мыши при различных дозах, и фармакологический эффект соединения С8 является значительно лучшим, чем эффект инъекции гемцитабина. Более того, соединение С8 показывает превосходную пероральную биодоступность. Поскольку пероральное введение представляет собой путь введения, более приемлемый для пациента, соединение С8 настоящего изобретения обладает улучшенной переносимостью для пациента.

Экспериментальный пример 5: испытание на активность *in vivo*

1. Клеточные линии для испытания, инокуляция опухолевых клеток и группирование животных

Согласно способам, аналогичным способам в разделах 1-2 в экспериментальном примере 2, раковые клетки поджелудочной железы Саран-1 выращивали в виде монослоя *in vitro* и инокулировали, и

животных случайным образом распределяли по группам.

2. Получение образцов

Образцы получали, как описано в экспериментальном примере 2.

3. Способ испытания

Мышей с опухолью, имеющей объем 100–200 мм³, отбирали и случайным образом распределяли по 7 группам (7 мышей на группу). Дозируемый объем составлял 20 мл/кг, и введение (внутривенное введение (i.v.) или пероральное введение (p.o.)) осуществляли один раз каждые 3 дня, в сумме 6 раз. Объем опухоли и вес тела измеряли дважды в неделю после введения, и за смертностью животных наблюдали каждый день.

4. Показатели испытания

Для статистических расчетов показателей испытания, пожалуйста, ссылайтесь на экспериментальный пример 2.

5. Результаты испытания

Таблица 8: эффективность на подкожном ксенотрансплантате человеческих раковых клеток поджелудочной железы Саран-1 у безтимусных мышей

Соединение	доза (ммоль/кг)	Путь введения	TGI (%)
Контроль с плацебо	-	p.o.	-
Инъекция гемцитабина	0,02	i.v.	15,4
Инъекция гемцитабина	0,19	i.v.	78,9
Соединение С8	0,02	p.o.	25,6
Соединение С8	0,06	p.o.	79,1
Соединение С8	0,19	p.o.	138,5
Соединение С8	0,06	i.v.	81,8

Как можно видеть из таблицы выше, соединение С8 настоящего изобретения может эффективно ингибировать рост подкожного ксенотрансплантата человеческих раковых клеток поджелудочной железы Саран-1 у безтимусной мыши при различных дозах, и фармакологический эффект соединения С8 является значительно лучшим, чем эффект инъекции гемцитабина. Более того, эффекты, достигаемые пероральным и внутривенным введением соединения С8, были лучшими, чем эффекты, достигаемые гемцитабином, вводимым при дозе, в три раза большей, чем доза С8.

Экспериментальный пример 6: испытание на активность *in vivo*

Данное испытание осуществляли согласно экспериментальному примеру 5.

Мышей с опухолью, имеющей объем 100–200 мм³, отбирали и случайным образом распределяли по 4 группам (6 мышей на группу). Дозируемый объем составлял 10 мл/кг, и введение (внутривенное введение (i.v.) или пероральное введение (p.o.)) осуществляли один раз каждые 3 дня, в сумме 6 раз. Объем опухоли и вес тела измеряли дважды в неделю после введения, и за смертностью животных наблюдали каждый день.

Таблица 9: эффективность на подкожном ксенотрансплантате человеческих раковых клеток поджелудочной железы PANC-1 у безтимусной мыши

Соединение	доза (ммоль/кг)	Путь введения	TGI (%)
Контроль с плацебо	-	p.o.	-
Инъекция гемцитабина	0,06	i.v.	64,4
Соединение С8	0,06	p.o.	155
Соединение С8	0,19	p.o.	195

Как можно видеть из таблицы выше, соединение С8 настоящего изобретения может эффективно ингибировать рост подкожного ксенотрансплантата человеческих раковых клеток поджелудочной железы Саран-1 у безтимусной мыши при различных дозах, и фармакологический эффект соединения С8 является значительно лучшим, чем эффект инъекции гемцитабина.

Экспериментальный пример 7: токсикологические испытания

Данный экспериментальный пример применяли для демонстрации значительно улучшенного профиля безопасности соединения настоящего изобретения.

1. Испытание на пероральную токсичность на мышах (введение в течение 7 дней)

Нормальных мужских и женских особей мышей вида Кунминг (SPF степень, полученные у Laboratory Animal Center из Sichuan Academy of Chinese Medicine Science) случайным образом распределяли по весу в группы. Испытуемое соединение и контроль с плацебо формулировали согласно экспериментальному примеру 2.

Дозируемый объем составлял 10 мл/кг, и введение осуществляли пероральным принудительным введением, один раз в

день в течение 7 последующих дней.

Смертность и клинические симптомы, наблюдаемые в данном испытании, показаны в таблице 10.

Таблица 10: результаты смертности и клинических симптомов, наблюдаемых на мышах с повторяющимся введением в течение 7 дней

Группа	Образец	Доза (мг/кг)	Доза (мкмоль/кг)	Результаты (3 мужские особи+3 женские особи)
1	Очищенная вода	0	0	симптомов отклонения от нормы нет
2	Контроль с плацебо	0	0	симптомов отклонения от нормы нет
3	Соединение С8	□6	□12	симптомов отклонения от нормы нет
4	Соединение С8	□20	□38	симптомов отклонения от нормы нет
5	Соединение С8	□41	□77	Одно животное изгибалось, и затем восстанавливалось.
6	Соединение А	□20	□77	Все животные показывали тяжелые симптомы отклонения от нормы, и два из них умирали.

Согласно таблице выше, токсические реакции, являющиеся результатом приблизительно 77 мкмоль/кг соединения А, вызывали смерть некоторых животных, тогда как смерть, вызванная приблизительно 77 мкмоль/кг соединения А, наступала только тогда, когда соединение С8 вводили при очень высокой дозе (□115 мкмоль/кг). Более того, животные выживали при дозе приблизительно 77 мкмоль/кг соединения С8, что указывает на то, что токсические эффекты, вызванные пероральным введением данного соединения мышам, были легкими, мыши могут восстанавливаться и, таким образом, показана сниженная токсичность, вызванная пероральным введением соединения С8 мышам.

2. Испытание на токсичность при внутривенном введении мышам (введение в течение 7 дней)

Данное испытание применяли для исследования токсических реакций после внутривенного введения соединения С8 нормальным КМ мышам в течение 7 последующих дней.

Способ испытания

КМ мышей, прошедших карантинный контроль, случайным образом распределяли по 4 группам (3 мыши/пол/группа). Испытуемое соединение и контроль с плацебо формулировали согласно экспериментальному примеру 2. Дозируемый объем составлял 10 мл/кг, и конкретные дозы составляли, как показано в таблице 11. Смертность, внешний вид, поведение, психическое состояние, секрецию и экскременты и т.д. животных наблюдали каждый день в течение 7 последующих дней после введения, и животных анатомировали на 8 день.

Таблица 11: дозы

Группа	Лекарственное средство	Доза (мг/кг)	Доза (мкмоль/кг)	Количество животных
1	Физиологический соляной раствор	0	0	3 мужские особи+3 женские особи
2	Контроль с плацебо	0	0	3 мужские особи+3 женские особи
3	Соединение С8	60,9	115,38	3 мужские особи+3 женские особи
4	Соединение А	20	76,92	3 мужские особи+3 женские особи

Результаты испытания

Заметные отличия показателей между группой с введением физиологического соляного раствора и группой с введением плацебо отсутствовали.

Животные из группы, обработанной соединением А, проявляли симптомы, такие как сторбленная поза и потеря веса и т.д. на 8 день, тогда как соответствующих нарушений не наблюдали в группе 3 (группа, обработанная соединением С8). Вес тела животных, обработанных соединением А, постепенно снижался, и на 8 день вес тела женских особей и мужских особей снижался на 20,2% и 18,1%, соответственно; тогда как вес тела животных из группы, обработанной соединением С8, постепенно увеличивался, и на 8 день вес тела женских особей и мужских особей увеличивался на 13,1% и 26,7%, соответственно. После анатомирования на 8 день, по сравнению с группой с введением плацебо, количество лейкоцитов у женских особей и мужских особей животных из группы,

обработанной соединением С8, снижалось на 45% и 49%, соответственно, и количество тромбоцитов снижалось на 43% и 39%, соответственно; тогда как количество лейкоцитов у женских особей и мужских особей животных из группы, обработанной соединением А, снижалось на 83% и 87%, соответственно, и количество тромбоцитов снижалось на 71% и 77%, соответственно.

Все соединения примеров испытывали согласно способам, описанным выше, и было обнаружено, что соединения в примерах настоящего изобретения обладают значительно лучшими профилями безопасности, чем инъекция гемцитабина и соединения А в токсикологических экспериментах.

Испытывая соединения примеров, как описано выше, было обнаружено, что все соединения, полученные в настоящем изобретении, вводят ли их внутривенно или перорально, достигали превосходного противоопухолевого эффекта, и опухоли показывали полную регрессию или частичную регрессию. Более неожиданно, все фармакологические эффекты, достигаемые введением соединений настоящего изобретения двумя различными путями, были лучшими, чем фармакологические эффекты инъекции гемцитабина (опухоли не показывали или показывали небольшую регрессию в группе, обработанной инъекцией гемцитабина), и эффект низкой пероральной биодоступности гемцитабина полностью преодолевался.

Неожиданно, вес тела животных в группе, обработанной инъекцией гемцитабина, снижался в процессе эксперимента, указывая на то, что инъекция вызывала определенное повреждение у испытуемых животных; тогда как вес тела животных в группах, обработанных соединениями примеров настоящего изобретения, увеличивались в процессе эксперимента, указывая, что соединения настоящего изобретения обладают лучшей переносимостью и профилями безопасности на животных в различных группах.

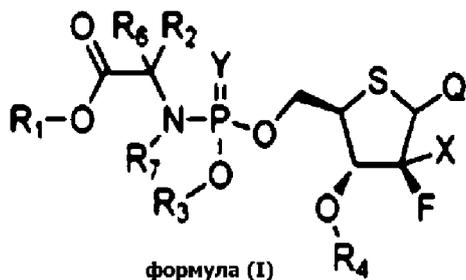
Таким образом, 4'-тио-2'-фторнуклеозидные соединения настоящего изобретения обладают превосходными фармакологическими эффектами. По сравнению с исходным соединением (соединением А), соединения настоящего изобретения обладают повышенной жирорастворимостью, повышенной биодоступностью, сниженным раздражением, улучшенным поглощением, и не вызывают проблем с

скоростью метаболизма. Самое важное достижение соединений настоящего изобретения заключается в заметно сниженной токсичности, улучшенном профиле безопасности и эффективности, достигаемой различными путями введения (внутривенное или пероральное введение).

Настоящее изобретение дополнительно описано конкретными вариантами осуществления выше. Однако не следует считать объем настоящего изобретения ограниченным просто примерами выше, все технические решения, достигаемые на основе содержания настоящего изобретения, включены в объем настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I),



где:

X представляет собой водород, C₁₋₆ алкил, галоген, N₃, OH, CN или SH;

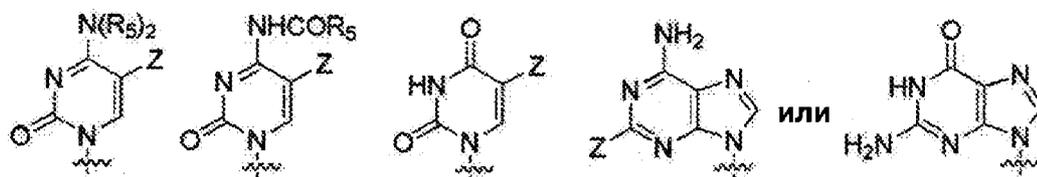
Y представляет собой кислород или серу;

каждый R₁, R₂, R₆, и R₇ независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁₋₁₀ алкила, необязательно замещенного циклоалкила, необязательно замещенного арила, необязательно замещенного гетероциклила и необязательно замещенного гетероарила, где R₂ и R₆ можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O, и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо;

R₃ выбран из группы, состоящей из необязательно замещенного арила и необязательно замещенного гетероарила;

R₄ выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C₁₋₁₀ ацила;

Q представляет собой пиримидиновое основание или а пуриновое основание, имеющее следующую структуру:



R₅ при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C₁₋₁₀ алкила и необязательно замещенного циклоалкила; и

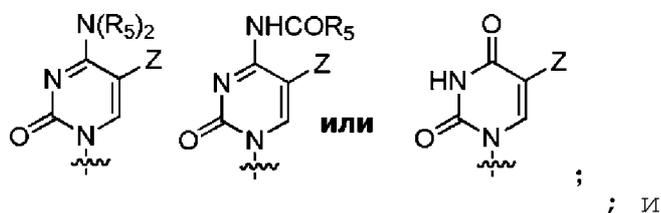
Z представляет собой водород, необязательно замещенный C₁₋₁₀ алкил или галоген;

Выражение выше "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, алкила, амино, алкиламино, алкокси, галогеналкила, галогеналкокси, гидрокси, гидроксипалкила, алкоксипалкила, амидо, сульфонамидо, циано, нитро, нитрозо, азидо, альдегида, алкенила, алкинила, циклоалкила, арила, аралкила, арилокси, гетероарила, гетероарилокси, ацила, карбоксила, алкилкарбонила, арилкарбонила, гетероарилкарбонила и карбоксилата; и заместители можно соединять друг с другом, получая 3-8 членное насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо, содержащее 0-3 гетероатома, выбранные из N, O и S;

или его фармацевтически приемлемая соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любая его кристаллическая форма или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

2. Соединение по п. 1, где:

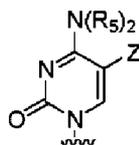
Q представляет собой пиримидиновое основание, имеющее следующую структуру:



Z представляет собой водород, метил или галоген;

или его фармацевтически приемлемая соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любая его кристаллическая форма или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

3. Соединение по п. 1 или 2, где



Q представляет собой ; и

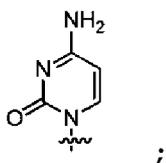
Z представляет собой водород, метил или галоген;

или его фармацевтически приемлемая соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любая его кристаллическая форма или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

4. Соединение по любому из пунктов 1-3, где:

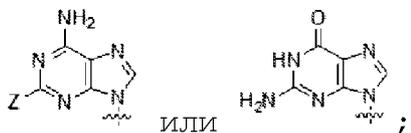
каждый R_1 , R_2 , R_6 и R_7 независимо выбран из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_{1-10} алкила, необязательно замещенного циклоалкила и необязательно замещенного арила, где R_2 и R_6 можно соединять, получая 3-8 членное карбоциклическое кольцо, которое может содержать 0-3 гетероатома, выбранные из N, O, и S, и может представлять собой насыщенное, ненасыщенное или ароматическое кольцо;

Q представляет собой цитозин, имеющий следующую структурную формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любая его кристаллическая форма или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

5. Соединение по п. 1, где Q представляет собой пуриновое основание, имеющее следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любая его кристаллическая форма или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

6. Соединение по любому из пунктов 1-5, где X представляет собой водород или галоген.

7. Соединение по любому из пунктов 1-6, где Y представляет собой кислород.

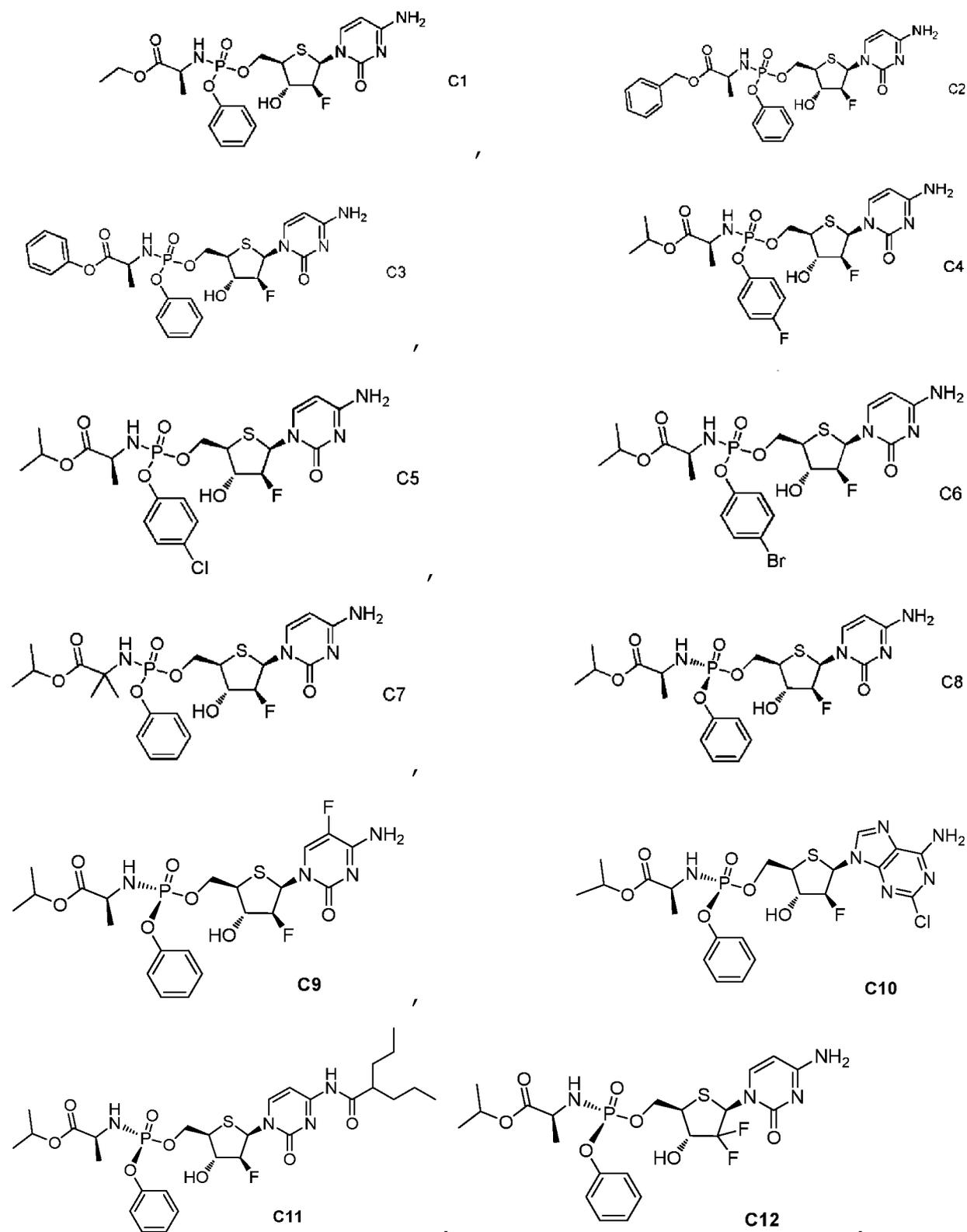
8. Соединение по любому из пунктов 1-7, где R_3 представляет собой необязательно замещенный арил.

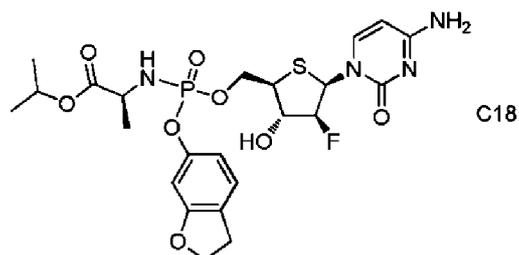
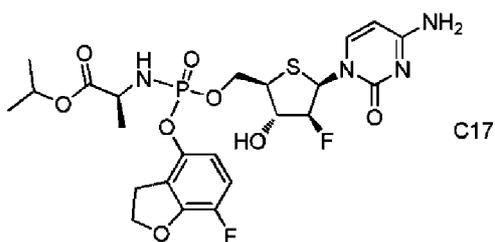
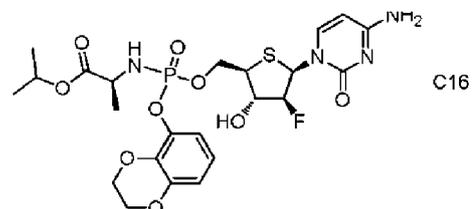
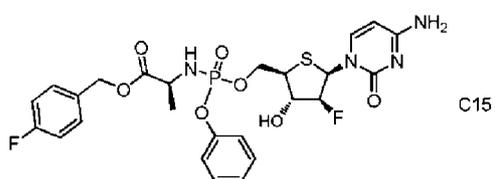
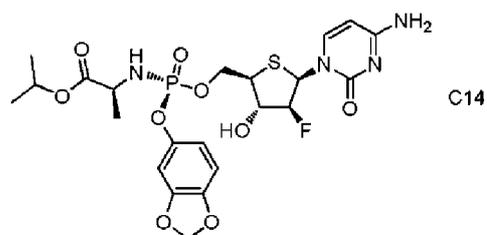
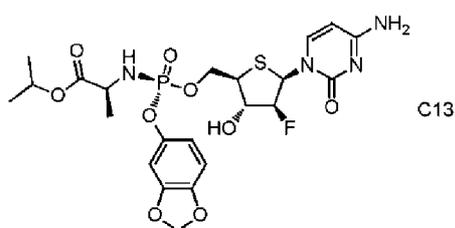
9. Соединение по любому из пунктов 1-8, где R_4 представляет собой водород.

10. Соединение по любому из пунктов 1-9, где R_5 при каждом появлении независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_{1-10} алкила.

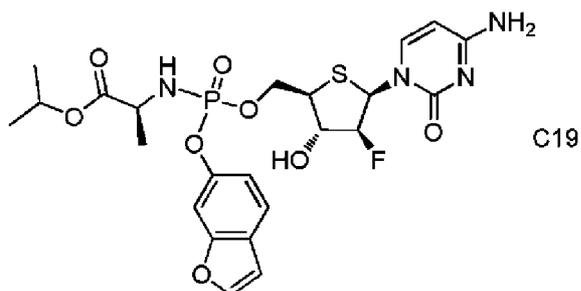
11. Соединение по любому из пунктов 1-10, где Z представляет собой водород, метил, фтор или хлор.

12. Соединение по любому из пунктов 1-11, где соединение представляет собой:





ИЛИ



или его фармацевтически приемлемая соль, эфир, сольват, гидрат, изомер, или любая его кристаллическая форма или рацемат, или его метаболит, или их смесь.

13. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пунктов 1-12, или его фармацевтически приемлемую соль, эфир, гидрат, сольват, изомер, или любую его кристаллическую форму или рацемат, или его метаболит, или их смесь, в качестве активного ингредиента, и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант, вспомогательное вещество или эквивалентную фармацевтически приемлемую среду.

14. Фармацевтическая композиция по п. 13, где фармацевтическая композиция содержит соединение по любому из пунктов 1-12 в виде однократной дозы в диапазоне 0,1-1000 мг, предпочтительно в виде однократной дозы в диапазоне 1-800 мг, более предпочтительно в виде однократной дозы в диапазоне 10-600

мг, особенно предпочтительно в виде однократной дозы в диапазоне 50-450 мг, и самое предпочтительное в виде однократной дозы в диапазоне 100-300 мг.

15. Фармацевтическая композиция по п. 13 или 14, которая представляет собой твердый, полутвердый, жидкий или газообразный препарат, и предпочтительно представляет собой лекарственную форму, подходящую для перорального введения.

16. Фармацевтическая композиция по любому из пунктов 13-15, где фармацевтическая композиция находится в форме единичной дозы или множества доз, причем каждая доза содержит подходящее количество соединения по любому из пунктов 1-12, или его фармацевтически приемлемой соли, эфира, гидрата, сольвата, изомера, или любой его кристаллической формы или рацемата, или его метаболита, или их смесь.

17. Применение соединения по любому из пунктов 1-12 или его фармацевтически приемлемой соли, эфира, гидрата, сольвата, изомера, или любой его кристаллической формы или рацемата, или его метаболита, или их смесь в получении лекарственного средства для предотвращения или лечения заболевания с нарушенной пролиферацией клеток или вирусного инфекционного заболевания у млекопитающего.

18. Применение по п. 17, где лекарственное средство содержит соединение по любому из пунктов 1-12 в виде однократной дозы в диапазоне 0,1-1000 мг, предпочтительно в виде однократной дозы в диапазоне 1-800 мг, более предпочтительно в виде однократной дозы в диапазоне 10-600 мг, предпочтительно в виде однократной дозы в диапазоне 50-450 мг и самое предпочтительное в виде однократной дозы в диапазоне 100-300 мг.

19. Применение по п. 17 или 18, где заболевание с нарушенной пролиферацией клеток или вирусное инфекционное заболевание представляет собой рак и/или опухоль и их родственные заболевания.

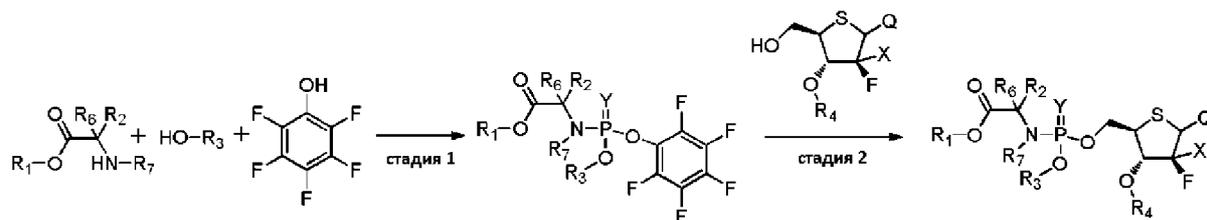
20. Применение по любому из пунктов 17-19, где лекарственное средство дополнительно содержит дополнительный противоопухолевый агент.

21. Применение по любому из пунктов 17-20, где

лекарственное средство находится в форме единичной дозы или множественной дозы, причем каждая доза содержит подходящее количество соединения по любому из пунктов 1-12, или его фармацевтически приемлемой соли, эфира, гидрата, сольвата, изомера, или любой его кристаллической формы или рацемата, или его метаболита, или их смеси.

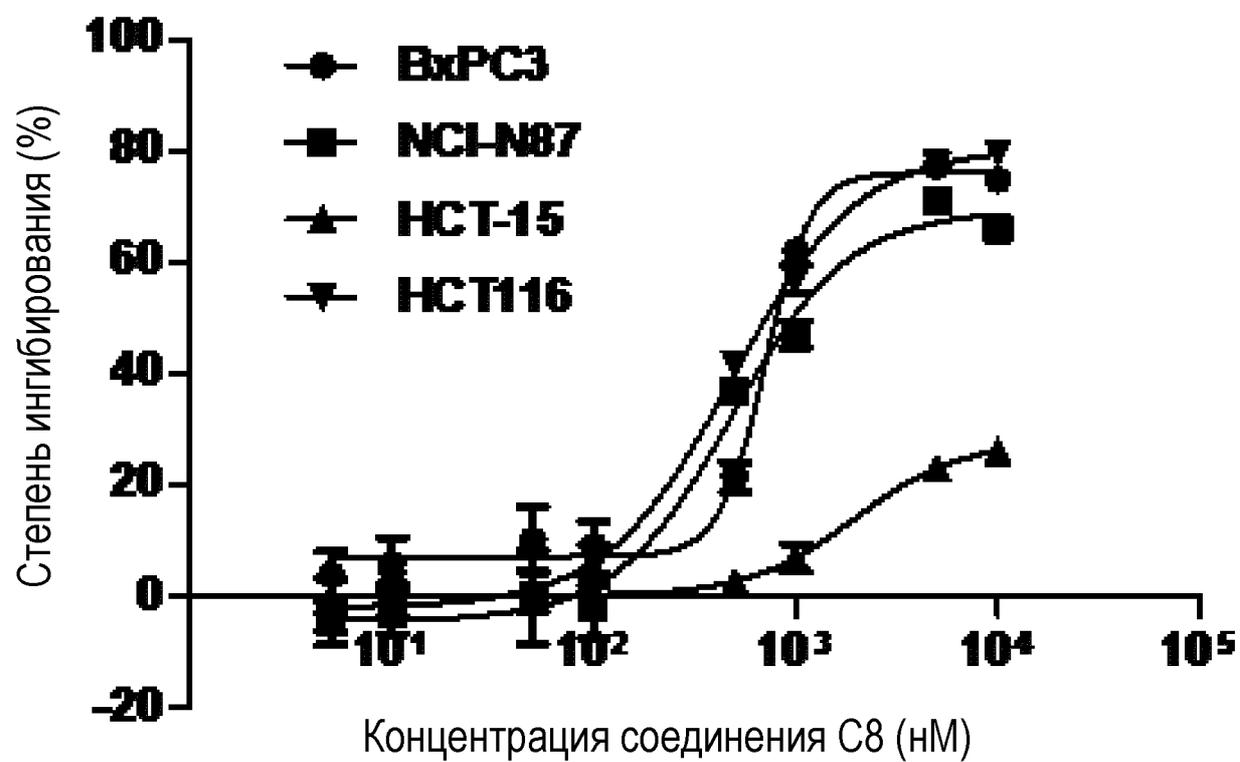
22. Применение по любому из пунктов 19-21, где рак и/или опухоль и родственные им заболевания включают рак пищевода, желудка, кишечника, прямой кишки, полости рта, глотки, гортани, легких, толстой кишки, груди, матки, эндометрия, яичника, предстательной железы, яичка, мочевого пузыря, почек, печени, поджелудочной железы, костей, соединительной ткани, кожи, глаз и мозга, нервной системы, а также рак щитовидной железы, лейкемию, болезнь Ходжкина, лимфому и миелому.

23. Способ получения соединения по любому из пунктов 1-12, включающий следующие стадии:



где каждая из групп представляет собой, как определено в любом из пунктов 1-12, и стадию 1 предпочтительно проводят в присутствии $POCl_3$.

По доверенности



ФИГ. 1