

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202091913 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.11.25

(51) Int. Cl. C07H 19/213 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.03.12

(54) МОДУЛЯТОРЫ STING (СТИМУЛЯТОРА ГЕНОВ ИНТЕРФЕРОНА) НА ОСНОВЕ ЦИКЛОПЕНТАНА

(31) 62/643,467; 62/666,204; 62/742,532;
62/809,990

(72) Изобретатель:

(32) 2018.03.15; 2018.05.03; 2018.10.08;
2019.02.25

Уайтс Мартин Джеймс, Макалпин
Индраван Джеймс, Пэтмэн Райан,
Жуй Юджин Юаньцзинь, Фенсом
Эндрю, Мадерна Андреас, Джалаи
Мехран, Гадживала Кетан С. (US)

(33) US

(86) PCT/IB2019/052009

(87) WO 2019/175776 2019.09.19

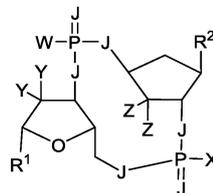
(71) Заявитель:

ПФАЙЗЕР ИНК. (US)

(74) Представитель:

Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Предложены соединения общей формулы (I)



(I)

или их фармацевтически приемлемая соль, способы получения этих соединений, композиции, содержащие эти соединения, и применение этих соединений.

A1

202091913

202091913

A1

МОДУЛЯТОРЫ STING (СТИМУЛЯТОРА ГЕНОВ ИНТЕРФЕРОНА) НА ОСНОВЕ ЦИКЛОПЕНТАНА

Область изобретения

Это изобретение относится к новым активаторам STING (стимулятора генов интерферона) на основе циклопентана, полезным в лечении аномального роста клеток, такого как рак, у млекопитающих. Это изобретение также относится к способу применения таких соединений в лечении аномального роста клеток у млекопитающих, особенно у людей, и к фармацевтическим композициям в качестве противоопухолевых агентов.

Предшествующий уровень техники

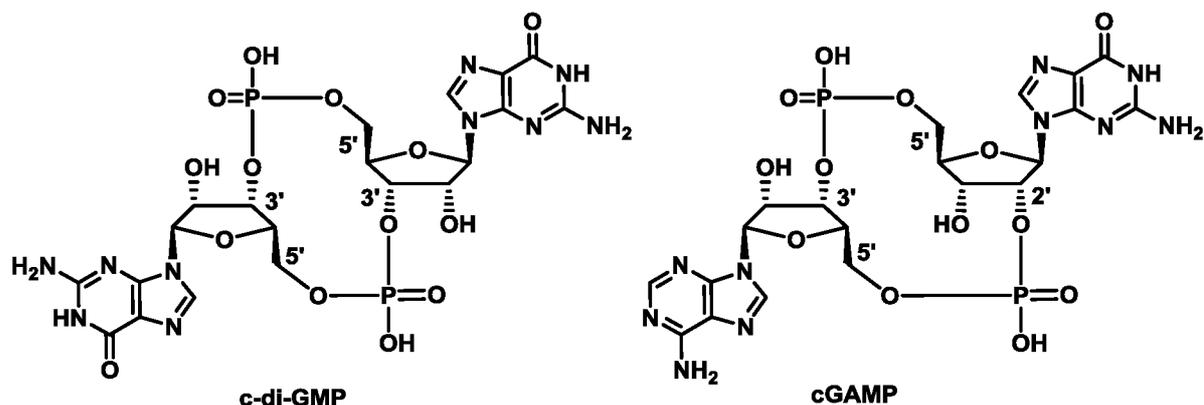
Врожденная иммунная система является первой линией защиты, которая инициируется рецепторами опознавания паттерна (PRR) при обнаружении лигандов патогенов, а также молекулярных паттернов, ассоциированных с повреждением. Идентифицируют все большее количество этих рецепторов, которые в настоящее время включают сенсоры двухцепочечной ДНК и уникальных нуклеиновых кислот, называемых циклическими динуклеотидами (CDN). Активация PRR приводит к усилению экспрессии генов, вовлеченных в воспалительный ответ, включая интерфероны 1 типа (IFN), провоспалительные цитокины и хемокины, которые супрессируют репликацию патогенов и поддерживают адаптивный иммунитет.

Адаптерный белок STING, также известный как TMEM 173, был идентифицирован как центральная сигнальная молекула в пути запуска врожденного иммунитета в ответ на цитозольные нуклеиновые кислоты. Активация STING влечет за собой положительную регуляцию сигнальных путей IRF3 (регуляторного фактора интерферона 3) и NFκB (ядерного фактора κB), что приводит к индукции INF-β (интерферона-β) и других цитокинов. STING имеет решающее значение для ответов на цитозольную ДНК патогенов или хозяина, а также в ответе на CDN, которые иногда называют вторичными мессенджерами (G.N. Barber, "Sting: infection, inflammation and cancer," *Nat. Rev. Immun.*, 2015, 15, pp760).

CDN были впервые идентифицированы как бактериальные мессенджеры, ответственные за регуляцию целого ряда ответов в прокариотических клетках. Бактериальные CDN, такие как c-di-GMP (циклический димерный гуанозинмонофосфат), представляют собой симметричные молекулы, характеризующиеся двумя 3',5'-

фосфодиэфирными связями. Прямая активация STING бактериальными CDN была недавно подтверждена посредством рентгеновской кристаллографии. Поэтому, бактериальные CDN вызывают интерес в качестве потенциальных адъювантов вакцин.

Совсем недавно было показано, что ответ на цитозольную ДНК включает образование эндогенных CDN с помощью фермента, называемого циклической гуанин-аденин-синтазой (сGAS), производящего новую сигнальную CDN-молекулу млекопитающих, идентифицированную как циклический гуанин-аденинмонофосфат (сGAMP), которая связывается со STING и активирует его. Взаимодействие сGAMP со STING также было продемонстрировано с помощью рентгеновской кристаллографии. В отличие от бактериальных CDN, сGAMP представляет собой несимметричную молекулу, характеризующуюся смешанными 2',5'- и 3',5'-фосфодиэфирными связями. Подобно бактериальным CDN, сGAMP активирует STING, что приводит к индукции INF 1 типа:



Роль INF 1 типа в реакции на проникновение патогенов точно установлена. Рекомбинантный IFN α был первым одобренным биологическим терапевтическим средством и стал важным средством лечения вирусных инфекций и рака. Известно также, что INF являются мощными модуляторами иммунного ответа, действующими на клетки иммунной системы.

С учетом его роли в регулировании различных биологических процессов, STING является привлекательной мишенью для модуляции с помощью малых молекул. Тем не менее, на сегодняшний день разработаны или внедрены в клинику лишь несколько эффективных активаторов STING.

Краткое изложение сущности изобретения

Введение низкомолекулярного соединения, которое может стимулировать врожденный иммунный ответ, включая активацию INF 1 типа и других цитокинов, может

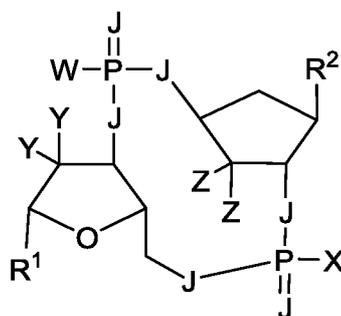
стать важной стратегией лечения и предупреждения заболеваний человека, включая вирусные инфекции и рак. Такой тип иммуномодулирующей стратегии перспективен для обнаружения соединений, которые могут быть полезны не только при инфекционных заболеваниях, но также при раке, аллергических заболеваниях и в качестве адъювантов вакцин.

Было показано, что некоторые соединения по изобретению связываются с STING и индуцируют INF 1 типа и другие цитокины и костимулирующие факторы при инкубации с дендритными клетками (DC) человека и мононуклеоцитами периферической крови (PBMC). Соединения, которые индуцируют человеческие INF, могут быть полезны в лечении различных расстройств, например, в лечении аллергических заболеваний и других воспалительных состояний. Некоторые соединения по изобретению могут связываться с STING, но действовать как антагонисты, и они могут быть полезны в лечении различных аутоиммунных заболеваний.

Предполагается, что направленное воздействие на STING с помощью активирующих или ингибирующих агентов может быть многообещающим подходом для лечения заболеваний и состояний, при которых модуляция пути INF 1 типа является полезной, включая воспалительные заболевания, аллергические и аутоиммунные заболевания, инфекционные заболевания, рак, а также в качестве адъювантов вакцин.

Каждое из воплощений не-CDN соединений по настоящему изобретению, описанных ниже, может быть объединено с любым другим воплощением соединений по настоящему изобретению, описанных здесь, не противоречащим воплощению, с которым оно объединено. Кроме того, каждое из воплощений, приведенных ниже, описывающих изобретение, предусматривает в пределах своего объема фармацевтически приемлемые соли соединений по изобретению. Соответственно, фраза «или его фармацевтически приемлемая соль» подразумевается в описании всех описанных здесь соединений.

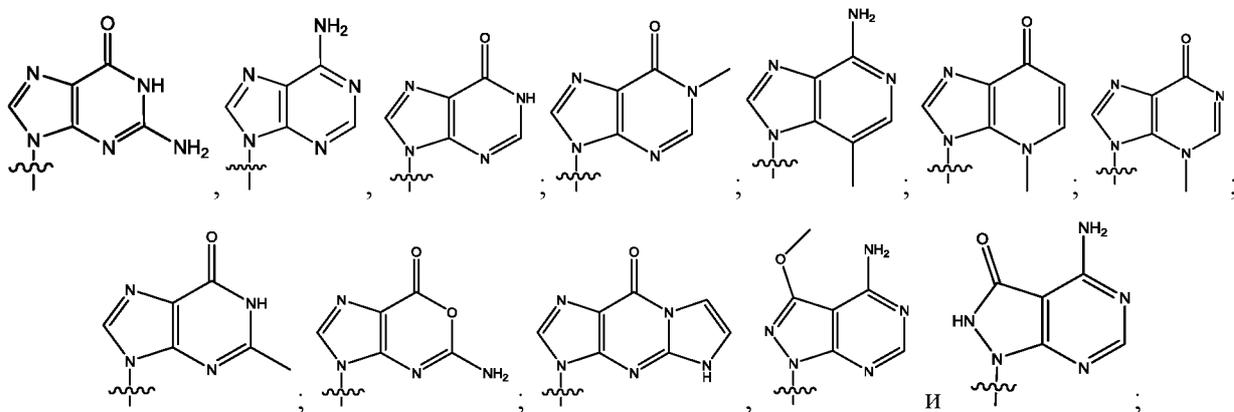
Изобретение включает воплощения, в которых предложено соединение формулы (I):



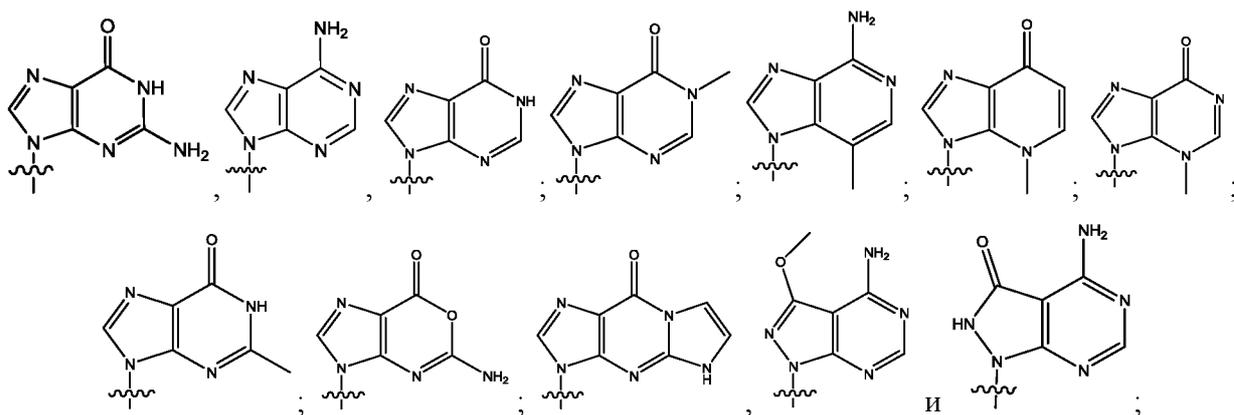
(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, где
каждый J независимо представляет собой кислород (O) или серу (S);

R¹ выбран из:



R² выбран из:



W представляет собой OH, SH, O⁻M⁺ или S⁻M⁺, где M⁺ представляет собой катионный противоион;

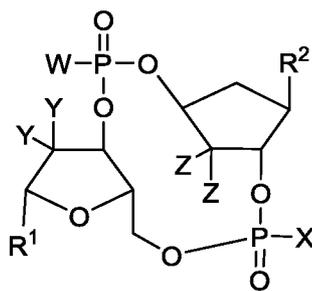
X представляет собой OH, SH, O⁻M⁺ или S⁻M⁺, где M⁺ представляет собой катионный противоион;

каждый Y независимо выбран из водорода, галогена, C₁-C₆алкила, замещенного C₁-C₆алкила, N(R³)₂ и OR⁴, или два Y заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом;

каждый Z независимо выбран из водорода, галогена, C₁-C₆алкила, замещенного C₁-C₆алкила, N(R³)₂ и OR⁴, или два Z заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом; и

R³ и R⁴ каждый независимо представляет собой водород или C₁-C₆алкил.

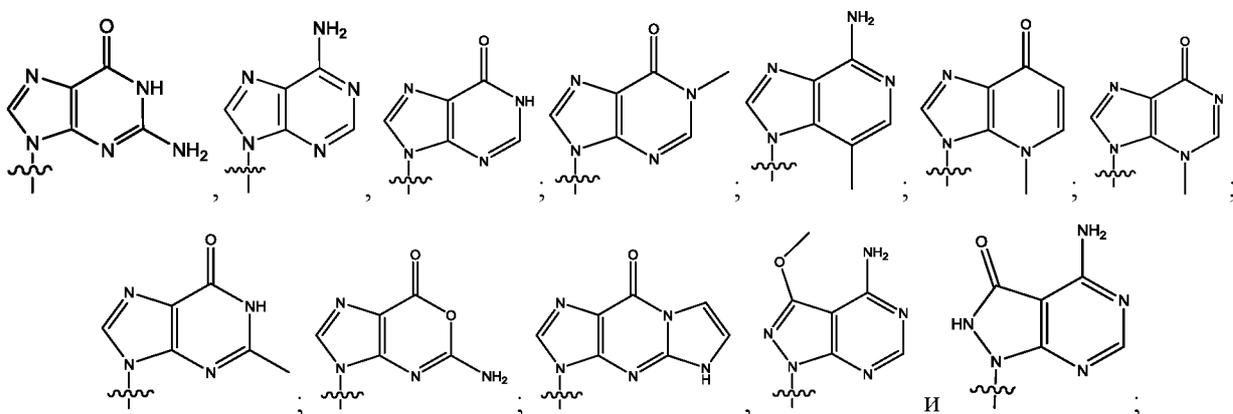
Изобретение также включает воплощения, в которых предложено соединение формулы (II) (которое является разновидностью формулы (I)):



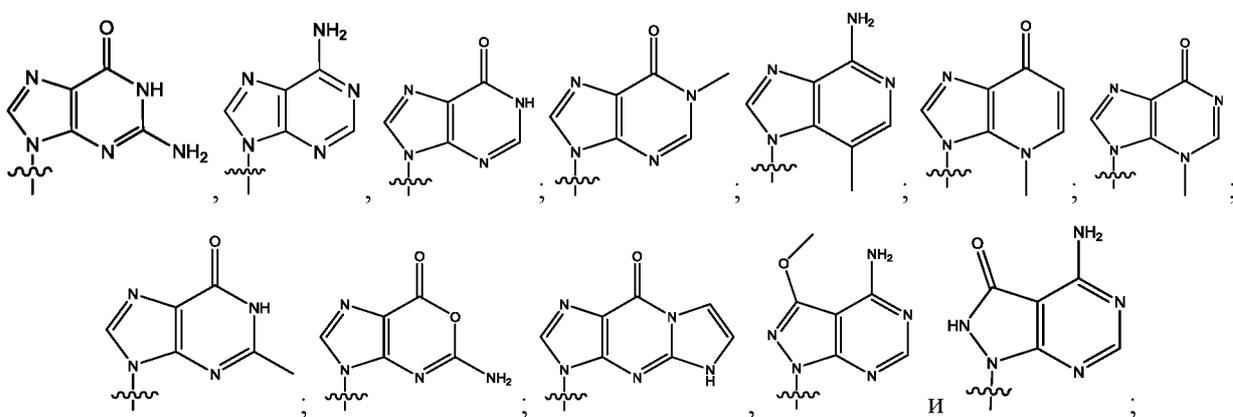
(II)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R^1 выбран из:



R^2 выбран из:



W представляет собой OH, SH, O^+M^+ или S^+M^+ , где M^+ представляет собой катионный противоион;

X представляет собой OH, SH, O^+M^+ или S^+M^+ , где M^+ представляет собой катионный противоион;

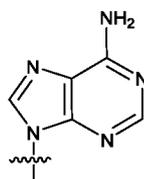
каждый Y независимо выбран из водорода, галогена, C_1 - C_6 алкила, замещенного C_1 - C_6 алкила, $N(R^3)_2$ и OR^4 , или два Y заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом;

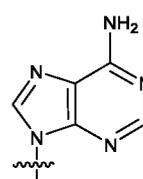
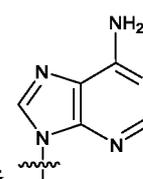
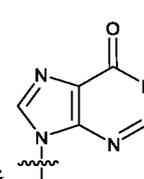
каждый Z независимо выбран из водорода, галогена, C_1 - C_6 алкила, замещенного C_1 - C_6 алкила, $N(R^3)_2$ и OR^4 , или два Z заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом; и

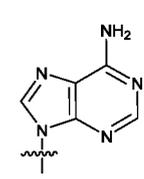
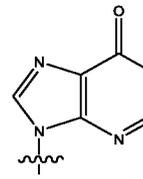
R^3 и R^4 каждый независимо представляет собой водород или C_1 - C_6 алкил.

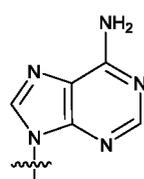
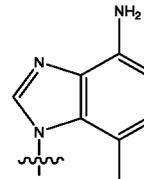
Другие воплощения изобретения включают соединения формулы (I) и/или формулы (II), где M^+ выбран из группы, состоящей из натрия, калия, кальция, аммония, триэтиламмония, триметиламмония и магния. Другие противоионы также применимы и включены в объем изобретения. Следует обратить внимание, что каждый противоион M^+ может быть одним и тем же или в некоторых воплощениях может отличаться от другого.

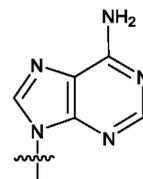
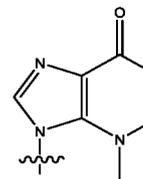
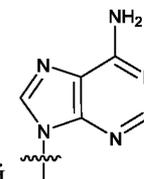
Различные комбинации оснований R^1 и R^2 включены в данное изобретение. Таким

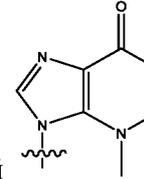
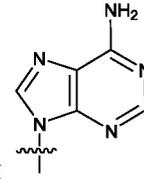
образом, в некоторых воплощениях R^1 представляет собой , и R^2 представляет собой

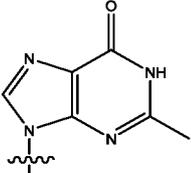
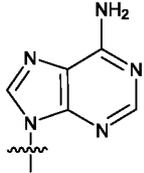
 ; R^1 представляет собой , и R^2 представляет собой  ;

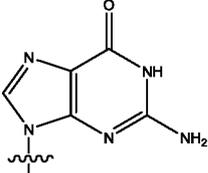
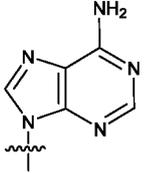
где R^1 представляет собой , и R^2 представляет собой  ; R^1

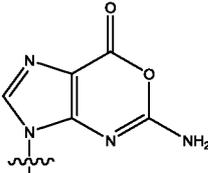
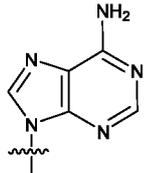
представляет собой , и R^2 представляет собой  ; R^1 представляет

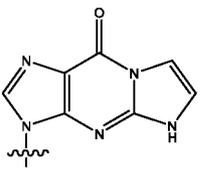
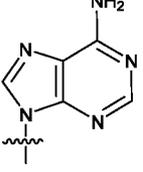
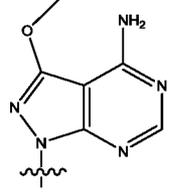
собой , и R^2 представляет собой  ; R^1 представляет собой ,

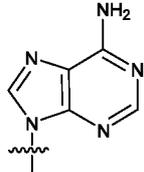
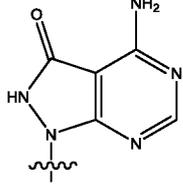
и R^2 представляет собой  ; R^1 представляет собой , и R^2 представляет

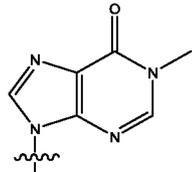
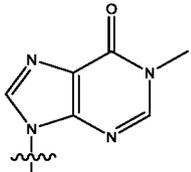
с собой  ; R¹ представляет собой , и R² представляет собой

 ; R¹ представляет собой , и R² представляет собой

 ; R¹ представляет собой , и R² представляет собой

 ; R¹ представляет собой , и R² представляет собой  ;

R¹ представляет собой , и R² представляет собой  ; или R¹

представляет собой , и R² представляет собой .

Другие основания (R¹ и R²) и другие комбинации оснований также включены в настоящее изобретение.

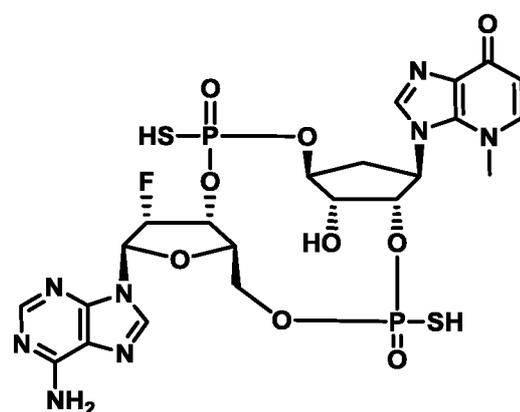
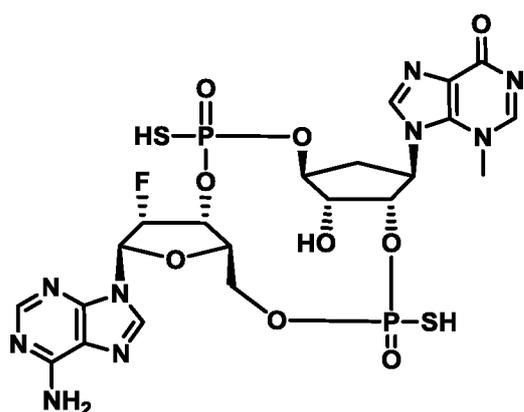
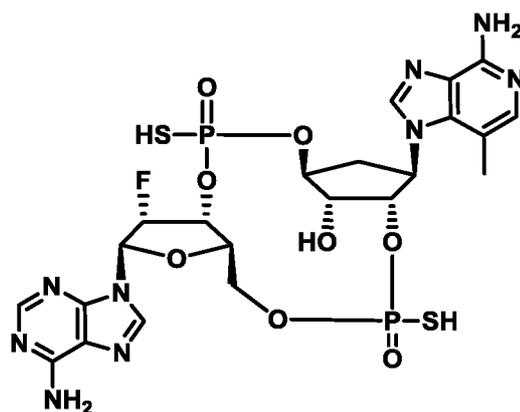
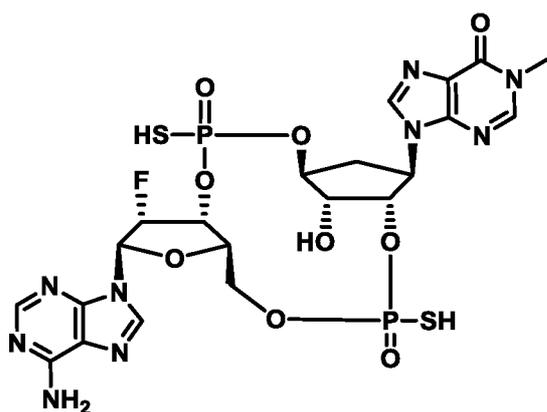
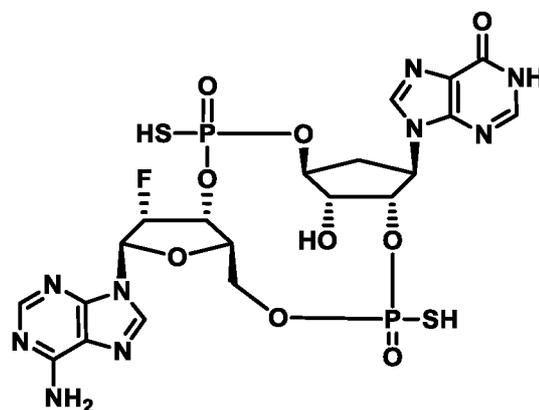
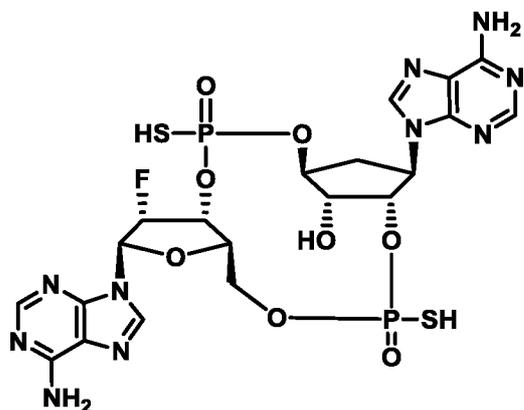
Дополнительные воплощения изобретения включают те, в которых один или оба Y являются галогеном. Это включает воплощения, в которых один Y представляет собой водород, а другой Y представляет собой галоген. В некоторых из этих воплощений галоген(ы) представляет(ют) собой фтор.

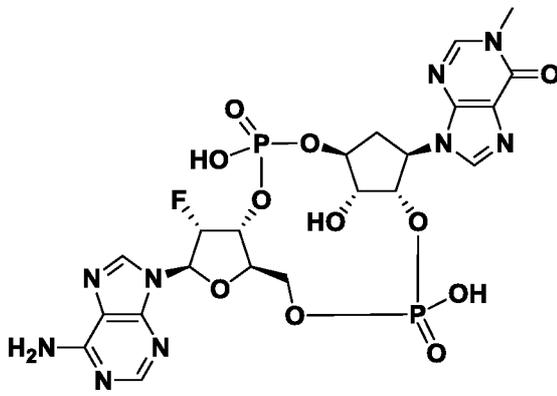
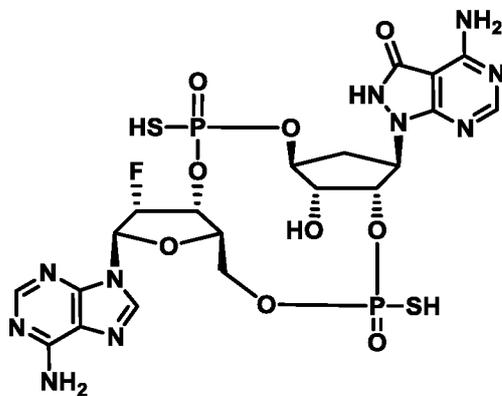
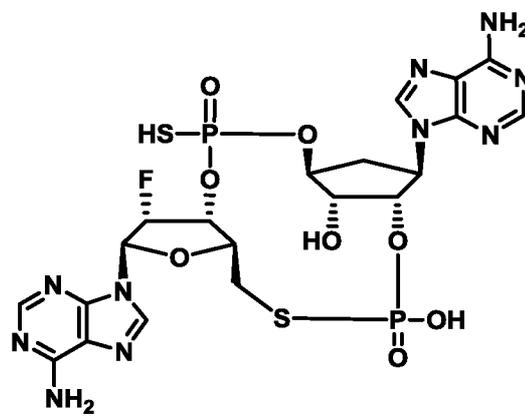
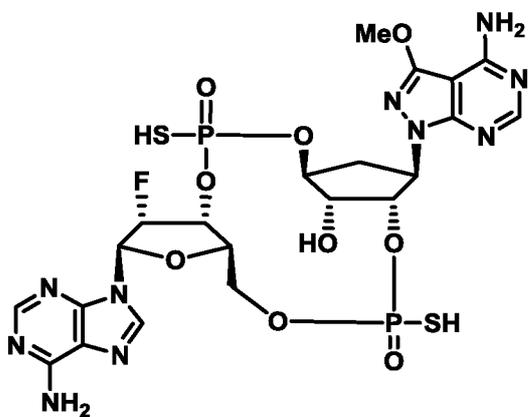
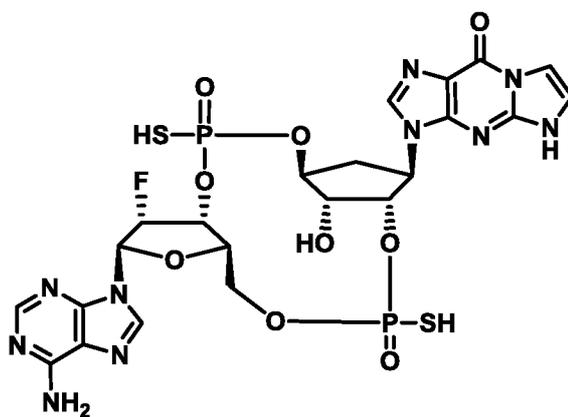
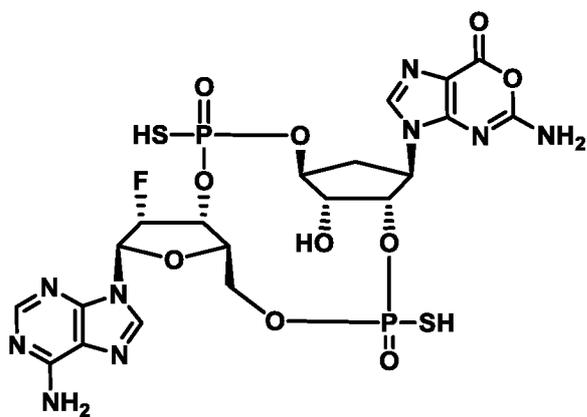
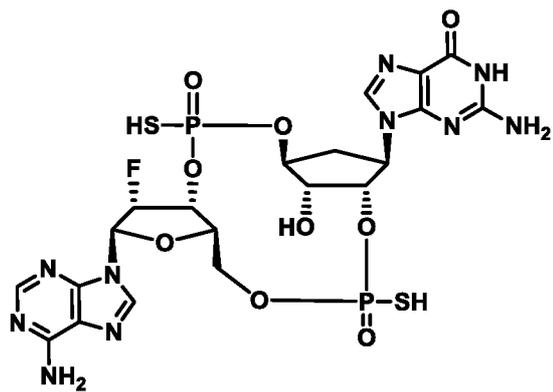
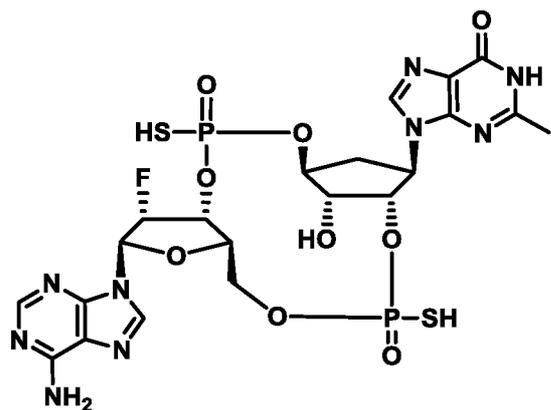
Дополнительные воплощения изобретения включают те, в которых один Z представляет собой водород, а другой Z представляет собой OR⁴. В некоторых из этих воплощений один или более чем один R⁴ представляет собой H (водород) и, таким образом, по меньшей мере один Z представляет собой OH.

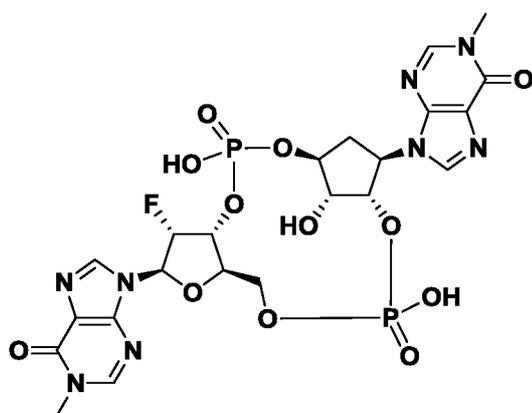
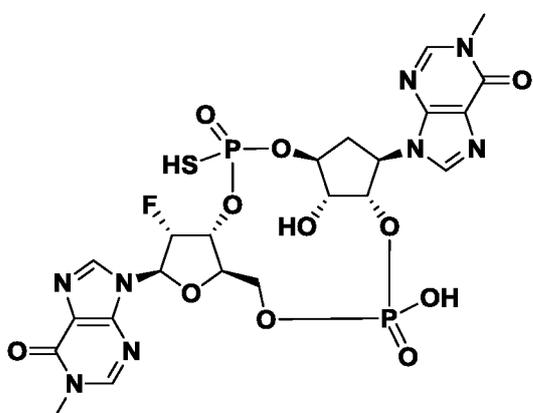
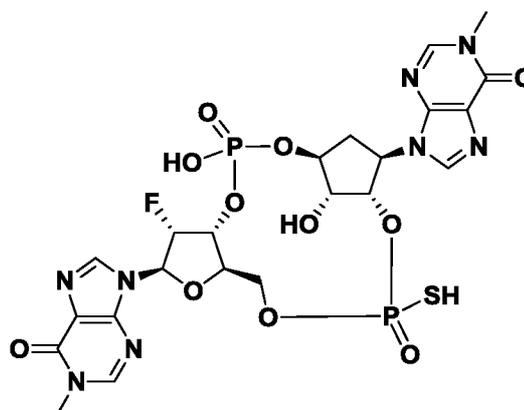
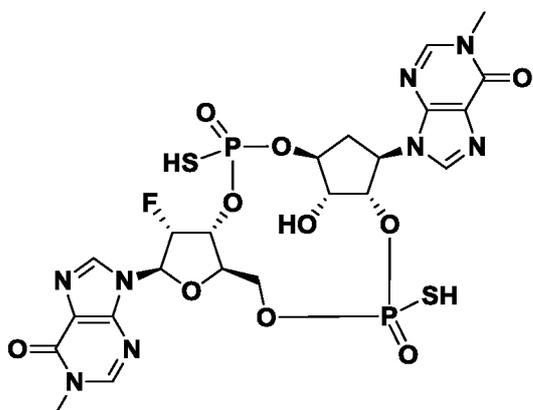
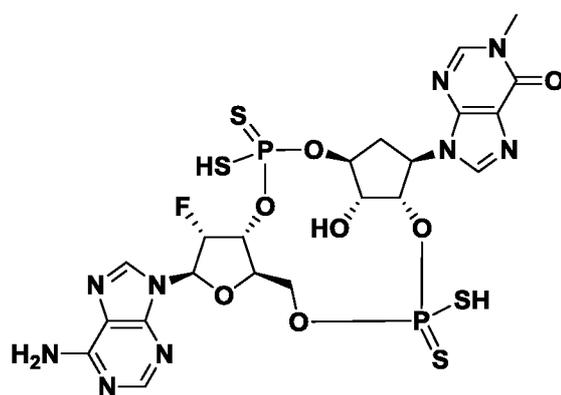
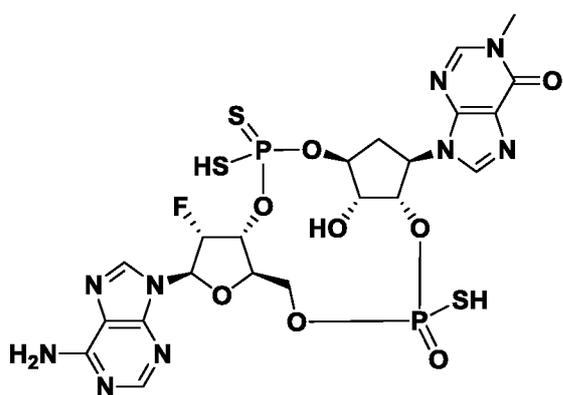
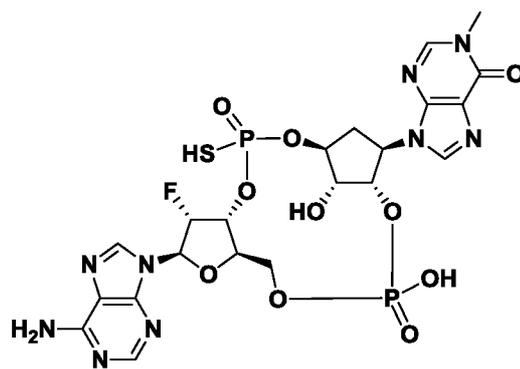
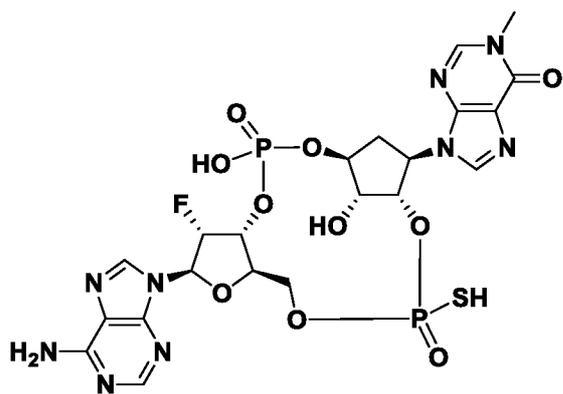
Дополнительные воплощения изобретения включают те, в которых W представляет собой -SH, а X представляет собой -SH.

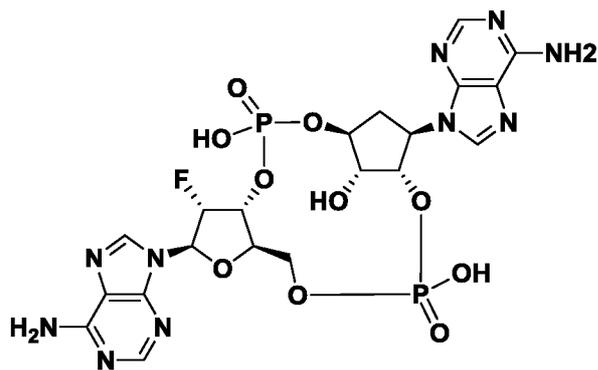
Дополнительные воплощения изобретения включают те, в которых W представляет собой -OH, и X представляет собой -OH.

Дополнительные воплощения изобретения включают соединение, выбранное из:



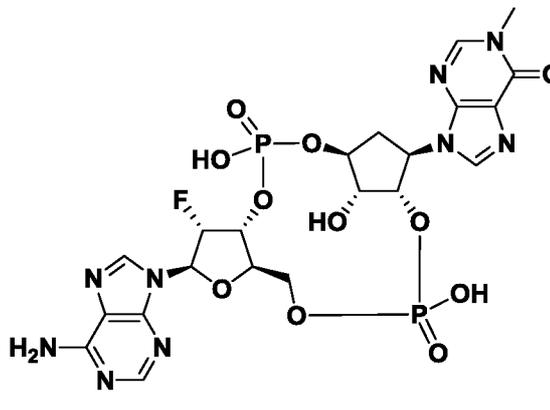
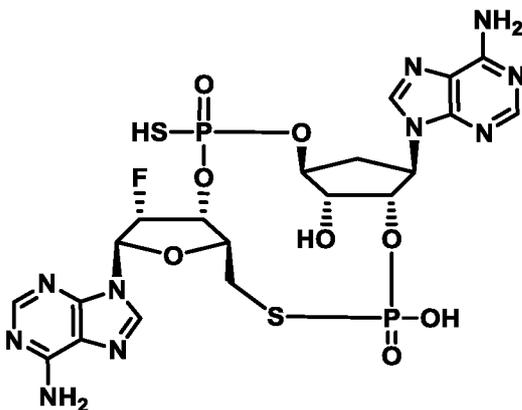
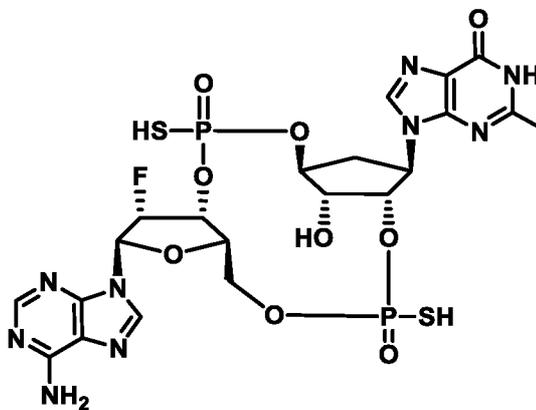
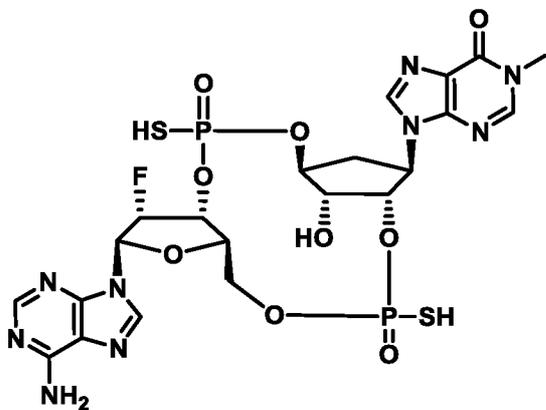
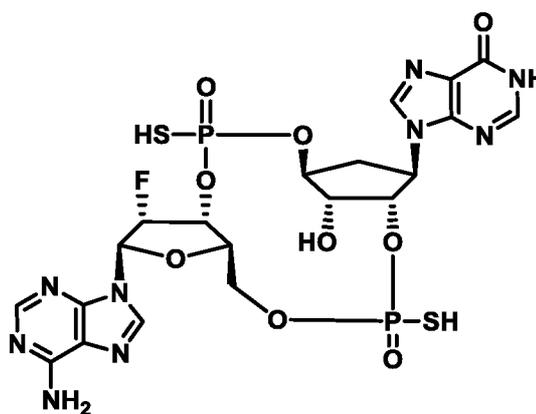
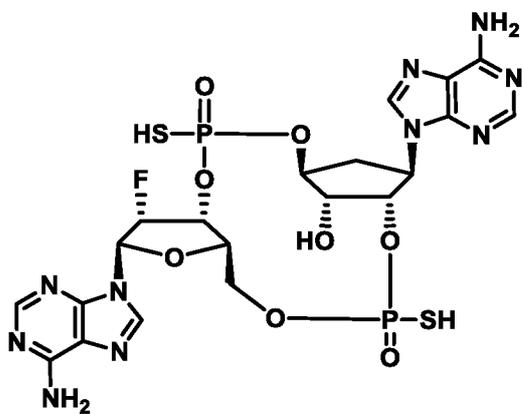


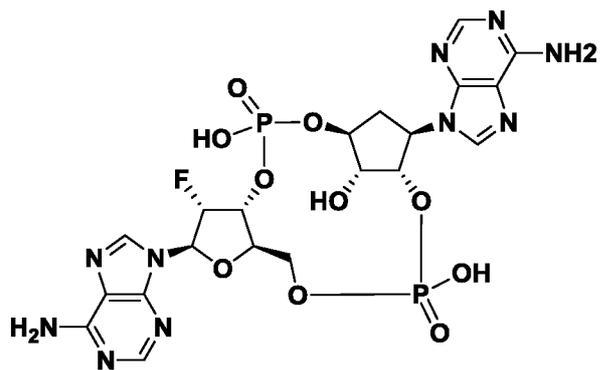




или его фармацевтически приемлемую соль.

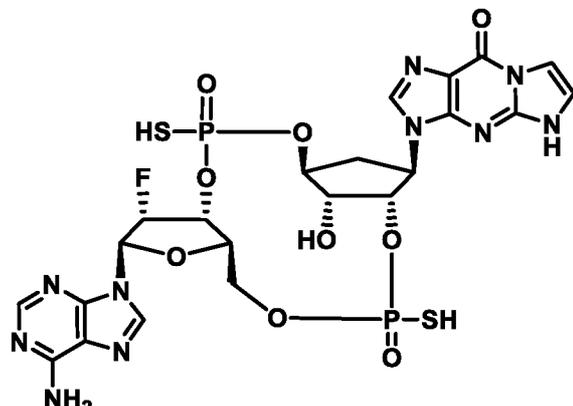
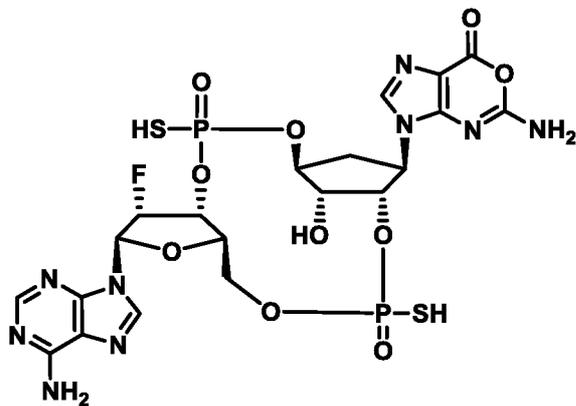
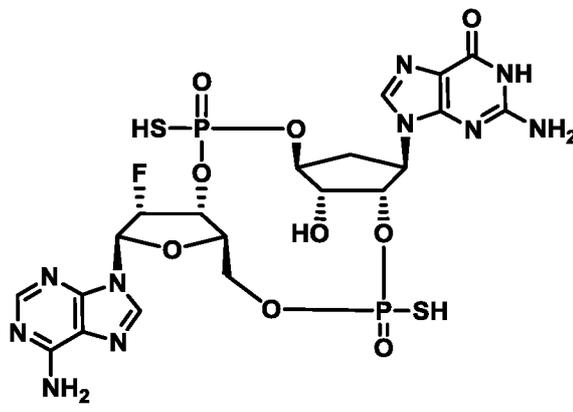
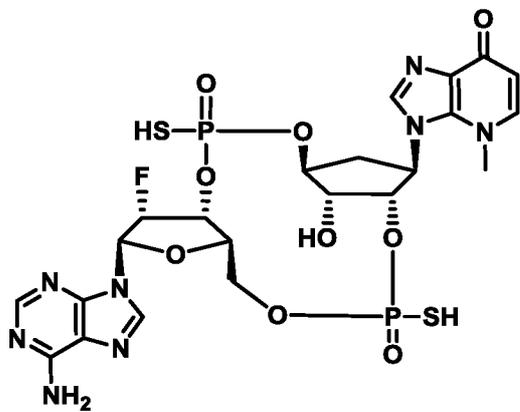
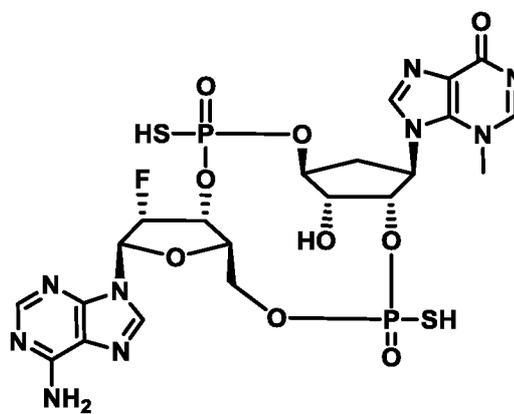
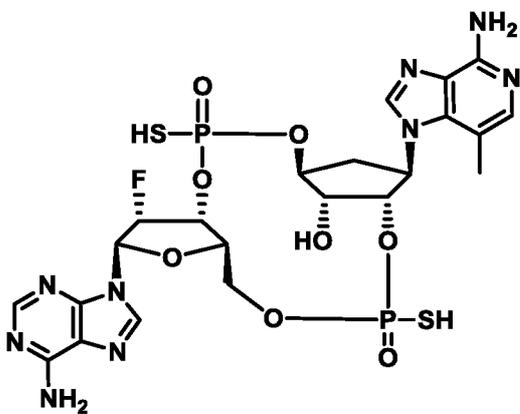
Дополнительные воплощения изобретения включают соединение, выбранное из:

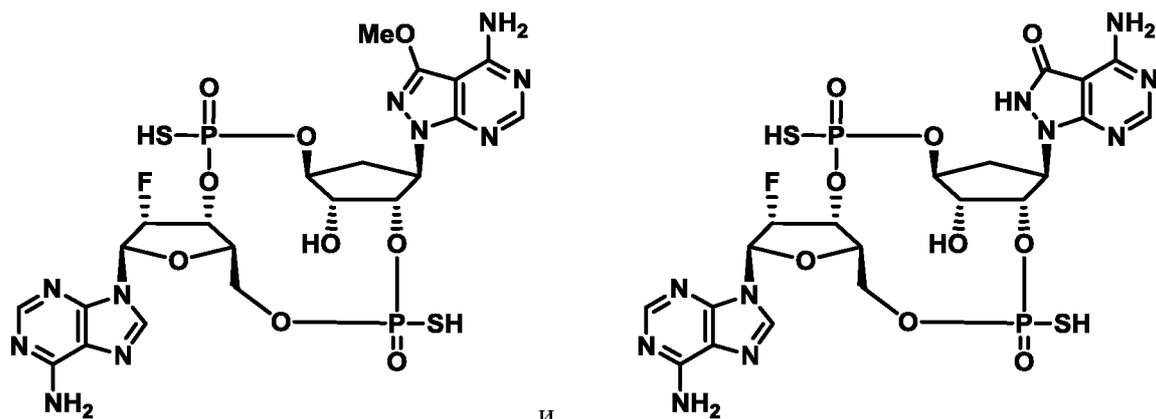




или его фармацевтически приемлемую соль.

Дополнительные воплощения изобретения включают соединение, выбранное из:





или его фармацевтически приемлемую соль.

Дополнительные воплощения изобретения включают фармацевтическую композицию, содержащую соединение или соль, как описано здесь, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель. Возможно, такие композиции могут содержать соединение или соль, как описано здесь, которое представляет собой компонент конъюгата антитело-лекарственное средство; и/или могут содержать соединение, как описано здесь, которое представляет собой компонент системы доставки на основе частиц.

Также в изобретение включен способ лечения аномального роста клеток у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения или соли, как описано здесь. В этом способе может быть (или может не быть) использовано соединение или соль, как описано здесь, в качестве компонента конъюгата антитело-лекарственное средство или в качестве компонента системы доставки на основе частиц. В таких воплощениях аномальный рост клеток может представлять собой рак. Если аномальный рост клеток представляет собой рак, то рак, подлежащий лечению, может представлять собой рак легких, рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, меланому кожи или внутриглазную меланому, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак матки, рак фаллопиевых труб, карциному эндометрия, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, болезнь Ходжкина, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак парашитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, рак предстательной железы, хронический или острый лейкоз, лимфоцитарные лимфомы, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, почечно-клеточную карциному, рак почечной лоханки, новообразования

центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухоли позвоночника, глиому ствола головного мозга или аденому гипофиза.

Также в изобретение включено применение соединения или соли, как описано здесь, для изготовления лекарственного средства, полезного для лечения аномального роста клеток у млекопитающего. В таких воплощениях аномальный рост клеток может представлять собой рак. Если аномальный рост клеток представляет собой рак, то рак, подлежащий лечению, может представлять собой рак легких, рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, меланому кожи или внутриглазную меланому, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак матки, рак фаллопиевых труб, карциному эндометрия, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, болезнь Ходжкина, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, рак предстательной железы, хронический или острый лейкоз, лимфоцитарные лимфомы, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, почечно-клеточную карциному, рак почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухоли позвоночника, глиому ствола головного мозга или аденому гипофиза.

Кроме того, воплощения изобретения включают те, в которых предложен способ повышения активности STING у млекопитающего, включающий стадию введения указанному млекопитающему эффективного количества соединения или соли, как описано здесь; и/или способ повышения уровней интерферона-бета у млекопитающего, включающий стадию введения указанному млекопитающему эффективного количества соединения или соли, как описано здесь.

Определения

Если не оговорено особо, следующие термины, используемые в описании и формуле изобретения, имеют значения, рассматриваемые ниже. Переменные величины, определенные в этом разделе, такие как R, X, n и тому подобные, приведены только в качестве ссылки в этом разделе и не предназначены иметь то же значение, когда могут быть использованы за пределами этого раздела определений. Кроме того, многие из определенных здесь групп могут быть возможно замещены. Перечень типичных заместителей в этом разделе определений является иллюстративным и не предназначен для ограничения заместителей, определенных в этом описании и формуле изобретения.

«Алкенил» относится к алкильной группе, как определено здесь, состоящей по меньшей мере из двух атомов углерода и по меньшей мере одной двойной углерод-углеродной связи. Типичные примеры включают этенил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-, 2- или 3-бутенил и тому подобное, но не ограничиваются ими. «Алкенилен» относится к двухвалентной форме алкенила.

«Алкокси» относится к -О-алкилу, где алкил предпочтительно представляет собой C_1-C_8 , C_1-C_7 , C_1-C_6 , C_1-C_5 , C_1-C_4 , C_1-C_3 , C_1-C_2 или C_1 алкил.

«Алкил» относится к насыщенному алифатическому углеводородному радикалу, включающему группы с прямой и разветвленной цепью из 1-20 атомов углерода (« (C_1-C_{20}) алкил»), предпочтительно 1-12 атомов углерода (« (C_1-C_{12}) алкил»), более предпочтительно 1-8 атомов углерода (« (C_1-C_8) алкил»), или 1-6 атомов углерода (« (C_1-C_6) алкил»), или 1-4 атомов углерода (« (C_1-C_4) алкил»). Примеры алкильных групп включают метил, этил, пропил, 2-пропил, *n*-бутил, изобутил, *трет*-бутил, пентил, неопентил и тому подобное. Алкил может быть замещенным или незамещенным. Типичные группы заместителей включают циклоалкил, арил, гетероарил, гетероалициклическую группу, гидроксигруппу, алкокси, арилокси, меркапто, алкилтио, арилтио, циано, галоген, карбонил, тиокарбонил, О-карбамил, N-карбамил, О-тиокарбамил, N-тиокарбамил, С-амидо, N-амидо, С-карбоксо, О-карбоксо, нитро, силил, амино и $-NR^xR^y$, где R^x и R^y представляют собой, например, водород, алкил, циклоалкил, арил, карбонил, ацетил, сульфонил, трифторметансульфонил и, взятые вместе, пяти- или шестичленное гетероалициклическое кольцо. «Галогеналкил», например (C_1-C_8) галогеналкил, относится к алкилу, имеющему один или более чем один галогеновый заместитель. «Алкилен» относится к двухвалентной форме алкила.

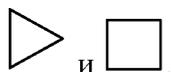
«Алкинил» относится к алкильной группе, как определено здесь, состоящей по меньшей мере из двух атомов углерода и по меньшей мере одной тройной углерод-углеродной связи. Типичные примеры включают этинил, 1-пропинил, 2-пропинил, 1-, 2- или 3-бутинил и тому подобное, но не ограничиваются ими. «Алкинилен» относится к двухвалентной форме алкинила.

«Амино» относится к группе $-NR^xR^y$, где R^x и R^y оба представляют собой водород.

«Циано» относится к группе $-C\equiv N$. Циано может быть выражен в виде CN.

« (C_3-C_5) циклоалкил» относится к моноциклическому кольцу, состоящему из 3-5 атомов углерода. Примерами циклоалкильных групп, без ограничения, являются циклопропан, циклобутан, циклопентан и циклопентен. Типичные группы заместителей включают алкил, алкокси, циано, галоген, карбонил, С-карбоксо, О-карбоксо, О-карбамил,

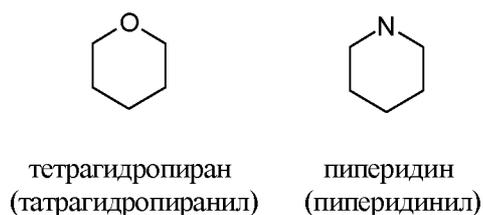
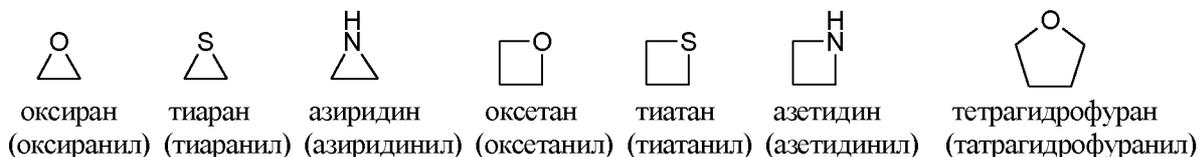
N-карбамил, amino и $-NR^xR^y$ с такими R^x и R^y , как они определены выше. Иллюстративные примеры циклоалкила являются производными следующих структур, но не ограничиваются ими:



«Галоген» или префикс «галогено» относится к фтору, хлору, бром и йоду. Предпочтительно галоген относится к фтору или хлору.

«Гетероатом» относится к атому, выбранному из группы, состоящей из O, N, Si, S и/или P, и где атомы азота и серы могут быть возможно окислены.

«Гетероциклил» относится к моноциклической или конденсированной кольцевой системе, имеющей от 3 до 12 кольцевых атомов, содержащей один, два, три или четыре кольцевых гетероатома, выбранных из N, O и $S(O)_n$ (где n равно 0, 1 или 2), и 1-9 атомов углерода. Кольца также могут иметь одну или более чем одну двойную связь. Однако кольца не имеют полностью сопряженной π -электронной системы. Предпочтительные гетероциклы включают (C_2-C_6) гетероциклы в соответствии с приведенным выше определением. Примеры подходящих насыщенных гетероалициклических групп включают, но не ограничиваются:



Гетероциклильная группа возможно замещена одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, низшего алкила.

«Гидрокси» или «гидроксил» относится к группе $-OH$.

«*In vitro*» относится к процедурам, проводимым в искусственной окружающей среде, в такой как, например, пробирка или культуральная среда, без ограничения.

«*In vivo*» относится к процедурам, проводимым в живом организме, таком как мышь, крыса, кролик и/или человек, без ограничения.

«Возможный» или «возможно» означает, что описываемые далее случай или обстоятельство могут, но не обязательно, произойти, и что описание включает случаи,

когда событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда это не происходит. Например, «гетероциклическая группа, возможно замещенная алкильной группой» означает, что алкил может присутствовать, но не обязательно, и описание включает ситуации, когда гетероциклическая группа замещена алкильной группой, и ситуации, когда гетероциклическая группа не замещена алкильной группой.

«Организм» относится к любому живому существу, состоящему по меньшей мере из одной клетки. Живой организм может быть простым, таким как, например, одиночная эукариотическая клетка, или сложным, таким как млекопитающее, включая человека.

«Фармацевтически приемлемый эксципиент» относится к инертному веществу, добавляемому в фармацевтическую композицию для дальнейшего облегчения введения соединения. Примеры эксципиентов включают, без ограничения, карбонат кальция, фосфат кальция, различные сахара и виды крахмала, производные целлюлозы, желатин, растительные масла и полиэтиленгликоли.

Используемый здесь термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к тем солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства исходного соединения. Такие соли включают:

(I) соли присоединения кислот, которые могут быть получены посредством взаимодействия свободного основания исходного соединения с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, азотная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота и тому подобными, или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, D- или L-яблочная кислота, малеиновая кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, *пара*-толуолсульфоновая кислота, салициловая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота и тому подобными; или

(II) соли, образуемые, когда протон кислоты, присутствующий в исходном соединении, либо замещен ионом металла, например ионом щелочного металла, ионом щелочноземельного металла или ионом алюминия; либо координирован с органическим основанием, таким как этаноламин, диэтанолламин, триэтанолламин, трометамин, N-метилглюкамин, триалкиламмоний и тому подобным.

«Фармацевтическая композиция» относится к смеси одного или более чем одного соединения, описанного здесь, или его физиологически/фармацевтически приемлемых солей, сольватов, гидратов или пролекарств с другими химическими компонентами, такими как физиологически/фармацевтически приемлемые носители и эксципиенты.

Назначение фармацевтической композиции состоит в том, чтобы облегчить введение соединения в организм.

Используемый здесь термин «физиологически/фармацевтически приемлемый носитель» относится к носителю или разбавителю, который не вызывает значительного раздражения организма и не подавляет биологическую активность и свойства введенного соединения.

«Терапевтически эффективное количество» относится к такому количеству вводимого соединения, которое облегчит до некоторой степени один или более чем один симптом расстройства, которое лечат. Применительно к лечению рака терапевтически эффективное количество относится к такому количеству, которое оказывает по меньшей мере один из следующих эффектов:

- 1) уменьшение размера опухоли;
- 2) подавление (то есть замедление до некоторой степени, предпочтительно остановка) метастазирования опухоли;
- 3) подавление до некоторой степени (то есть замедление до некоторой степени, предпочтительно остановка) роста опухоли, и
- 4) облегчение до некоторой степени (или, предпочтительно, устранение) одного или более чем одного симптома, ассоциированного с раком.

«Лечить», «лечение» и «излечение» относятся к способу облегчения или устранения клеточного нарушения и/или сопутствующих ему симптомов. Что касается, в частности, рака, эти термины просто означают, что ожидаемая продолжительность жизни человека, пораженного раком, будет увеличена или что один или более чем один симптом заболевания будет уменьшен.

Подробное описание изобретения

Общие схемы синтеза соединений по изобретению можно найти в данном описании в разделе «Примеры».

Если не оговорено особо, все ссылки в данном документе на соединения по изобретению включают ссылки на их соли, сольваты, гидраты и комплексы, а также на сольваты, гидраты и комплексы их солей, включая их полиморфы, стереоизомеры и меченые изотопами варианты.

Фармацевтически приемлемые соли включают соли присоединения кислот и соли оснований (включая дисоли).

Подходящие соли присоединения кислот образованы из кислот, которые образуют нетоксичные соли. Примеры включают ацетат, аспарат, бензоат, безилат,

бикарбонат/карбонат, бисульфат/сульфат, борат, камсилат, цитрат, эдисилат, эзилат, формиат, фумарат, глюцептат, глюконат, глюкуронат, гексафторфосфат, хибензат, гидрохлорид/хлорид, гидробромид/бромид, гидройодид/йодид, изетионат, лактат, малат, малеат, малонат, мезилат, метилсульфат, нафтилат, 2-напсилат, никотинат, нитрат, оротат, оксалат, пальмитат, памоат, фосфат/гидрофосфат/дигидрофосфат, сахарат, стеарат, сукцинат, тартрат, тозилат и трифторацетат.

Подходящие соли оснований образованы из оснований, которые образуют нетоксичные соли. Примеры включают соли алюминия, аргинина, бензатина, кальция, холина, диэтиламина, диоламина, глицина, лизина, магния, меглумина, оламина, калия, натрия, трометамина и цинка. Для обзора подходящих солей см. "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002), описание которого включено здесь посредством ссылки во всей своей полноте.

Фармацевтически приемлемая соль соединений по изобретению может быть легко получена посредством смешивания растворов соединения и требуемой кислоты или основания, как целесообразно. Соль может выпадать в осадок из раствора и может быть собрана посредством фильтрации или может быть выделена посредством выпаривания растворителя. Степень ионизации соли может варьировать от полностью ионизированной до почти неионизированной.

Соединения по изобретению могут существовать как в несольватированной, так и в сольватированной формах. Термин «сольват» используют здесь для описания молекулярного комплекса, содержащего соединение по изобретению и одну или более чем одну молекулу фармацевтически приемлемого растворителя, например этанола. Термин «гидрат» используют, когда растворителем является вода. Фармацевтически приемлемые сольваты в соответствии с изобретением включают гидраты и сольваты, в которых растворитель для кристаллизации может быть изотопно замещенным, например D₂O, d₆-ацетон, d₆-DMSO (диметилсульфоксид).

Также в объем изобретения включены комплексы, такие как клатраты, комплексы включения типа «лекарственное средство-хозяин», в которых в отличие от вышеупомянутых сольватов лекарственное средство и хозяин присутствуют в стехиометрических или нестехиометрических количествах. Также включены комплексы лекарственного средства, содержащие два или более органических и/или неорганических компонентов, которые могут находиться в стехиометрических или нестехиометрических количествах. Полученные комплексы могут быть ионизированными, частично

ионизированными или неионизированными. Для обзора таких комплексов см. *J Pharm Sci*, 64 (8), 1269-1288 by Haleblan (август 1975), описание которого включено здесь посредством ссылки во всей своей полноте.

Также в объем изобретения входят полиморфы, пролекарства и изомеры (включая оптические, геометрические и таутомерные изомеры) соединений по изобретению.

Производные соединений по изобретению, которые сами могут обладать небольшой фармакологической активностью или не иметь ее вовсе, но при введении пациенту могут превращаться в соединения по изобретению, например посредством гидролитического расщепления. Такие производные называют «пролекарствами». Дополнительную информацию о применении пролекарств можно найти в 'Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14, ACS Symposium Series (T Higuchi and W Stella) и 'Bioreversible Carriers in Drug Design', Pergamon Press, 1987 (ed. E B Roche, American Pharmaceutical Association), описания которых включены здесь посредством ссылки во всей их полноте.

Пролекарства в соответствии с изобретением могут быть получены, например, посредством замены соответствующих функциональных групп, присутствующих в соединениях по изобретению, на определенные группировки, известные специалистам в данной области техники как «прогруппировки», как описано, например, в "Design of Prodrugs" by H Bundgaard (Elsevier, 1985), описание которого включено здесь посредством ссылки во всей своей полноте.

Некоторые примеры пролекарств в соответствии с изобретением включают:

I) когда соединение содержит функциональную группу карбоновой кислоты - (COOH), его сложный эфир, например, замена водорода на (C₁-C₈)алкил;

II) когда соединение содержит функциональную группу спирта (-OH), его простой эфир, например, замена водорода на (C₁-C₆)алканоилоксиметил; и

III) когда соединение содержит первичную или вторичную аминогруппу (-NH₂ или -NHR, где R не является H), его амид, например, замена одного или обоих атомов водорода на (C₁-C₁₀)алканоил.

Дополнительные примеры замещающих групп в соответствии с приведенными выше примерами и примеры других типов пролекарств можно найти в вышеупомянутых ссылках.

Наконец, некоторые соединения по изобретению сами могут действовать в качестве пролекарств других соединений по изобретению.

Соединения по изобретению, содержащие один или более чем один асимметричный атом углерода и/или фосфора, могут существовать в виде двух или более стереоизомеров. Если соединения по настоящему изобретению имеют по крайней мере один хиральный центр, они могут соответственно существовать в виде энантиомеров. Если соединения обладают двумя или более хиральными центрами, они могут дополнительно существовать в виде диастереомеров. Аналогичным образом, если соединение по изобретению содержит циклопропильную группу или другую циклическую группу, где существует хиральность, и алкенильную или алкениленовую группу, возможны геометрические цис/транс (или Z/E) изомеры. Когда соединение содержит, например, кето- или оксимную группу или ароматическую группировку, может иметь место таутомерная изомерия («таутомерия»). Одно соединение может проявлять более одного типа изомерии.

В объем изобретения включены все стереоизомеры, геометрические изомеры и таутомерные формы соединений по изобретению, включая соединения, проявляющие более одного типа изомерии, и смеси одного или более чем одного из них. Также включены соли присоединения кислот или соли оснований, в которых противоион является оптически активным, например D-лактат или L-лизин, или рацемические, например DL-тарtrat или DL-аргинин.

Цис/транс-изомеры могут быть разделены посредством обычных методов, хорошо известных специалистам в данной области техники, например посредством хроматографии и фракционной кристаллизации.

Обычные методы получения/выделения отдельных энантиомеров включают хиральный синтез из подходящего оптически чистого предшественника или разделение рацемата (или рацемата соли или производного) с использованием, например, хиральной жидкостной хроматографии высокого давления (ЖХВД) или сверхкритической флюидной хроматографии (СФХ).

Альтернативно, рацемат (или рацемический предшественник) может быть подвергнут взаимодействию с подходящим оптически активным соединением, например спиртом, или в случае, когда соединение содержит кислотную или основную группировку, с кислотой или основанием, такими как винная кислота или 1-фенилэтиламин. Полученная диастереомерная смесь может быть разделена посредством хроматографии и/или фракционной кристаллизации, и один или оба диастереоизомера могут быть превращены в соответствующий(е) чистый(е) энантиомер(ы) способами, хорошо известными специалистам в данной области техники.

Стереизомерные конгломераты могут быть разделены традиционными методами, известными специалистам в данной области техники; см., например, «Stereochemistry of Organic Compounds» EL Eliel (Wiley, New York, 1994), описание которого включено здесь посредством ссылки во всей своей полноте.

Изобретение также включает меченые изотопами соединения по изобретению, в которых один или более чем один атом заменен атомом, имеющим такой же атомный номер, но атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе. Примеры изотопов, подходящих для включения в соединения по изобретению, включают изотопы водорода, такие как ^2H и ^3H , углерода, такие как ^{11}C , ^{13}C и ^{14}C , хлора, такие как ^{36}Cl , фтора, такие как ^{18}F , йода, такие как ^{123}I и ^{125}I , азота, такие как ^{13}N и ^{15}N , кислорода, такие как ^{15}O , ^{17}O и ^{18}O , фосфора, такие как ^{32}P , и серы, такие как ^{35}S . Некоторые меченые изотопами соединения по изобретению, например соединения, включающие радиоактивный изотоп, полезны в исследованиях по распределению лекарственного средства и/или субстрата в тканях. Радиоактивные изотопы тритий, ^3H , и углерод-14, ^{14}C , особенно полезны для этой цели ввиду легкости их включения и доступности готовых средств обнаружения. Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, ^2H , может давать некоторые терапевтические преимущества, обусловленные более высокой метаболической стабильностью, например увеличенным временем полувыведения *in vivo* или уменьшенными требованиями к дозировке, и, следовательно, в некоторых случаях может быть предпочтительным. Замещение позитрон-излучающими изотопами, такими как ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O и ^{13}N , может быть полезно в исследованиях методом позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ) для исследования занятости рецепторов субстратом.

Меченые изотопами соединения по изобретению, как правило, могут быть получены обычными методами, известными специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными описанным здесь, при использовании соответствующего меченого изотопами реагента вместо немеченого реагента, используемого в других случаях.

Фармацевтически приемлемые сольваты в соответствии с изобретением включают сольваты, в которых растворитель для кристаллизации может быть изотопно замещенным, например D_2O , d_6 -ацетон, d_6 -DMSO.

Соединения по изобретению, предназначенные для фармацевтического применения, могут быть введены в виде кристаллических или аморфных продуктов или их смесей. Они могут быть получены, например, в виде твердых спрессованных масс,

порошков или пленок посредством использования таких способов, как осаждение, кристаллизация, сублимационная сушка, сушка распылением или сушка выпариванием. Для этой цели может быть использована микроволновая или радиочастотная сушка.

Соединения могут быть введены отдельно или в комбинации с одним или более чем одним другим соединением по изобретению. Как правило, их будут вводить в виде композиции в сочетании с одним или более чем одним фармацевтически приемлемым эксципиентом. Термин «эксципиент» используется здесь для описания любого ингредиента, отличного от соединения(й) по изобретению. Выбор эксципиента в большой степени будет зависеть от таких факторов, как конкретный способ введения, влияние эксципиента на растворимость и стабильность и природа лекарственной формы.

Описанные здесь композиции могут быть введены хозяину либо отдельно, либо в комбинации с фармацевтически приемлемым эксципиентом в количестве, достаточном для индукции, модификации или стимуляции соответствующего иммунного ответа. Иммунный ответ может включать, без ограничения, специфический иммунный ответ, неспецифический иммунный ответ, как специфический, так и неспецифический ответ, врожденный ответ, первичный иммунный ответ, приобретенный иммунитет, вторичный иммунный ответ, иммунологическую память, активацию иммунных клеток, пролиферацию иммунных клеток, дифференцировку иммунных клеток и экспрессию цитокинов. В некоторых воплощениях композиции вводят вместе с одной или более чем одной дополнительной композицией, включая вакцины, предназначенные для стимуляции иммунного ответа на один или более чем один заранее определенный антиген; адьюванты; антагонисты сигнальных путей CTLA-4 (гликопротеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4) и PD-1 (белок программируемой клеточной смерти 1), липиды, липосомы, химиотерапевтические агенты, иммуномодулирующие клеточные линии и так далее.

В некоторых аспектах изобретения описанные здесь способы дополнительно включают стадию лечения субъекта дополнительной формой терапии. В некоторых аспектах дополнительная форма терапии представляет собой дополнительную противораковую терапию, включая химиотерапию, облучение, хирургическое вмешательство, гормональную терапию и/или дополнительную иммунотерапию, но не ограничиваясь ими.

Раскрытые соединения-модуляторы STING можно вводить в качестве стартового лечения или для лечения видов рака, которые невосприимчивы к традиционным видам терапии. Кроме того, раскрытые соединения-модуляторы STING могут быть использованы в комбинации с другими видами терапии (например удаление

хирургическим путем, облучение, дополнительные противоопухолевые препараты и так далее), чтобы таким образом вызвать дополнительные или усиленные терапевтические эффекты и/или снизить цитотоксичность некоторых противоопухолевых агентов. Соединения-модуляторы STING по изобретению могут быть введены совместно, или приготовлены в виде препарата вместе с дополнительными агентами, или приготовлены в виде препарата для последовательного введения с дополнительными агентами в любом порядке.

Соединения-модуляторы STING по изобретению могут быть использованы в комбинации с другими терапевтическими агентами, включая терапевтические антитела, ADC (конъюгаты антитело-лекарственное средство), иммуномодуляторы, цитотоксические агенты и цитостатические агенты, но не ограничиваясь ими. Цитотоксический эффект относится к истощению, удалению и/или уничтожению клеток-мишеней (то есть опухолевых клеток). Цитотоксический агент относится к агенту, который оказывает цитотоксическое и/или цитостатическое действие на клетку. Цитостатический эффект относится к подавлению пролиферации клеток. Цитостатический агент относится к агенту, который оказывает цитостатическое действие на клетку, тем самым подавляя рост и/или разрастание определенной субпопуляции клеток (то есть опухолевых клеток). Иммуномодулирующий агент относится к агенту, который стимулирует иммунный ответ посредством выработки цитокинов и/или антител и/или модулирования функции Т-клеток, тем самым подавляя или уменьшая рост субпопуляции клеток (то есть опухолевых клеток) либо непосредственно, либо опосредованно, давая возможность другому агенту быть более эффективным.

Для видов комбинированной терапии соединения-модуляторы STING вводят в пределах любого промежутка времени, подходящего для проведения намеченной терапии. Таким образом, отдельные агенты могут быть введены по существу одновременно (то есть в виде одного препарата или в пределах минут или часов) или последовательно в любом порядке. Например, лечение одним агентом можно проводить с интервалом примерно 1 год, например с интервалом примерно 10, 8, 6, 4 или 2 месяца, или с интервалом 4, 3, 2 или 1 неделя(и), или с интервалом примерно 5, 4, 3, 2 или 1 сутки (ок).

Раскрытые виды комбинированной терапии могут вызывать синергический терапевтический эффект, то есть эффект, превышающий сумму их индивидуальных эффектов или терапевтических результатов. Например, синергический терапевтический эффект может быть эффектом по меньшей мере примерно в два раза большим, чем терапевтический эффект, вызываемый отдельным агентом, или сумма терапевтических

эффектов, вызываемых отдельными агентами данной комбинации, или по меньшей мере примерно в пять раз большим, или по меньшей мере примерно в десять раз большим, или по меньшей мере примерно в двадцать раз большим, или по меньшей мере примерно в пятьдесят раз большим, или по меньшей мере примерно в сто раз большим. Синергический терапевтический эффект также может наблюдаться как увеличение терапевтического эффекта по меньшей мере на 10% по сравнению с терапевтическим эффектом, вызываемым отдельным агентом, или суммой терапевтических эффектов, вызываемых отдельными агентами данной комбинации, или по меньшей мере на 20%, или по меньшей мере на 30%, или по меньшей мере на 40%, или по меньшей мере на 50%, или по меньшей мере на 60%, или по меньшей мере на 70%, или по меньшей мере на 80%, или по меньшей мере на 90%, или по меньшей мере на 100%, или более. Синергический эффект также является эффектом, который позволяет снизить дозировку терапевтических агентов, когда их используют в комбинации.

Композиции могут быть введены до, после и/или вместе с дополнительной терапевтической или профилактической композицией или способом лечения. Они включают, без ограничения, костимулирующую молекулу В7, интерлейкин-2, интерферон-7, GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), антагонисты CTLA-4, лиганд OX-40/OX-40, лиганд CD40/CD40, сарграмостим, левамизол, вирус осповакцины, бациллу Кальмета-Герена (БЦЖ), липосомы, квасцы, полный или неполный адъювант Фрейнда, детоксифицированные эндотоксины, минеральные масла, поверхностно-активные вещества, такие как лизолецитин, плюроновые полиолы, полианионы, пептиды и масляные или углеводородные эмульсии. Носители для индукции Т-клеточного иммунного ответа, которые предпочтительно стимулируют цитолитический Т-клеточный ответ, а не ответ антител, являются предпочтительными, хотя также могут быть использованы носители, которые стимулируют оба типа ответа. В случаях, когда агент представляет собой полипептид, может быть введен сам полипептид или полинуклеотид, кодирующий полипептид. Носитель может представлять собой клетку, такую как антигенпрезентирующая клетка (АПК) или дендритная клетка. Антигенпрезентирующие клетки включают такие типы клеток, как макрофаги, дендритные клетки и В-клетки. Другие профессиональные антигенпрезентирующие клетки включают моноциты, клетки Купфера маргинальной зоны, микроглию, клетки Лангерганса, интердигитальные дендритные клетки, фолликулярные дендритные клетки и Т-клетки. Также могут быть использованы факультативные антигенпрезентирующие клетки. Примеры факультативных

антигенпредставляющих клеток включают астроциты, фолликулярные клетки, эндотелий и фибробласты. Носитель может представлять собой бактериальную клетку, которая трансформируется для экспрессии полипептида или для доставки полинуклеотида, который впоследствии экспрессируется в клетках вакцинированного человека. Адьюванты, такие как гидроксид алюминия или фосфат алюминия, могут быть добавлены для увеличения способности вакцины вызывать, усиливать или продлевать иммунный ответ. Дополнительные вещества, такие как цитокины, хемокины и последовательности бактериальных нуклеиновых кислот, такие как CpG, агонист toll-подобного рецептора (TLR) 9, а также дополнительные агонисты TLR 2, TLR 4, TLR 5, TLR 7, TLR 8, TLR 9, включая липопротеин, ЛПС (липополисахарид), монофосфорил-липид А, липотейхоевую кислоту, имиквимод, резиквимод и, кроме того, агонисты гена I, индуцируемого ретиноевой кислотой (RIG-I), такие как поли I:C (полиинозиновая-полицитидиловая кислота), используемые отдельно или в комбинации с описанными композициями, также являются потенциальными адьювантами. Другие типичные примеры адьювантов включают синтетический адьювант QS-21, содержащий гомогенный сапонин, выделенный из коры *Quillaja saponaria* и *Corynebacterium parvum* (McCune et al., Cancer, 1979; 43:1619). Будет понятно, что адьювант подвергают оптимизации. Другими словами, специалист в данной области техники может провести обычный эксперимент, чтобы определить лучший адьювант для использования.

Фармацевтические композиции, подходящие для доставки соединений по изобретению, и способы их получения будут совершенно очевидны специалистам в данной области техники. Такие композиции и способы их получения можно найти, например, в «Remington's Pharmaceutical Sciences», 19th Edition (Mack Publishing Company, 1995), описание которого включено здесь посредством ссылки во всей своей полноте.

Соединения по изобретению могут быть введены непосредственно в кровоток, в мышцу или во внутренний орган. Подходящие способы парентерального введения включают внутривенное, внутриартериальное, интраперитонеальное, интратекальное, внутрижелудочковое, внутриуретральное, внутригрудинное, внутричерепное, внутримышечное, подкожное и внутриопухолевое введение. Подходящие устройства для парентерального введения включают игольчатые (включая микроигольчатые) инъекторы, безыгольные инъекторы и оборудование для инфузии.

Препараты для парентерального введения обычно представляют собой водные растворы, которые могут содержать эксципиенты, такие как соли, углеводы и буферные агенты (предпочтительно до рН от 3 до 9), но для некоторых применений они могут быть

более подходящими в виде стерильного неводного раствора или в виде высушенной формы для использования в сочетании с подходящим носителем, таким как стерильная апиrogenная вода.

Приготовление в стерильных условиях препаратов для парентерального введения, например посредством лиофилизации, может быть легко осуществлено при использовании стандартных фармацевтических методов, хорошо известных специалистам в данной области техники.

Растворимость соединений по изобретению, используемых в приготовлении растворов для парентерального введения, может быть увеличена посредством использования соответствующих методик приготовления, таких как включение агентов, увеличивающих растворимость. Препараты для парентерального введения могут быть приготовлены с возможностью немедленного и/или модифицированного высвобождения. Препараты с модифицированным высвобождением включают замедленное, продолжительное, прерывистое, контролируемое, целевое и запрограммированное высвобождение. Таким образом, соединения по изобретению могут быть приготовлены в виде твердого вещества, полутвердого вещества или тиксотропной жидкости для введения в виде имплантированного депо, обеспечивающего модифицированное высвобождение активного соединения. Примеры таких препаратов включают стенты с лекарственным покрытием и микросферы PLGA (на основе сополимера молочной и гликолевой кислот).

Наночастицы также представляют собой системы доставки лекарств, подходящие для большинства способов введения. На протяжении многих лет для получения наночастиц исследовали различные природные и синтетические полимеры, из которых широко изучены поли(молочная кислота) (PLA), поли(гликолевая кислота) (PGA) и их сополимеры (PLGA) благодаря их биосовместимости и биоразлагаемости. Наночастицы и другие наноносители действуют как потенциальные носители нескольких классов лекарственных средств, таких как противоопухолевые агенты, гипотензивные агенты, иммуномодуляторы и гормоны; и макромолекулы, такие как нуклеиновые кислоты, белки, пептиды и антитела. См., например, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 21:387-422, 2004; *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 1:22-30, 2005.

Композиции по настоящему изобретению могут содержать или быть введены вместе с одним или более чем одним дополнительным фармацевтически активным компонентом, таким как адъюванты, липиды, многослойные везикулы со сшивками между бислоями, биоразлагаемые наночастицы или микрочастицы на основе поли(D, L-молочной и гликолевой кислоты) [PLGA] или на основе полиангидрида, и нанопористые

частицы, на которые нанесены липидные бислои, такие как липосомы, антагонисты сигнальных путей CTLA-4 и PD-1, агенты, блокирующие путь PD-1, инактивированные бактерии, которые индуцируют врожденный иммунитет (например инактивированные или аттенуированные *Listeria monocytogenes*), композиции, которые опосредуют активацию врожденного иммунитета через Toll-подобные рецепторы (TLR), (NOD)-подобные рецепторы (NLR), рецепторы, подобные продукту гена-I (RIG-I), индуцируемому ретиноевой кислотой (RLR), лектиновые рецепторы С-типа (CLR), патоген-ассоциированные молекулярные паттерны («PAMP»), химиотерапевтические агенты и тому подобные.

Соединения и композиции по настоящему изобретению могут быть введены в виде компонента конъюгата антитело-лекарственное средство или с помощью другого способа направленной доставки.

Местное введение

Соединения по изобретению могут быть объединены с растворимыми макромолекулярными соединениями, такими как циклодекстрин и его подходящие производные или содержащие полиэтиленгликоль полимеры, для улучшения их растворимости, скорости растворения, маскировки вкуса, биодоступности и/или стабильности для применения в любом из вышеупомянутых способов введения.

Установлено, что, например, комплексы лекарственное средство-циклодекстрин обычно используют для большинства дозированных форм и способов введения. Могут быть использованы как комплексы включения, так и комплексы без включения. В качестве альтернативы прямому комплексообразованию с лекарственным средством, циклодекстрин может быть использован в качестве вспомогательной добавки, то есть в качестве носителя, разбавителя или солюбилизатора. Чаще всего для этих целей используют альфа-, бета- и гамма-циклодекстрины, примеры которых можно найти в публикациях международных заявок WO 91/11172, WO 94/02518 и WO 98/55148, описания которых включены здесь посредством ссылки во всей их полноте.

Дозировка: количество вводимого активного соединения будет зависеть от субъекта, которого лечат, тяжести расстройства или состояния, скорости введения, распределения соединения в организме и усмотрения лечащего врача. Одна возможная доза находится в диапазоне от примерно 0,001 до примерно 100 мг на кг массы тела, вводимая каждые сутки, через сутки, на каждые третьи сутки, на каждые четвертые сутки, на каждые пятые сутки, на каждые шестые сутки, еженедельно, раз в две недели, ежемесячно, или по другим режимам дозирования. В некоторых случаях уровни доз ниже

нижнего предела вышеупомянутого диапазона могут быть более чем адекватными, тогда как в других случаях могут быть использованы еще большие дозы, не вызывая каких-либо вредных побочных эффектов, при этом такие большие дозы обычно делят на несколько меньших доз для введения на протяжении суток.

Набор: поскольку может быть желательным введение комбинации активных соединений, например, с целью лечения конкретного заболевания или состояния, то в объем настоящего изобретения входит то, что две или более фармацевтических композиции, по меньшей мере одна из которых содержит соединение по изобретению, могут быть удобно объединены в виде набора, подходящего для совместного введения композиций. Таким образом, набор по изобретению включает две или более отдельных фармацевтических композиции, по меньшей мере одна из которых содержит соединение по изобретению, и средства для раздельного хранения указанных композиций, такие как контейнер, секционный флакон или разделенный пакет из фольги. Примером такого набора является обычная блистерная упаковка, используемая для упаковки таблеток, капсул и тому подобного.

Набор по изобретению особенно подходит для введения различных лекарственных форм, например пероральных и парентеральных, для введения отдельных композиций с различными интервалами дозирования или для подбора доз отдельных композиций относительно друг друга. Чтобы облегчить соблюдение режима лечения, набор обычно включает инструкции по применению и может быть снабжен памяткой.

Примеры

Общие способы

Экспериментальные методы синтеза:

Эксперименты обычно проводили в атмосфере инертного газа (азот или аргон), особенно в случаях, когда использовали реагенты или промежуточные соединения, чувствительные к кислороду или влаге. Имеющиеся в продаже растворители и реагенты обычно использовали без дополнительной очистки и сушили над молекулярными ситами (обычно продукты Sure-Seal™ от Aldrich Chemical Company, Милуоки, Висконсин). Данные масс-спектрометрии получали с помощью либо жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ-МС), химической ионизации при атмосферном давлении (ХИАД), электрораспылительной ионизации (ЭРИ), либо жидкостной хроматографии-времяпролетной масс-спектрометрии (ЖХ-ВПМС). Химические сдвиги для данных ядерного магнитного резонанса (ЯМР) выражены в миллионных долях (м.д.) относительно остаточных пиков используемых дейтерированных растворителей.

Что касается исходных способов синтеза в других примерах или способах, протокол взаимодействия (продолжительность взаимодействия и температура) может варьировать. Как правило, за протеканием взаимодействий следили с помощью тонкослойной хроматографии, ЖХ-МС или ЖХВД и при необходимости подвергали обработке. Степень очистки может варьировать в зависимости от эксперимента: как правило, растворители и соотношения растворителей, используемые для элюентов/градиентов, выбирали таким образом, чтобы обеспечить соответствующие значения времени удерживания. Если не оговорено особо, фракции после проведения ЖХВД с обращенной фазой концентрировали посредством лиофилизации/сублимационной сушки. Промежуточные и конечные соединения хранили при (0°C) или при комнатной температуре в закрытых флаконах или колбах в атмосфере азота. Названия соединений генерировали с помощью программного обеспечения Chemdraw или ACD Labs.

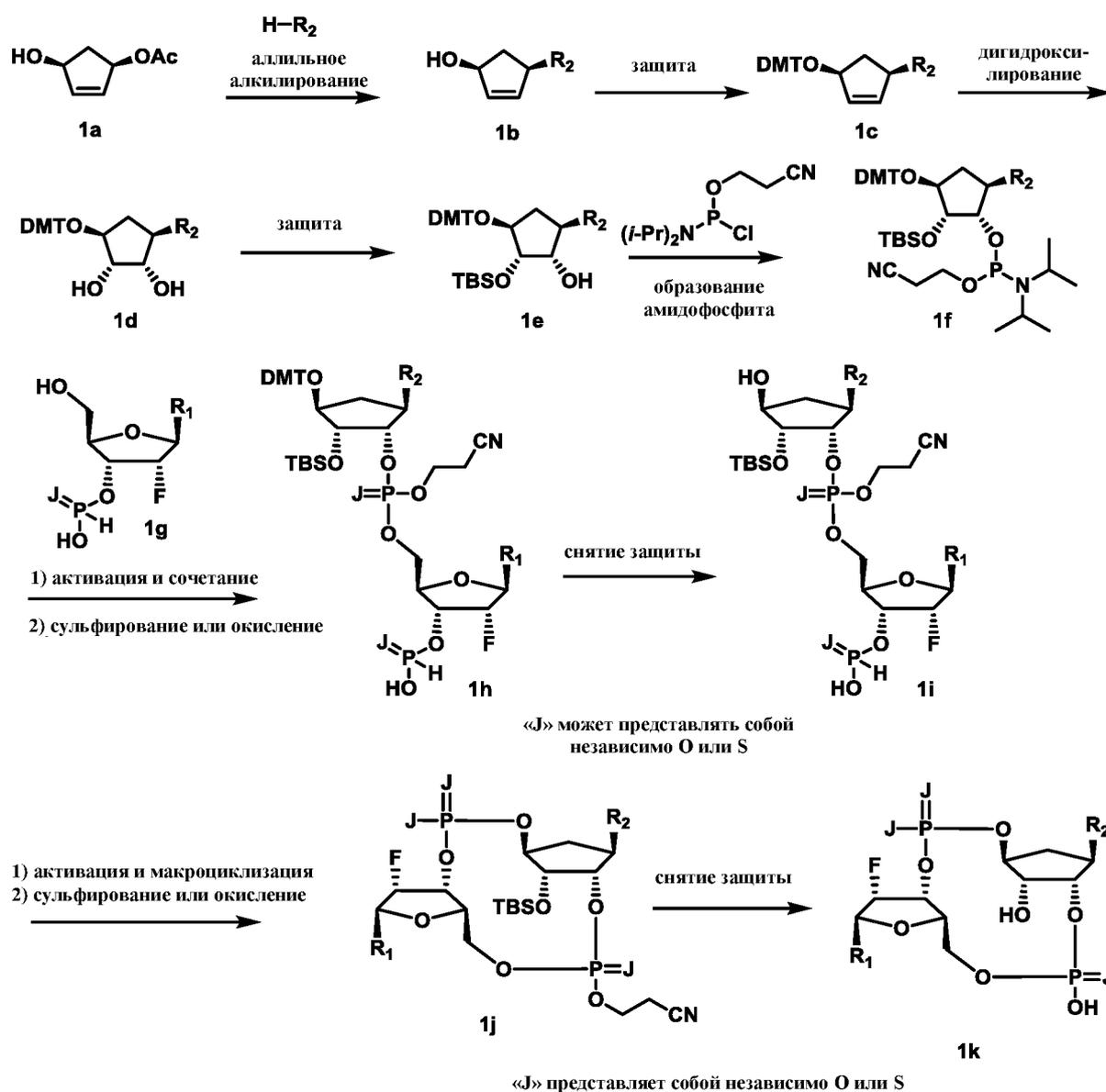
Аббревиатуры растворителей и/или реагентов созданы на основе рекомендаций Американского химического общества и указаны ниже:

Ac означает ацетил; Boc означает *N*-*tert*-бутоксикарбонил; BTT означает бензилтиотетразол; CDI означает *N,N'*-карбонилдиимидазол; DCA означает дихлоруксусную кислоту; DCC означает 1,3-дициклогексилкарбодиимид; DCE означает дихлорэтан; DCM означает дихлорметан; DDTT означает (Е)-*N,N*-диметил-*N'*-(3-сульфанилиден-3*H*-1,2,4-дитиазол-5-ил)метанимидамид; DEA означает *N,N*-диэтиламин; DIBAL-H означает гидрид диизобутилалюминия; DIPEA означает *N,N*-диизопропилэтиламин; DMA означает диметилацетамид; DMAP означает 4-диметиламинопиридин; DME означает диметоксиэтан; DMF означает *N,N*-диметилформамид; DMOCP означает 2-хлор-5,5-диметил-1,3,2-диоксафосфинан-2-оксид; DMSO означает диметилсульфоксид; DMT означает диметокситритил; DMTCI означает диметокситритилхлорид; DPPA означает дифенилфосфорилазид; EDCI означает 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид; EtOAc означает этилацетат; ETT означает этилтиотетразол; Fmoc означает флуоренилметилоксикарбонил; ч означает час; HATU означает гексафторфосфат *o*-(7-азабензотриазол-1-ил)-*N,N,N',N'*-тетраметилурония; HBTU означает гексафторфосфат *N,N,N',N'*-тетраметил-*O*-(1*H*-бензотриазол-1-ил)урония; HOAc означает уксусную кислоту; HOAt означает 1-гидрокси-7-азабензотриазол; HOBT означает гидрат 1-гидроксибензотриазола; LDA означает диизопропиламид лития; Me означает метил; MTBE означает метил-*tert*-бутиловый эфир; *n*-BuLi означает *n*-бутиллитий; NBS означает *N*-бромсукцинимид; NMM означает *N*-метилморфолин; NMO означает *N*-оксид

N-метилморфолина; Ph означает фенил; PivCl означает пивалоилхлорид; PPTS означает *para*-толуолсульфонат пиридиния; *p*-TsOH означает *para*-толуолсульфоновую кислоту; *rt* означает комнатную температуру; TEAB означает бромид тетраэтиламмония; TBAI означает йодид тетрабутиламмония; TBS означает *трет*-бутилдиметилсиллил; TBSCl означает *трет*-бутилдиметилсиллилхлорид; TEA означает триэтиламин; Tf означает трифторметансульфонат; TFA означает трифторуксусную кислоту; THF означает тетрагидрофуран; и TPTU означает тетрафторборат *O*-(2-оксо-1(2*H*))пиридил)-*N,N,N,N'*-тетраметилурония.

Общая схема

Схема 1:



В основном, синтез активаторов STING на основе циклопентана может быть аналогичен методам, используемым для образования соответствующих макроциклов,

получаемых в синтезе циклических динуклеотидов (Gaffney B. L., et. al.; *Organic Letters* 2010 12(14) 3269-3271).

Как представлено на **Схеме 1**, хиральный аллильный ацетат **1a** может быть приобретен или синтезирован (Deardorff D., et.al.; *Tetrahedron Letters* 1986 27(11) 1255-1256). Аллильное алкилирование может быть проведено с использованием азотсодержащего гетероцикла или азотистого основания с образованием соединений, таких как соединение **1b** (Trost, B., et.al.; *Angew. Chem. Int. Ed.* 1996, 35 1569-1572). Эти взаимодействия обычно проводят при использовании палладиевого катализатора, фосфинового лиганда и основных условий. Комбинация другого металлического катализатора и лиганда также может быть использована для достижения такого же превращения. Обычно защиты аллилового спирта **1b** диметокситритильной (DMT) группой достигают при использовании диметокситритилхлорида (DMTCl) и основания с получением таких соединений, как соединение **1c**. Двойную связь соединения **1c** обычно дигидроксилируют с помощью каталитического количества тетраоксида осмия и N-оксида N-метилпиперидина с получением таких соединений, как соединение **1d**. Другие дигидроксилирующие агенты, такие как перманганат или тетраоксид рутения, могут быть использованы для достижения такого же превращения. Обычно монозащита таких соединений, как соединение **1d**, может быть достигнута при использовании тетрабутилдиметилсилилхлорида (TBSCl) с тетразолом или тетрабутилдиметилсилилтрифторметансульфоната (TBSOTf) и основания с получением таких соединений, как соединение **1e**. Амидофосфиты, такие как соединение **1f**, обычно получают из соединений, таких как соединение **1e**, при обработке 3-((хлор(диизопропиламино)фосфанил)окси)пропаннитрилом и основанием. Н-фосфонаты и тио-Н-фосфонаты, такие как соединение **1g**, обычно получают из соответствующим образом защищенного нуклеозида и смешанного ангидрида фосфоновой кислоты с последующим сульфированием, если необходимо. Защитную группу удаляют с высвобождением первичного спирта **1g**. Сочетание соединений, таких как соединения **1g** и **1f**, обычно происходит после обработки амидофосфитов, таких как соединение **1f**, кислотными активаторами. Полученное связанное вещество затем сульфируют с использованием сульфлирующих агентов, таких как DDTT, 3Н-бензодитиол-3-он или аналогичного реагента, с получением тиофосфонатов, таких как соединение **1h**. Или же связанное вещество можно окислить реагентами, такими как *трет*-бутилпероксид или аналогичные окислители, с получением фосфатов, таких как соединение **1h**. Такие соединения, как соединение **1h**, может быть обработано слабой кислотой, такой как

дихлоруксусная кислота, с высвобождением таких соединений, как соединение **1i**. Н-фосфонатные соединения, такие как соединение **1i**, могут быть активированы реагентами, такими как ДМОСР, с целью воздействия на макроциклизацию, а затем могут быть сульфированы реагентами, такими как 3Н-бензодитиол-3-он, с образованием циклических тиофосфонатов, таких как соединение **1j**, или окислены реагентами, такими как *трет*-бутилпероксид с образованием циклических фосфатов, таких как соединение **1j**. После создания соответствующих условий для снятия защиты могут быть получены циклические дитиофосфонаты, дифосфаты или смешанные тиофосфонат-фосфатные соединения, такие как соединение **1k**. На каждой стадии соединения можно очищать стандартными методами, такими как колоночная хроматография, кристаллизация, ЖХВД с обращенной фазой или СФХ. При необходимости, разделение диастереомеров соединения **1k** может быть проведено стандартными способами, известными в данной области техники, такими как хиральная СФХ или ЖХВД, с получением отдельных диастереомеров. Следует обратить внимание, что «А» означает углерод (также связанный с водородом или заместителем) или азот.

Пример 1

Синтез 2,9-диоксида (4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6,13-бис(6-амино-9Н-пурин-9-ил)-14-фтор-2,9-дисульфанилоктагидро-11Н-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]тетраоксациклофосфатридецин-15-ола

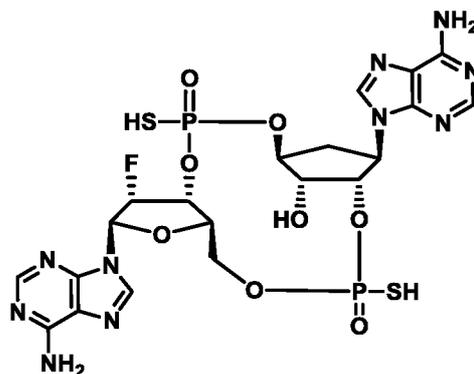
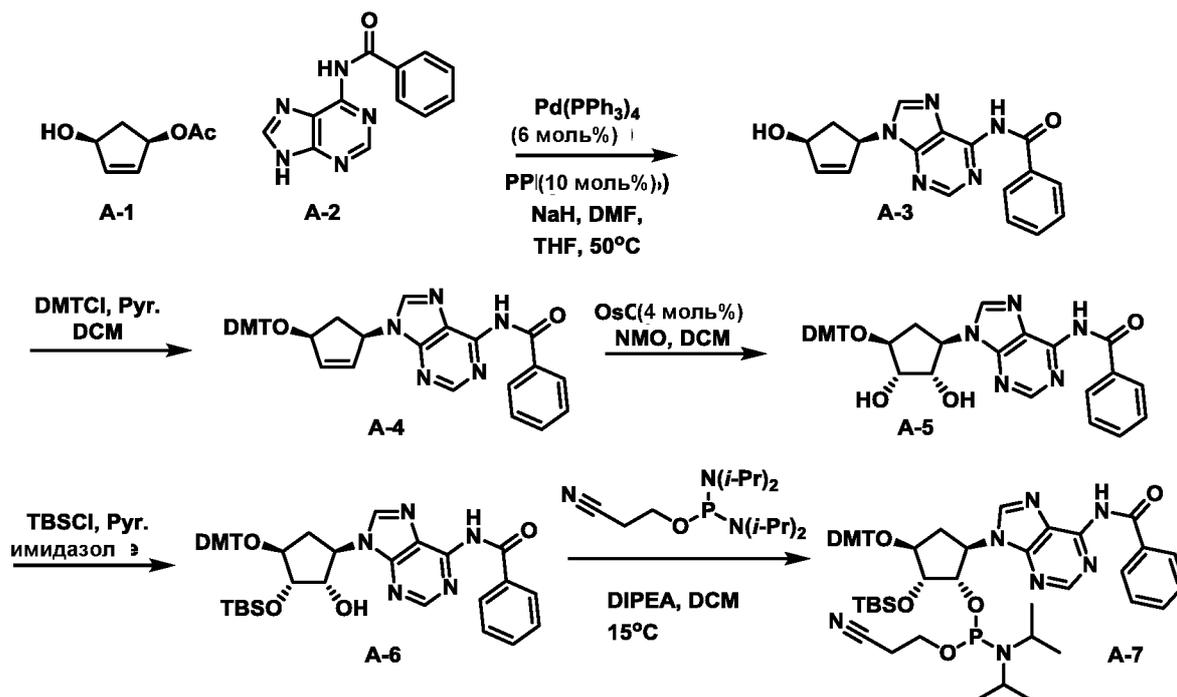


Схема А



Стадия 1: синтез N-(9-((1R,4S)-4-гидроксициклопент-2-ен-1-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (A-3)

В высушенную в печи круглодонную колбу (колба А), снабженную магнитной мешалкой и продутую N_2 , добавляли соединение **A-1** (8330 мг; 34,8 ммоль) и DMF (50 мл). В раствор добавляли NaH (60% (масс.) дисперсия в минеральном масле; 1530 мг; 38,3 ммоль) в атмосфере N_2 . Во вторую круглодонную колбу (колба В), снабженную магнитной мешалкой и продутую N_2 , добавляли соединение **A-2** (4950 мг; 34,8 ммоль), $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (2490 мг; 2,16 ммоль), PPh_3 (913 мг; 3,48 ммоль) и THF (50 мл). Через 30 минут раствор из колбы А переносили в колбу В. Колбу В затем помещали на масляную баню и нагревали при 50°C в атмосфере N_2 в течение 12 часов. Реакционную смесь гасили H_2O (100 мл) и переносили в делительную воронку с EtOAc . Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали EtOAc (100 мл \times 2) и DCM/MeOH (5:1; 100 мл \times 5). Объединенные органические экстракты концентрировали под вакуумом. Полученный таким образом неочищенный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (240 г SiO_2 , Isco; 9% MeOH/DCM) с получением соединения **A-3** (19,7 г; 88%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}] = 322$ наблюдаемый; ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ м.д.: 11.18 (s, 1H), 8.79-8.73 (m, 1H), 8.45-8.38 (m, 1H), 8.05 (ушир. d, $J = 7,5$ Гц, 2H), 7.73-7.51 (m, 4H), 6.30-6.20 (m, 1H), 6.07 (ушир. d, $J = 5,4$ Гц, 1H), 5.61 (ушир. dd, $J = 3,9, 5,2$ Гц, 1H), 5.38 (d, $J = 6,2$ Гц, 1H), 4.81-4.72 (m, 1H), 3.02-2.91 (m, 1H), 1.79 (td, $J = 4,5, 13,8$ Гц, 1H).

Стадия 2: синтез N-(9-((1R,4S)-4-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)-циклопент-2-ен-1-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (A-4)

В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение **A-3** (19,7 г; 61,3 ммоль) и безводный пиридин (50 мл). Раствор концентрировали досуха под вакуумом и затем сушили под глубоким вакуумом в течение 1 часа. Колбу продували N_2 с последующим добавлением безводного пиридина (150 мл) и $DMTCl$ (23,9 г; 70,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при $9^\circ C$ в атмосфере N_2 в течение 12 часов. Реакционную смесь гасили H_2O и переносили в делительную воронку с $EtOAc$. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали $EtOAc$ (200 мл \times 2). Органические экстракты промывали рассолом (100 мл \times 2), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали под вакуумом. Полученный таким образом неочищенный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (240 г SiO_2 , Isco; 100% $EtOAc$) с получением соединения **A-4** (29,2 г; 76%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]=624$ наблюдаемый; 1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ м.д.: 8.94 (ушир. s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.03 (ушир. d, $J=7,5$ Гц, 2H), 7.64-7.59 (m, 1H), 7.57-7.47 (m, 4H), 7.44-7.36 (m, 4H), 7.35-7.28 (m, 2H), 7.26-7.20 (m, 1H), 6.87-6.81 (m, 4H), 5.90 (dd, $J=1,5, 5,5$ Гц, 1H), 5.65 (td, $J=1,8, 5,5$ Гц, 1H), 5.56-5.48 (m, 1H), 4.78-4.71 (m, 1H), 3.80 (d, $J=1,0$ Гц, 6H), 2.58-2.47 (m, 1H), 1.56 (td, $J=3,6, 14,7$ Гц, 1H).

Стадия 3: синтез N-(9-((1R,2S,3S,4S)-4-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)-2,3-дигидроксициклопентил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (A-5)

В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение **A-4** (29,2 г; 46,8 ммоль), DCM (300 мл) и H_2O (18 мл). К желтому раствору добавляли NMO (16,5 г; 140 ммоль) и OsO_4 (4% в *t*-BuOH; 20,8 г; 3,28 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при $16^\circ C$ в течение 5 часов. Реакционную смесь затем переносили в делительную воронку с DCM (50 мл) и гасили насыщенным Na_2SO_3 (100 мл). Фазы разделяли и органическую фазу промывали рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали под вакуумом. Полученный таким образом неочищенный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (120 г SiO_2 , Isco; от 3% MeOH/DCM до 5% MeOH/DCM) с получением соединения **A-5** (24,9 г; 80%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]=658$ наблюдаемый; 1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ м.д.: 9.09 (ушир. s, 1H), 8.78-8.59 (m, 1H), 8.02 (ушир. d, $J=7,3$ Гц, 2H), 7.93-7.85 (m, 1H), 7.60 (ушир. dd, $J=4,8, 6,3$ Гц, 1H), 7.56-7.39 (m, 5H), 7.39-7.27 (m, 6H), 7.25-7.19 (m, 1H), 6.84 (ушир. d, $J=8,8$ Гц, 4H), 5.69 (ушир. s, 1H), 4.65 (ушир. d, $J=7,0$ Гц,

2H), 4.16 (ушир. d, $J=1,3$ Гц, 1H), 3.92 (ушир. s, 1H), 3.78 (d, $J=2,0$ Гц, 6H), 3.72 (t, $J=4,5$ Гц, 2H), 2.95 (ушир. s, 1H), 2.45-2.33 (m, 2H), 1.94-1.75 (m, 1H).

Стадия 4: синтез N-(9-((1R,2S,3S,4S)-4-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)-3-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-гидроксициклопентил)-9H-пурин-6-ил)-бензамида (А-6)

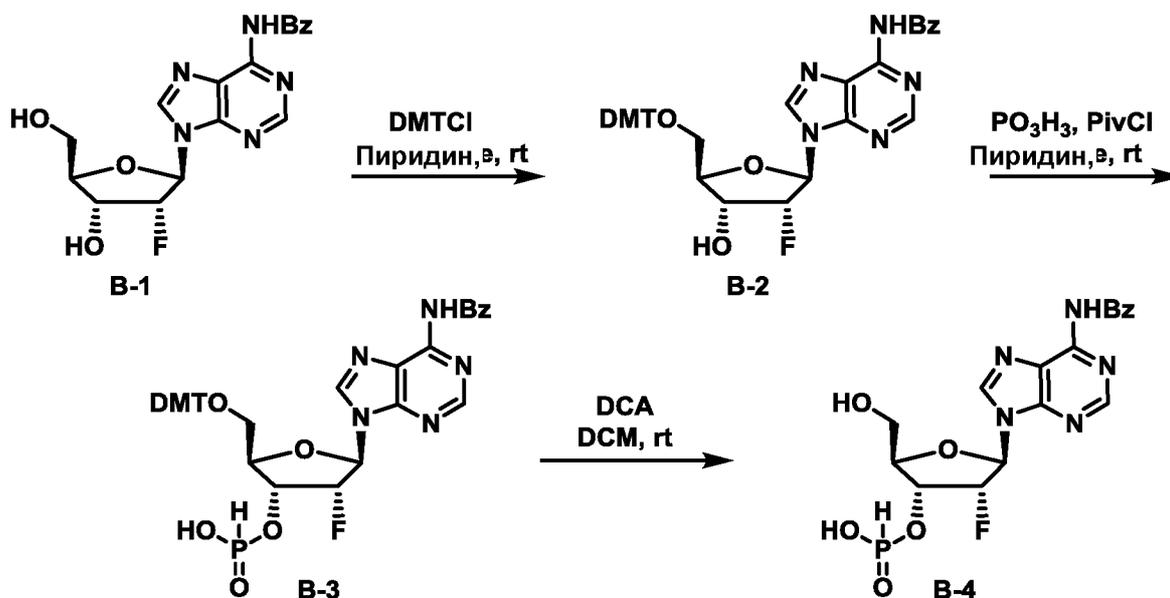
В высушенную в печи круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой и охлажденную в атмосфере N_2 , по каплям добавляли соединение **А-5** (4,12 г; 6,264 ммоль), DCM (200 мл), Et_3N (3170 мг; 31,3 ммоль) и TBSOTf (2,49 мг; 9,4 ммоль) при $0^\circ C$. Ледяную баню удаляли и реакционную смесь перемешивали в атмосфере N_2 при $20^\circ C$ в течение 12 часов. На этой стадии все еще определялось исходное вещество посредством ЖХ-МС, и в смесь по каплям добавляли дополнительную аликвоту TBSOTf (2485 мг; 9,4 ммоль) при $0^\circ C$. Ледяную баню удаляли и реакционную смесь перемешивали в атмосфере N_2 при $20^\circ C$ в течение 12 часов. Реакционную смесь гасили MeOH (15 мл). Раствор переносили в делительную воронку с DCM и затем разбавляли H_2O . Фазы разделяли и органическую фазу промывали 1 порцией H_2O , 1 порцией рассола, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (40 г SiO_2 , Isco; от 40% EtOAc/петролейный эфир до 50% EtOAc/петролейный эфир) с получением соединения **А-6** (1,29 г; 26%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[M+H]=772$ наблюдаемый; 1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ м.д.: 8.95 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.05-7.98 (m, 2H), 7.64-7.57 (m, 1H), 7.56-7.47 (m, 3H), 7.56-7.47 (m, 1H), 7.44-7.34 (m, 4H), 7.33-7.28 (m, 2H), 7.26-7.19 (m, 1H), 6.88-6.79 (m, 4H), 4.76 (dd, $J=5,6$, 11,7 Гц, 1H), 4.70-4.62 (m, 1H), 4.38 (ушир. s, 1H), 4.10-4.06 (m, 1H), 3.78 (d, $J=1,3$ Гц, 6H), 2.98 (d, $J=8,8$ Гц, 1H), 2.17 (s, 1H), 0.99 (ушир. dd, $J=4,6$, 15,2 Гц, 1H), 0.93-0.85 (m, 9H), 0.14 (s, 3H), 0.03 (s, 3H).

Стадия 5: синтез (1S,2R,3S,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-3-(бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)-2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)циклопентил-(2-цианоэтил)диизопропиламинофосфита (А-7)

В высушенную в печи круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой и продуваемую N_2 , добавляли соединение **А-6** (8,80 г; 11,4 ммоль), DIPEA (14,7 г; 114 ммоль) и безводный DCM (320 мл). К раствору добавляли 3-((хлор(диизопропиламино)-фосфанил)окси)пропаннитрил (13,5 г; 57,0 ммоль) при $15^\circ C$ в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при $15^\circ C$ в течение 4 часов. Реакционную смесь гасили насыщ. $NaHCO_3$ (120 мл) и переносили в делительную воронку с DCM (50 мл). Фазы разделяли и органическую фазу промывали рассолом (100 мл), сушили (Na_2SO_4), и концентрировали

под вакуумом. Полученный таким образом неочищенный остаток дважды очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (120 г SiO₂, Isco; от 40% EtOAc/петролейный эфир до 60% EtOAc/петролейный эфир) с получением соединения **A-7** (8,57 г; 77%) в виде светло-желтого твердого вещества. ЖХ-МС [M+H]=972 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ м.д.: 8.91 (d, J=11,3 Гц, 1H), 8.79 (d, J=4,0 Гц, 1H), 8.22-8.13 (m, 1H), 8.08-7.98 (m, 2H), 7.65-7.58 (m, 1H), 7.52 (q, J=7,2 Гц, 4H), 7.44-7.35 (m, 4H), 7.31 (dt, J=1,4, 7,5 Гц, 2H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.84 (td, J=2,0, 9,0 Гц, 4H), 5.15-5.00 (m, 1H), 4.99-4.79 (m, 1H), 4.31-3.98 (m, 2H), 3.78 (s, 6H), 3.76-3.57 (m, 2H), 3.50-3.34 (m, 2H), 2.60 (t, J=6,3 Гц, 1H), 2.52-2.25 (m, 2H), 1.33-1.14 (m, 1H), 1.11 (d, J=6,8 Гц, 3H), 1.02 (t, J=7,4 Гц, 6H), 0.85 (s, 9H), 0.79 (d, J=6,8 Гц, 3H), 0.11 (d, J=11,8 Гц, 3H), -0.06 (d, J=0,8 Гц, 3H); ³¹P ЯМР (162 МГц, ХЛОРОФОРМ-d) δ м.д.: 149.67 (s, 1P), 147.94 (s, 1P).

Схема В



Стадия 1: синтез N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)-метил)-3-фтор-4-гидрокситетрагидрофуран-2-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (**B-2**)

В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли имеющийся в продаже N-(9-((2R,3R,4R,5R)-3-фтор-4-гидрокси-5-(гидроксиметил)-тетрагидрофуран-2-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамид **B-1** (42,00 г; 37,50 ммоль) и трижды упаривали совместно с безводным пиридином. Остаток повторно растворяли в пиридине (70 мл) с последующим добавлением DMTCl (13,98 г; 41,25 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 12 часов. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли DCM (200 мл) и промывали тремя порциями (200 мл) насыщенного водного NaHCO₃. Органический слой сушили над Na₂SO₄ (25,00 г), фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный остаток очищали

посредством колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 ; от 85% петролейный эфир/ EtOAc до 100% EtOAc) с получением соединения **В-2** (68,7 г; 85%) в виде белого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]^+=676$ наблюдаемый.

Стадия 2: синтез (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-((бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (В-3)

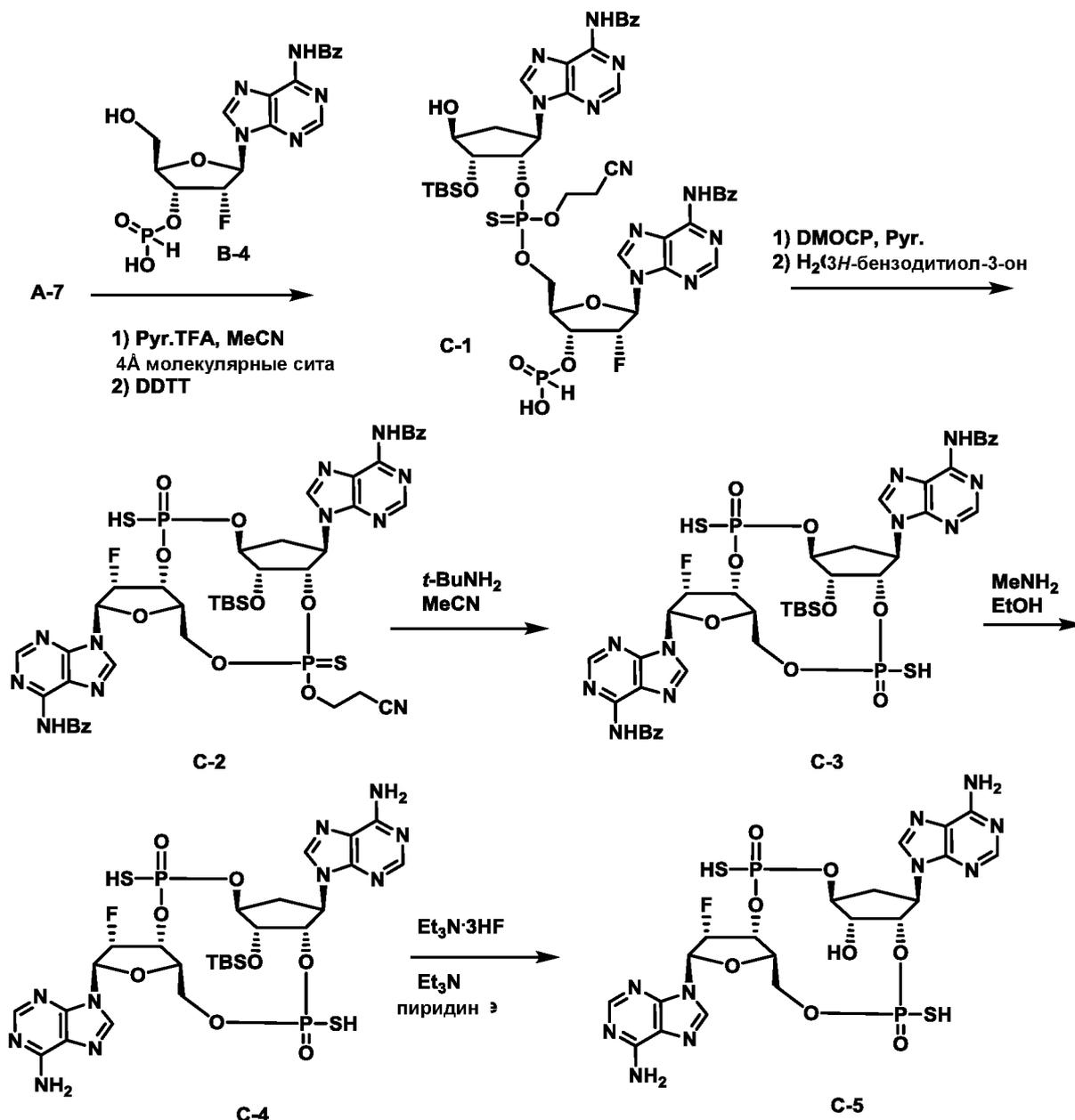
Примечание: параллельно проводили шесть взаимодействий. В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли фосфоновую кислоту (21,8 г; 266 ммоль) и трижды упаривали совместно с безводным пиридином (60 мл). Остаток растворяли в безводном пиридине (180 мл) при умеренном нагревании (30°C). К раствору добавляли соединение **В-2** (12,0 г; 17,8 ммоль) при 30°C , после чего полученный таким образом раствор охлаждали до 0°C . К этой смеси по каплям добавляли 2,2-диметилпропаноилхлорид (21,4 г; 177 ммоль) при 0°C . Смесь нагревали до 30°C и перемешивали в течение 12 часов. Шесть реакционных смесей объединяли. Реакционную смесь гасили 1 М ТЕАВ (1200 мл) и переносили в делительную воронку. Раствор экстрагировали тремя порциями (1000 мл) EtOAc . Объединенные органические экстракты промывали 0,5 М ТЕАВ (500 мл), рассолом (500 мл), сушили над Na_2SO_4 (35,0 г), фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 ; от 2% MeOH/DCM до 5% MeOH/DCM , 1% ТЕА) с удалением основных примесей и получением соединения **В-3** (100,0 г; неочищенное) в виде белого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХ-МС $[\text{M}-\text{H}]^-=738$ наблюдаемый.

Стадия 3: синтез (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (В-4)

Примечание: параллельно проводили пять взаимодействий. В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли соединение **В-3** (20,0 г; 27,0 ммоль) и добавляли раствор ДСА (17,4 г; 135 ммоль) в DCM (200 мл). Смесь перемешивали при 25°C в течение 0,5 часа. Пять реакционных смесей объединяли. Твердый продукт из реакционной смеси отфильтровывали и растирали с DCM (300 мл) с получением соединения **В-4** (40,0 г; 63%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]^+=438$ наблюдаемый; ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ м.д.: 11.95-10.65 (m, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.05 (d, $J=7,3$ Гц, 2H), 7.71-7.61 (m, 1H), 7.61-7.49 (m, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.46 (dd, $J=3,1$, 16,6 Гц, 1H), 5.82 (td, $J=3,4$, 51,7 Гц, 1H), 5.30-5.16 (m, 1H), 4.31-4.20 (m,

1H), 3.80 (dd, $J=2,8, 12,2$ Гц, 1H), 3.67 (dd, $J=3,7, 12,5$ Гц, 1H); ^{19}F ЯМР (377 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: -203.02 (s, 1F); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 4.20 (s, 1P).

Схема С



Стадия 1: синтез (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-((((((1S,2R,3S,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-3-гидроксициклопентил)окси)(2-цианоэтоксифосфоротиоил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (C-1)

В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли Н-фосфонат В-4 (1,0 г; 2,29 ммоль) и трифторацетат пиридиния (1,77 г; 9,15 ммоль). Твердые вещества помещали в безводный MeCN (10 мл×2) и концентрировали под вакуумом. Остаток повторно растворяли в безводном MeCN (30 мл) и добавляли 3Å молекулярные сита (4,0

г). Раствор перемешивали в течение 30 минут и на этом этапе добавляли амидофосфит **A-7** (2,67 г; 2,74 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 часа и за это время получали гомогенный раствор. В реакционную смесь добавляли DDTT (493 мг; 2,40 ммоль) и реакционную смесь оставляли для перемешивания при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали и твердые вещества промывали смесью MeOH/DCM (1:1). Фильтрат концентрировали под вакуумом с последующим растиранием со смесью *n*-гексан/ТВМЕ (1:1). Полученный таким образом неочищенный остаток очищали посредством препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии (Phenomenex Synergi Max-RP 150×50 мм×10 мкм; от 20%MeCN/H₂O с 10 mM NH₄HCO₃ до 50%MeCN/H₂O с 10 mM NH₄HCO₃, 120 мл/мин) с получением соединения **C-1** (390 мг; 13%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС [M+H]=1038 наблюдаемый; ³¹P ЯМР (162 МГц, МЕТАНОЛ-d₄) δ м.д.: 68.24 (s, 1P), 67.74 (s, 1P), 2.95 (s, 1P), 2.71 (s, 1P).

Стадия 2: синтез N,N'-{[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-15-{трет-бутил-(диметил)силил]окси}-9-(2-цианоэтокси)-14-фтор-2-оксидо-2-сульфанил-9-сульфидооктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]-тетраоксиадифосфациклотридецин-6,13-диил]бис(9H-пурин-9,6-диил)}добензамида (C-2)

В высушенную в печи круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой и охлажденную в атмосфере N₂, добавляли соединение **C-1** (320 мг; 0,308 ммоль) и безводный пиридин (10 мл). К раствору добавляли ДМОСР (1,02 г; 5,55 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N₂ в течение 1 часа, и за это время исходное вещество было израсходовано. В реакционную смесь добавляли H₂O (333 мг; 18,5 ммоль) и 3*H*-1,2-бензодитиол-3-он (130 мг; 0,770 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали в атмосфере N₂ при комнатной температуре в течение 30 минут. Реакционную смесь гасили насыщ. NaHCO₃ и переносили в делительную воронку с EtOAc. Фазы разделяли и водную фазу экстрагировали 2 порциями EtOAc (60 мл). Объединенные органические экстракты промывали рассолом, сушили (Na₂SO₄), фильтровали и концентрировали под вакуумом. Неочищенный остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (SiO₂, Isco; от 9% MeOH/DCM до 11% MeOH/DCM). Полученное вещество дополнительно очищали посредством препаративной тонкослойной хроматографии (SiO₂; 11% MeOH/DCM) с получением соединения **C-2** (135 мг; 41%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС [M+H]=1052 наблюдаемый; ³¹P ЯМР

(162 МГц, МЕТАНОЛ-d4) δ м.д.: 68.90 (s, 1P), 68.33 (s, 1P), 64.75 (s, 1P), 64.68 (s, 1P), 55.42 (s, 1P), 53.26 (s, 1P), 52.98 (s, 1P).

Стадия 3: синтез N,N'-{[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-15-{*трет*-бутил(диметил)силил]окси}-14-фтор-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]тетраоксадифосфациклотридецин-6,13-диил]бис(9H-пурин-9,6-диил)}добензамида (С-3)

В колбу, содержащую соединение **С-2** (130 мг; 0,124 ммоль), добавляли ацетонитрил (9 мл). К полученной суспензии добавляли 4,5 мл *трет*-бутиламина. Реакционная смесь превращалась в раствор, и ее перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. Реакционную смесь концентрировали с получением неочищенного соединения **С-3** в виде белого твердого вещества, используемого на следующей стадии.

ЖХ-МС [M+N]=999,21.

³¹P ЯМР (162 МГц, МЕТАНОЛ-d4) δ м.д.: 57.61 (s, 1P), 57.20 (s, 1P), 55.15 (s, 1P), 54.77 (s, 1P), 54.00 (s, 1P), 53.94 (s, 1P), 52.30 (s, 1P), 52.04 (s, 1P).

Стадия 4: синтез соединения 9,9'-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-15-{*трет*-бутил(диметил)силил]окси}-14-фтор-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]-тетраоксадифосфациклотридецин-6,13-диил]бис(9H-пурин-6-амин) (С-4)

Неочищенное соединение **С-3** (123 мг; 0,123 ммоль) добавляли к 6 мл 33% метиламина в EtOH (0,02 М). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали с получением неочищенного соединения **С-4**, которое использовали на следующей стадии.

ЖХ-МС [M+N]=791,15.

³¹P ЯМР (162 МГц, МЕТАНОЛ-d4) δ м.д.: 58.63 (ушир. s, 1P), 55.08 (ушир. s, 1P), 54.57 (ушир. s, 1P), 52.50 (s, 1P), 52.26 (s, 1P).

¹⁹F ЯМР (376 МГц, МЕТАНОЛ-d4) δ м.д.: -200.04 (s, 1F), -200.59 (s, 1F), -201.31 (ушир. s, 1F).

Стадия 5: синтез 2,9-диоксида (4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6,13-бис(6-амино-9H-пурин-9-ил)-14-фтор-2,9-дисульфанилоктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]тетраоксадифосфациклотридецин-15-ола (С-5)

Соединение **С-4** (97,4 мг; 0,123 ммоль) упаривали совместно с 4 мл смеси пиридин/Et₃N (об./об., 3/1) три раза. Этот материал растворяли в 1,13 мл пиридина (0,1 М), продували N₂, добавляли триэтиламин (0,102 мл; с равно 0,1 М) и тригидрофторид

триэтиламина (993 мг; 6,16 ммоль). Полученную реакционную смесь нагревали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь гасили раствором NaHCO_3 до значения pH 6. Летучие компоненты удаляли под вакуумом. Остаток очищали посредством препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой (колонка Phenomenex Gemini C18 21,2×150 мм, 5 мкм), элюируя 10-40% MeCN в водн. NH_4HCO_3 (10 mM) с получением двух диастереомерных соединений в виде белого твердого вещества и смеси других диастереомеров. Два других диастереомера разделяли на колонке Phenomenex Luna Omega 5 мкм Polar C18 21,2×150 мм, элюируя 8-40% MeCN в водн. NH_4HCO_3 (10 mM).

Пик 1, 13,76 мг; 15,8%;

ЖХ-МС [M+H]=677,00.

^1H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 8.42 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 8.30 (s, 1H), 7.90 (s, 1H), 6.49 (d, J=16,51 Гц, 1H), 6.27 (dd, J=49,34, 4,28 Гц, 1H), 5.36-5.46 (m, 1H), 5.10-5.24 (m, 2H), 4.65-4.69 (m, 1H), 4.62 (ушир. s, 1H), 4.54 (d, J=8,93 Гц, 1H), 4.34 (d, J=12,84 Гц, 1H), 4.15 (dd, J=12,29, 5,69 Гц, 1H), 2.99-3.11 (m, 1H), 2.28 (dd, J=15,96, 6,05 Гц, 1H).

^{31}P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 56.18 (ушир. s, 1P), 50.55 (s, 1P).

^{19}F ЯМР (376 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: -200.13 (s, 1F).

Пик 2, 9,97 мг; 9%;

ЖХ-МС [M+H]=677,00.

^1H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 8.39 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 6.47 (d, J=16,63 Гц, 1H), 5.74 (m, 1H), 5.32-5.42 (m, 1H), 5.11-5.27 (m, 2H), 4.68-4.73 (m, 1H), 4.60 (ушир. s, 1H), 4.51 (d, J=9,05 Гц, 1H), 4.31 (d, J=11,98 Гц, 1H), 4.07-4.15 (m, 1H), 3.02-3.11 (m, 1H), 2.31 (dd, J=15,96, 6,42 Гц, 1H).

^{31}P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 57.60 (s, 1P), 53.47 (s, 1P).

^{19}F ЯМР (376 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: -199.70 (s, 1F).

Пик 3, 15,25 мг; 17,5%;

ЖХ-МС [M+H]=677,00.

^1H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 8.27 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 7.73 (s, 1H), 6.45 (d, J=16,75 Гц, 1H), 6.27 (dd, J=50,25, 3,79 Гц, 1H), 5.46-5.53 (m, 1H), 5.04-5.18 (m, 2H), 4.93-5.09 (m, 1H), 4.61-4.67 (m, 2H), 4.55 (d, J=9,66 Гц, 1H), 4.41 (d, J=12,23 Гц, 1H), 4.06-4.14 (m, 1H), 2.94-3.09 (m, 1H), 2.20 (dd, J=15,47, 6,30 Гц, 1H).

^{31}P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 51.67 (ушир. s, 1P), 50.40 (s, 1P).

^{19}F ЯМР (376 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: -200.23 (s, 1F).

Пик 4, 5,73 мг; 6,6%;

ЖХ-МС (ЭР, m/z): 677,00 [M+H].

^1H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 8.26 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 6.44 (d, J=17,24 Гц, 1H), 5.73 (m., 1H), 5.41-5.51 (m, 1H), 5.05-5.20 (m, 2H), 4.70 (m, 1H), 4.61 (ушир. s, 1H), 4.51 (d, J=8,19 Гц, 1H), 4.38 (d, J=11,86 Гц, 1H), 4.01-4.16 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 2.15-2.29 (m, 1H).

^{31}P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: 51.91 (s, 1P), 51.56 (s, 1P).

^{19}F ЯМР (376 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ м.д.: -199.85 (s, 1F).

Пример 2

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он

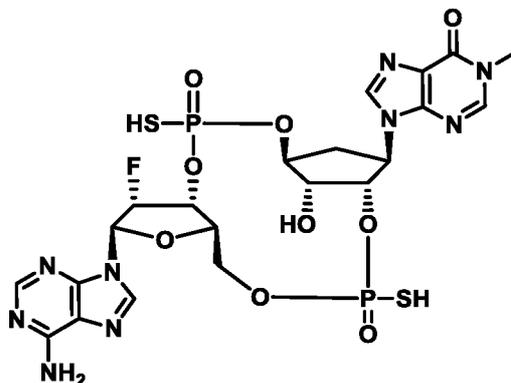
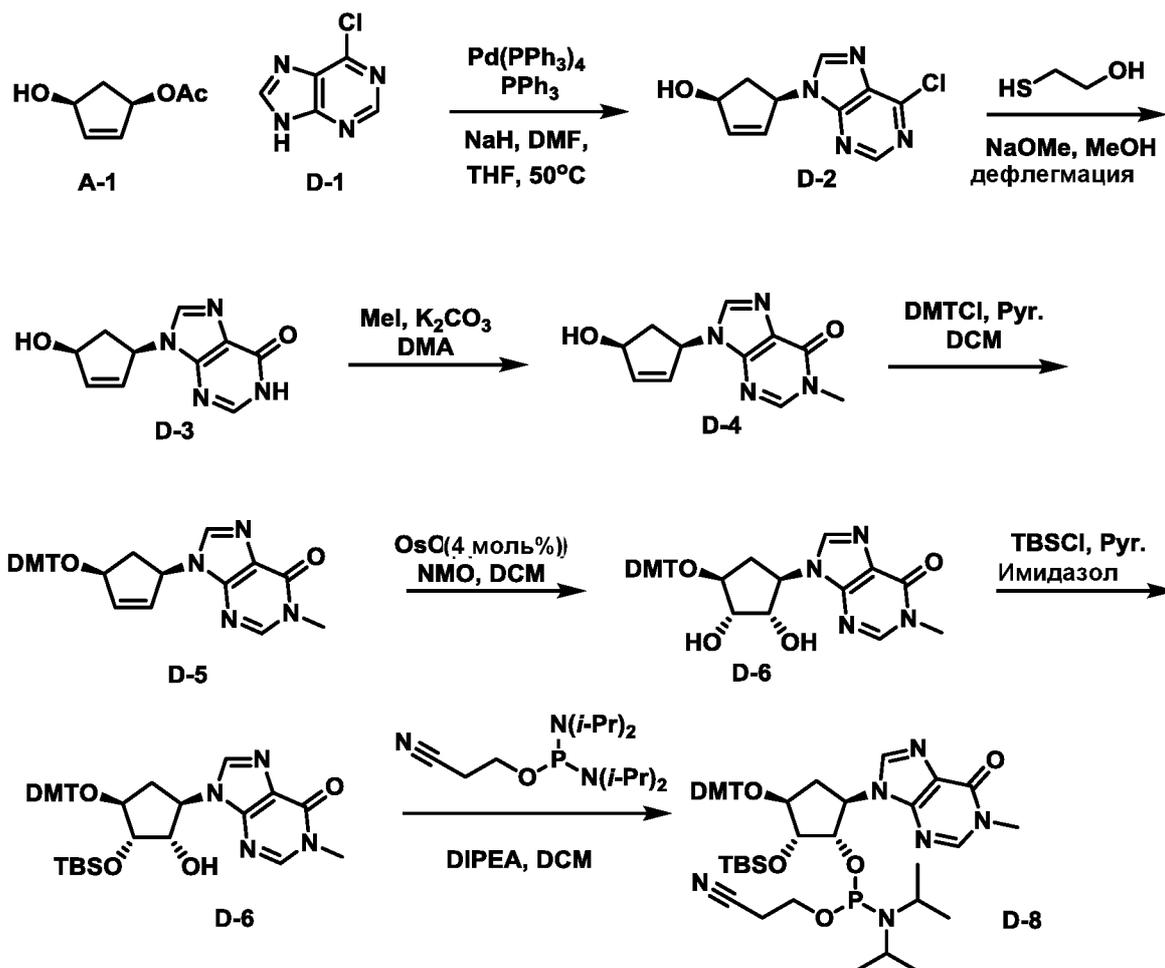


Схема D



Стадия 1: синтез (1*S*,4*R*)-4-(6-хлор-9*H*-пурин-9-ил)циклопент-2-ен-1-ола (**D-2**)

Смесь соединения **A-1** (1500 мг; 11 ммоль), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (610 мг; 0,53 ммоль) и PPh_3 (277 мг; 1,06 ммоль) в THF (6 мл) барботировали N_2 в течение 15 минут (колба А). В отдельной колбе (колба В) суспензию соединения **D-1** в смеси THF (30 мл) и DMA (5 мл) барботировали N_2 в течение 15 минут, затем добавляли NaH (60% (масс.) дисперсия в минеральном масле; 506 мг; 12,7 ммоль). Через 1,5 часа содержимое колбы А переносили в колбу В (ополаскивали 4 мл THF) и реакционную смесь нагревали при 50°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали; остаток растворяли в EtOAc и промывали водн. лимонной кислотой и рассолом. Объединенные водные фазы экстрагировали EtOAc (2×). Объединенные органические фазы сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный остаток очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO_2 , Isco; 0-5% MeOH/DCM) с получением соединения **D-2** (1,45 г; 58%) в виде пенистого желтого твердого вещества. ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]^+=237$ наблюдаемый; ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ м.д.: 8.79 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 6.24 (dt, $J=5,53$, 1,94 Гц, 1H), 6.00-6.11 (m, 1H), 5.60 (td, $J=5,14$, 1,96 Гц, 1H), 5.30 (d, $J=6,24$ Гц, 1H), 4.65-4.81 (m, 1H), 2.94 (ddd, $J=14,00$, 8,13, 7,34 Гц, 1H), 1.80 (dt, $J=14,03$, 4,48 Гц, 1H).

Стадия 2: синтез 9-[(1*R*,4*S*)-4-гидроксициклопент-2-ен-1-ил]-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-она (D-3)

К раствору соединения **D-2** (1,45 г; 7,03 ммоль) в MeOH (50 мл) добавляли меркаптоэтанол (1,97 мл; 28,1 ммоль) с последующим добавлением метилата натрия (1,52 г; 28,1 ммоль). После нагревания с обратным холодильником в течение 8 часов тепло отводили и реакционную массу оставляли выстаиваться в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали и использовали непосредственно на следующей стадии. ЖХ-МС [M+H]=219 наблюдаемый.

Стадия 3: синтез 9-[(1*R*,4*S*)-4-гидроксициклопент-2-ен-1-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-она (D-4)

К раствору соединения **D-3** (используемый неочищенным с предыдущей стадии) в DMF (47 мл) добавляли K₂CO₃ (3,39 г; 24,5 ммоль) с последующим добавлением метилйодида (0,655 мл; 10,5 ммоль). После перемешивания в течение ночи добавляли другие 2 экв. метилйодида (0,873 мл; 14,0 ммоль). Через 1 час реакционную смесь концентрировали. Остаток суспендировали в DCM и фильтровали для удаления твердых веществ. Маточный раствор концентрировали и очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO₂, Isco; 0-10% 7 н. NH₃ в MeOH/DCM) с получением соединения **D-4** (1,17 г; 72%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС [M+H]=233 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.39 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 6.19 (td, *J*=2,0, 5,5 Гц, 1H), 6.05-5.90 (m, 1H), 5.41 (dt, *J*=2,0, 5,2 Гц, 1H), 5.26 (d, *J*=6,4 Гц, 1H), 4.76-4.66 (m, 1H), 3.50 (s, 3H), 2.89 (ddd, *J*=7,3, 8,2, 13,9 Гц, 1H), 1.68 (td, *J*=4,5, 13,9 Гц, 1H).

Стадия 4: синтез 9-[(1*R*,4*S*)-4-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси]-циклопент-2-ен-1-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-она (D-5)

Соединение **D-4** (1,17 г; 5,04 ммоль) упаривали совместно с безводным пиридином (3×). Остаток последний раз растворяли в безводном пиридине (34 мл), добавляли DMTCI (1,96 г; 1,15 ммоль) и перемешивали в течение ночи. Пиридин удаляли под вакуумом, затем остаток растворяли в EtOAc и промывали водой и рассолом. Органические фазы сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный остаток очищали посредством флэш-хроматографии (80 г SiO₂, Isco; 0-5% MeOH/DCM) с получением соединения **D-5** (2,50 г; 93%) в виде желтого твердого вещества. ЖХ-МС [M+H]=535 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.36 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.44 (d, *J*=8,07 Гц, 2H), 7.28-7.36 (m, 6H), 7.19-7.29 (m, 1H), 6.91 (d, *J*=8,31 Гц, 4H), 5.97 (d, *J*=5,62 Гц, 1H), 5.46 (d, *J*=5,50 Гц, 1H), 5.24 (ушир. s, 1H), 4.60 (ушир. s, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.50 (s, 3H), 2.34-2.45 (m, 1H), 1.54 (dt, *J*=13,72, 4,69 Гц, 1H).

Стадия 5: синтез 9- $\{(1R,2S,3S,4S)\}$ -4-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси]-2,3-дигидроксициклопентил}-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-она (D-6)

К раствору соединения **D-5** (2,50 г; 4,68 ммоль) в DCM (31,2 мл) добавляли воду (3,12 мл), NMMO (1,64 г; 14,0 ммоль) и OsO₄ (2,5% (масс.) в ^tBuOH; 3,33 мл; 0,327 ммоль). После перемешивания в течение ночи реакционную смесь разбавляли EtOAc, затем промывали насыщенным Na₂SO₃ и рассолом. Органические фазы сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный остаток очищали посредством флэш-хроматографии (80 г SiO₂, Isco; 0-8% MeOH/DCM) с получением соединения **D-6** (2,37 г; 89%). ЖХ-МС [M+H]=569 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.34 (s, 1H), 8.06 (s, 1H), 7.38-7.49 (m, 2H), 7.27-7.36 (m, 6H), 7.19-7.26 (m, 1H), 6.89 (dd, *J*=9,05, 2,32 Гц, 4H), 5.01 (d, *J*=6,11 Гц, 1H), 4.74 (d, *J*=3,79 Гц, 1H), 4.41-4.58 (m, 2H), 3.80-3.87 (m, 1H), 3.73 (d, *J*=2,20 Гц, 6H), 3.56-3.62 (m, 1H), 3.50 (s, 3H), 1.84-1.97 (m, 1H), 1.36-1.55 (m, 1H).

Стадия 6: синтез 9- $\{(1R,2S,3S,4S)\}$ -4-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси]-3- $\{трет\}$ -бутил(диметил)силил]окси}-2-гидроксициклопентил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-она (D-7)

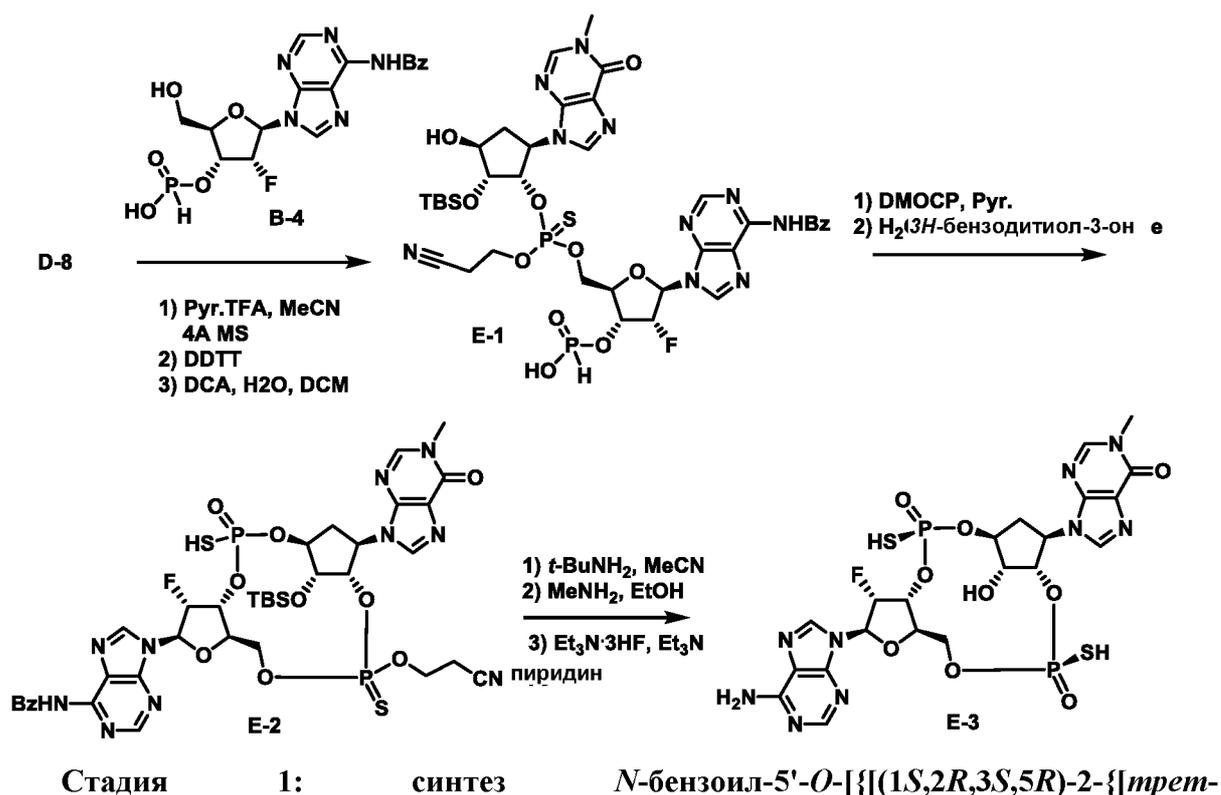
Соединение **D-6** (1,88 г; 3,31 ммоль) упаривали совместно с безводным пиридином (3×). Остаток растворяли в DMF (33 мл), добавляли имидазол (682 мг; 9,92 ммоль), затем TBSCl (747 мг; 4,96 ммоль) и перемешивали в течение ночи. DMF удаляли под вакуумом, затем остаток растворяли в EtOAc и промывали водой и рассолом. Органические фазы сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный остаток очищали посредством флэш-хроматографии (80 г SiO₂, Isco; 0-100% EtOAc/гептаны) с получением соединения **D-7** (793 мг; 35%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС [M+H]=683 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.34 (s, 1H), 8.01 (s, 1H), 7.42-7.49 (m, 2H), 7.28-7.37 (m, 6H), 7.20-7.27 (m, 1H), 6.85-6.93 (m, 4H), 5.12 (d, *J*=5,62 Гц, 1H), 4.63-4.71 (m, 1H), 4.46-4.56 (m, 1H), 3.78-3.84 (m, 2H), 3.73 (d, *J*=1,71 Гц, 6H), 3.51 (s, 3H), 2.08 (ddd, *J*=14,58, 10,30, 6,05 Гц, 1H), 1.29 (dd, *J*=14,37, 6,79 Гц, 1H), 0.82 (s, 9H), 0.04 (s, 3H), -0.06 (s, 3H).

Стадия 7: синтез (1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-3-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси]-2- $\{трет\}$ -бутил(диметил)силил]окси}-5-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)-циклопентил-2-цианоэтилдипропан-2-илфосфорамидоита (D-8)

К раствору соединения **D-7** (785 г; 1,15 ммоль) в DCM (23 мл) добавляли DIEA (601 мл; 3,45 ммоль) с последующим добавлением по каплям 3-((хлор(диизопропиламино)фосфанил)окси)пропаннитрила (385 мкл; 1,72 ммоль). Через 1 час по

каплям добавляли дополнительные 0,75 экв. 3-((хлор(диизопропиламино)-фосфанил)окси)пропаннитрила. Еще через час реакционную смесь разбавляли EtOAc и промывали насыщенным NaHCO₃ и рассолом. Органические фазы сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный остаток очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO₂, Isco; 0-100% EtOAc/гептаны) с получением соединения **D-8** (779 мг; 77%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС [M+H]=800 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.36 (d, *J*=1,83 Гц, 1H), 7.95 (d, *J*=14,18 Гц, 1H), 7.48 (d, *J*=7,95 Гц, 2H), 7.33 (td, *J*=5,84, 2,51 Гц, 6H), 7.22-7.29 (m, 1H), 6.87-6.95 (m, 4H), 4.69-4.92 (m, 2H), 3.85 (d, *J*=6,36 Гц, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.70 (ушир. s, 1H), 3.56-3.67 (m, 1H), 3.51 (d, *J*=6,24 Гц, 3H), 3.33-3.48 (m, 3H), 2.54-2.76 (m, 2H), 2.09-2.48 (m, 1H), 1.21-1.53 (m, 1H), 0.95-1.08 (m, 9H), 0.71-0.85 (m, 12H) 0.06 (d, *J*=19,32 Гц, 3H), -0.11 (d, *J*=10,51 Гц, 3H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H₃PO₄) δ м.д.: 148.32 (s, 1P), 146.67 (s, 1P).

Схема E



Стадия 1: синтез *N*-бензоил-5'-*O*-[[(1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-2-[[трет-бутил(диметил)силил]окси]-3-гидрокси-5-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)циклопентил]окси}(2-цианоэтокси)фосфоротиоил]-2'-деокси-2'-фтор-3'-*O*-[гидрокси(оксидо)-I⁵-фосфанил]аденозина (**E-1**)

Соединение **D-8** (709 мг; 0,803 ммоль) упаривали совместно с THF (3×). Последний раз растворяли в THF (20 мл), добавляли порошкообразные молекулярные сита и перемешивали в течение 1 часа (колба А). Смесь соединения **B-4** (351 мг;

0,803 ммоль) и рутФА (трифлат пиридиния) (930 мг; 4,82 моль) упаривали совместно с THF (3×). Последний раз растворяли в THF (20 мл), добавляли порошкообразные молекулярные сита и перемешивали в течение 1 часа (колба В). Затем содержимое колбы В добавляли в колбу А. Через 30 минут добавляли DDTT (330 мг; 1,61 ммоль). Еще через 30 минут реакционную смесь концентрировали и остаток суспендировали в DCM. Отфильтровывали молекулярные сита и концентрировали маточный раствор. Растворяли остаток в DCM (4 мл), добавляли несколько капель воды, затем раствор DCA (662 мкл; 8,03 ммоль) в DCM (4 мл), получая ярко-оранжевый раствор. Через 30 минут добавляли пиридин до исчезновения оранжевого цвета. Реакционную смесь концентрировали и очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO₂, Isco; 0-40% MeOH/DCM; затем 12 г SiO₂, Isco; 0-40% MeOH/DCM) с получением соединения **E-1** (227 мг; 30%). ЖХ-МС [M+H]=950 наблюдаемый; ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 67.93 (s, 1P), 65.55 (s, 1P), -0.34 (s, 1P), -0.68 (s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -200.59 (s, 1F), -201.37 (s, 1F).

Стадия 2: синтез *N*-{9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-15-{[трет-бутил(диметил)силил]окси}-9-(2-цианоэтокси)-14-фтор-6-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)-2-оксидо-2-сульфанил-9-сульфидооктагидро-11*H*-4,7-метанофуρο[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксадифосфациклотридецин-13-ил]-9*H*-пурин-6-ил}бензамида (E-2**)**

Соединение **E-1** (227 мг; 0,239 ммоль) упаривали совместно с безводным пиридином (3×). Остаток последний раз растворяли в безводном пиридине (12 мл), затем добавляли ДМОСР (221 мг; 1,20 ммоль). Через 1 час добавляли дополнительные 5 экв. ДМОСР. Через 4 часа добавляли воду (1,0 мл) с последующим добавлением 3*H*-1,2-бензодитиол-3-она (81 мг; 0,48 ммоль). Через 30 минут реакционную смесь гасили насыщенным NaHCO₃, концентрировали и очищали посредством флэш-хроматографии (24 г SiO₂, Isco; 0-40% MeOH/DCM) с получением соединения **E-2** (155 мг; 67%). ЖХ-МС: 4 пика с [M+H]=964 наблюдаемый; ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 67.40 (s, 1P), 67.02 (s, 1P), 63.92 (s, 1P), 63.80 (s, 1P), 49.90 (s, 1P), 49.83 (s, 1P), 49.38 (s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -195.70 (s, 1F), -196.27 (s, 1F), -196.54 (s, 1F), -196.55 (s, 1F).

Стадия 3: синтез 9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуρο[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксадифосфациклотридецин-6-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-она (E-3**)**

К раствору соединения **E-2** (260 мг; 0,270 ммоль) в ACN (6 мл) добавляли $t\text{BuNH}_2$. Через 15 минут реакционную смесь концентрировали и остаток растворяли в 33% MeNH₂ в EtOH (6 мл). Через 2 часа реакционную смесь концентрировали и остаток упаривали совместно со смесью пиридин:TEA 3:1 (2×). Остаток растворяли в пиридине (3 мл), добавляли TEA (300 мкл) с последующим добавлением тригидрофторида триэтиламина (2,2 мл; 13,5 ммоль) и нагревали до 50°C в течение ночи. Концентрировали, затем доводили pH до значения приблизительно 6 с помощью насыщенного NaHCO₃. Концентрировали, остаток суспендировали в DCM, твердые вещества отфильтровывали, затем концентрировали маточный раствор. Остаток очищали посредством препаративной ЖХВД с обращенной фазой (колонка Phenomenex Gemini C18 21,2×150 мм, 5 мкм), элюируя 5-10% MeCN в водн. NH₄HCO₃ (10 mM) с получением 4 диастереомеров. Соединения Пиков 3 и 4 повторно очищали при использовании тех же условий.

Пик 1:

25 мг; 13%;

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.44 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 7.40 (ушир. s, 2H), 6.29 (d, *J*=17,85 Гц, 2H), 5.43-5.60 (m, 1H), 5.07-5.16 (m, 1H), 4.97 (td, *J*=9,93, 5,93 Гц, 2H), 4.51-4.61 (m, 2H), 4.23 (d, *J*=8,56 Гц, 1H), 4.00 (ушир. s, 2H), 3.50 (s, 3H), 2.83 (ушир. s, 1H), 1.66 (dd, *J*=14,49, 5,81 Гц, 1H);

³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H₃PO₄) δ м.д.: 53.68 (s, 1P), 50.53 (s, 1P);

¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: -197.42 (s, 1F).

Пик 2:

32 мг; 16%;

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.44 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.40 (ушир. s, 2H), 6.28 (d, *J*=17,24 Гц, 1H), 6.02-6.20 (m, 1H), 5.06-5.15 (m, 1H), 4.95 (td, *J*=9,90, 5,50 Гц, 2H), 4.56 (ушир. s, 1H), 4.43 (t, *J*=5,26 Гц, 1H), 4.24 (d, *J*=8,44 Гц, 1H), 3.96-4.12 (m, 2H), 3.49 (s, 3H), 2.80 (ушир. s, 1H), 1.61 (dd, *J*=14,92, 5,50 Гц, 1H);

³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H₃PO₄) δ м.д.: 53.33 (s, 1P), 48.21 (s, 1P);

¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: -198.33 (s, 1F).

Пик 3:

34 мг; 16%;

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.41 (s, 1H), 8.36 (ушир. s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 7.40 (ушир. s, 2H), 6.29 (d, *J*=16,38 Гц, 1H), 6.04-6.22 (m, 1H), 5.12-5.26 (m,

1H), 4.77-4.96 (m, 2H), 4.37-4.48 (m, 2H), 4.28 (d, $J=8,80$ Гц, 1H), 4.18 (d, $J=11,98$ Гц, 1H), 4.02 (dd, $J=11,74, 5,50$ Гц, 1H), 3.50 (s, 3H), 2.86 (ушир. s, 1H), 1.52 (dd, $J=15,22, 5,81$ Гц, 1 H);

^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO- d_6 , внутренний стандарт H_3PO_4) δ м.д.: 49.42 (s, 1P), 48.13 (s, 1P);

^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO- d_6) δ м.д.: -199.27 (s, 1F).

Пик 4:

7 мг; 3,5%;

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ м.д.: 8.40 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.38 (ушир. s, 2H), 6.27 (d, $J=16,63$ Гц, 1H), 5.40-5.60 (m, 1H), 5.24 (d, $J=3,42$ Гц, 1H), 5.15-5.23 (m, 1H), 4.82-4.99 (m, 2H), 4.52 (t, $J=6,36$ Гц, 1H), 4.45 (ушир. s, 1H), 4.26 (d, $J=9,29$ Гц, 1H), 4.09-4.18 (m, 1H), 3.97-4.06 (m, 1H), 3.49 (s, 3H), 2.85 (t, $J=16,08$ Гц, 1H), 1.56 (dd, $J=14,67, 5,99$ Гц, 1 H);

^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO- d_6 , внутренний стандарт H_3PO_4) δ м.д.: 50.54 (s, 1P), 48.91(s, 1P);

^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO- d_6) δ м.д.: -198.50 (s, 1F).

Пример 3

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он

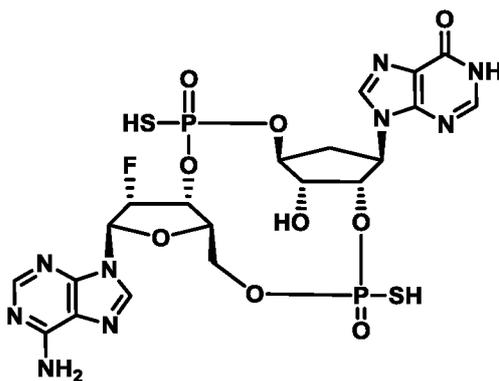
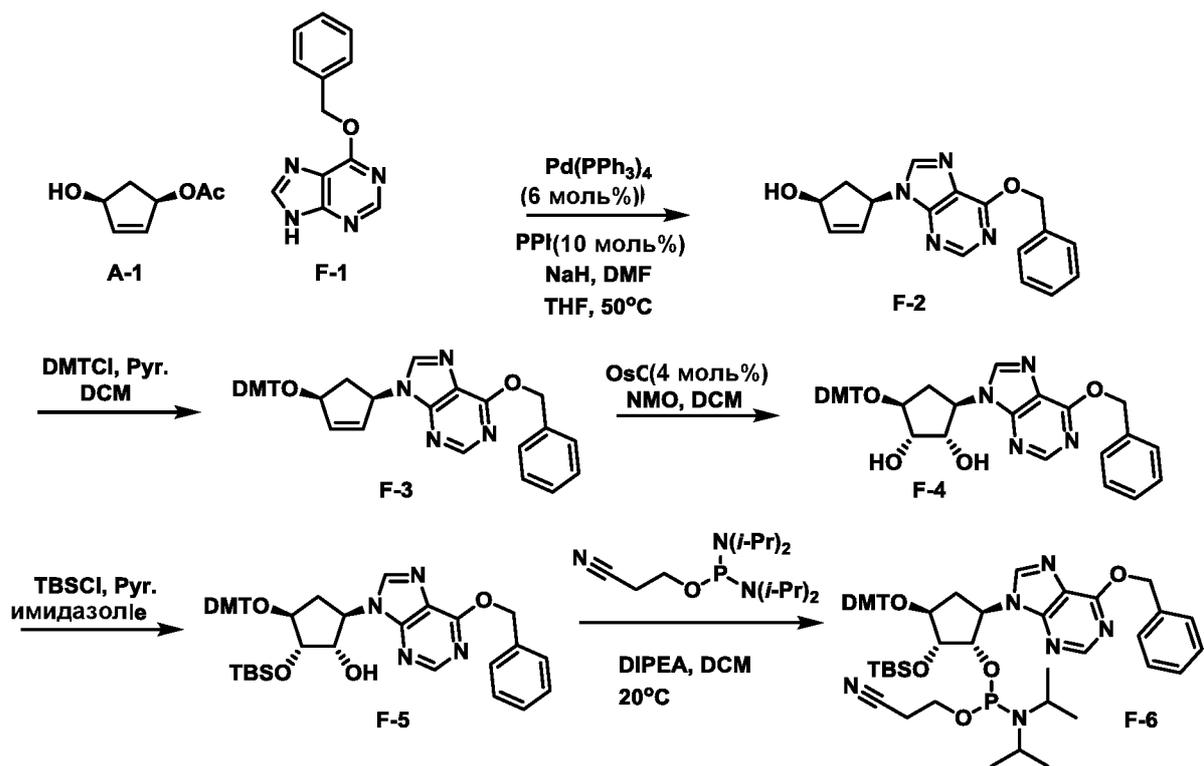


Схема F



Стадия 1: синтез (1S,4R)-4-(6-(бензилокси)-9H-пурин-9-ил)циклопент-2-ен-1-ола (F-2)

Соединение F-2 получали аналогично получению соединения A-3 при использовании 6-(бензилокси)-9H-пурина (F-1) вместо соединения A-2 на стадии 1 схемы A с выходом 67%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) $\delta=8,56$ (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.55-7.48 (m, 2H), 7.45-7.31 (m, 3H), 6.21 (td, $J=2,0, 5,5$ Гц, 1H), 6.09-5.99 (m, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.55 (dt, $J=2,0, 5,2$ Гц, 1H), 5.36 (d, $J=6,4$ Гц, 1H), 4.74 (td, $J=1,5, 3,1$ Гц, 1H), 3.00-2.84 (m, 1H), 1.75 (td, $J=4,4, 13,9$ Гц, 1H); ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]=309,0$.

Стадия 2: синтез 6-(бензилокси)-9-((1R,4S)-4-(бис(4-метоксифенил)(фенил)-14-оксиданил)циклопент-2-ен-1-ил)-9H-пурина (F-3)

Соединение F-3 получали аналогично получению соединения A-4 на стадии 2 схемы A с выходом 82%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) $\delta=8.54$ (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.51 (d, $J=7,0$ Гц, 2H), 7.47-7.35 (m, 5H), 7.35-7.28 (m, 6H), 7.26-7.20 (m, 1H), 6.90 (dd, $J=2,1, 9,0$ Гц, 4H), 6.00 (d, $J=6,0$ Гц, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.48-5.42 (m, 1H), 5.38 (t, $J=6,1$ Гц, 1H), 4.61 (t, $J=5,0$ Гц, 1H), 3.73 (d, $J=1,3$ Гц, 6H), 2.48-2.39 (m, 1H), 1.61 (td, $J=4,8, 13,8$ Гц, 1H); ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]=610,8$.

Стадия 3: синтез (1S,2S,3R,5S)-3-(6-(бензилокси)-9H-пурин-9-ил)-5-(бис(4-метоксифенил)(фенил)-14-оксиданил)циклопентан-1,2-диола (F-4)

Соединение **F-4** получали аналогично получению соединения **A-5** на стадии 3 **схемы А** с выходом 76%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ =8.55 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.53-7.44 (m, 4H), 7.40 (d, J =7,3 Гц, 3H), 7.36-7.27 (m, 6H), 7.26-7.18 (m, 1H), 6.88 (dd, J =3,1, 8,9 Гц, 4H), 5.63 (s, 2H), 5.04 (d, J =6,1 Гц, 1H), 4.77 (d, J =3,7 Гц, 1H), 4.68-4.55 (m, 2H), 3.86 (td, J =2,4, 4,6 Гц, 1H), 3.72 (d, J =2,8 Гц, 6H), 3.59 (ушир. s, 1H), 2.01-1.90 (m, 1H), 1.66-1.55 (m, 1H); ЖХ-МС [M+H]=645,8.

Стадия 4: синтез (1S,2S,3S,5R)-5-(6-(бензилокси)-9H-пурин-9-ил)-3-(бис(4-метоксифенил)(фенил)-14-оксиданил)-2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-циклопентан-1-ола (F-5)

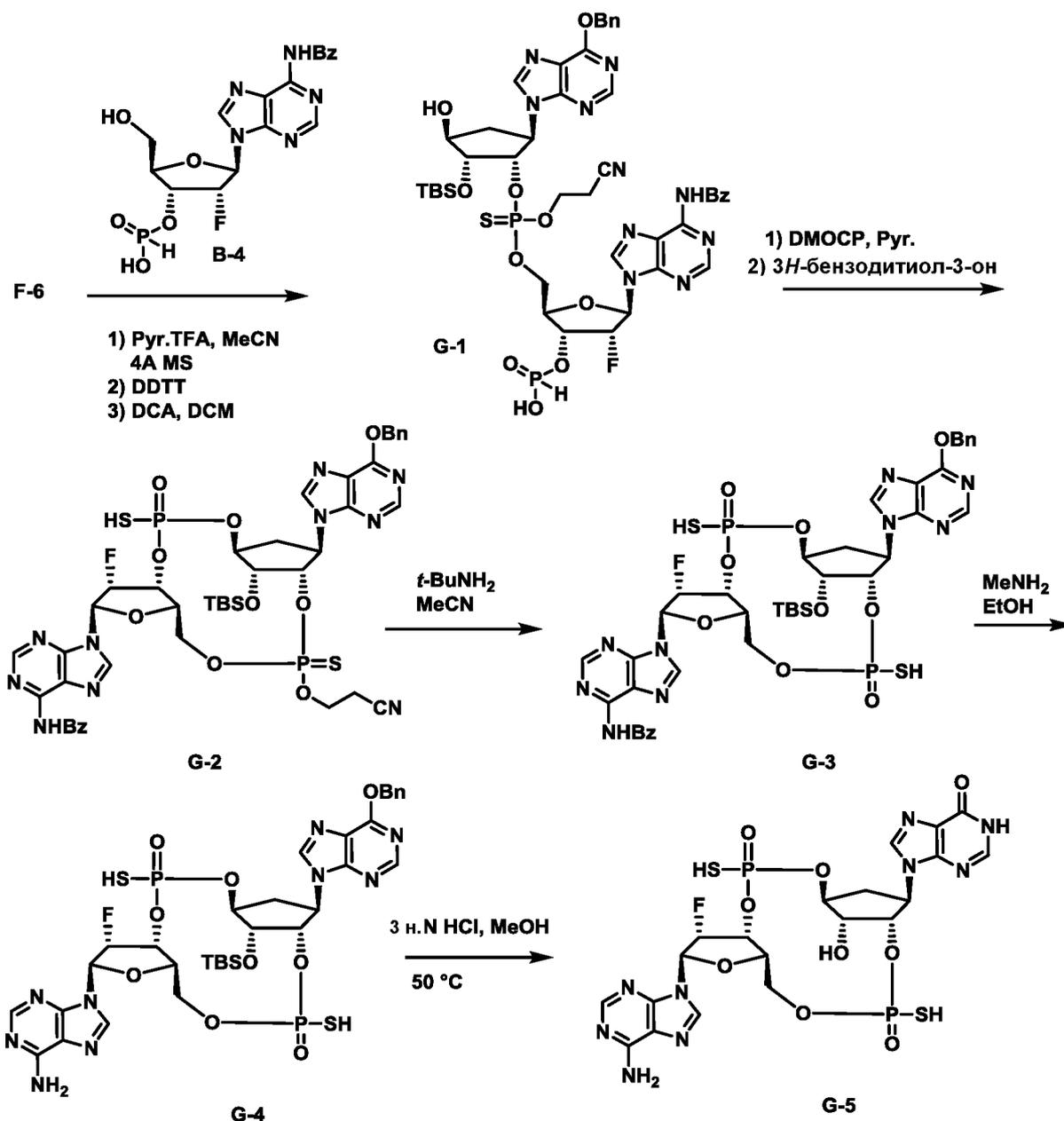
Соединение **F-5** получали аналогично получению соединения **A-6** на стадии 3 **схемы А** с выходом 35%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ =8.56 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.49 (dd, J =7,2, 14,1 Гц, 4H), 7.40 (d, J =7,3 Гц, 3H), 7.36-7.28 (m, 6H), 7.26-7.19 (m, 1H), 6.88 (dd, J =3,2, 8,9 Гц, 4H), 5.64 (s, 2H), 5.14 (d, J =5,5 Гц, 1H), 4.86-4.76 (m, 1H), 4.71-4.57 (m, 1H), 3.87-3.75 (m, 2H), 3.72 (d, J =2,3 Гц, 6H), 2.13 (ddd, J =6,4, 10,3, 14,7 Гц, 1H), 1.44 (dd, J =6,9, 14,4 Гц, 1H), 0.82 (s, 9H), 0.04 (s, 3H), -0.07 (s, 3H); ЖХ-МС [M+H]=758,8.

Стадия 5: синтез (1S,2R,3S,5R)-5-(6-(бензилокси)-9H-пурин-9-ил)-3-(бис(4-метоксифенил)(фенил)-14-оксиданил)-2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-циклопентил-(2-цианоэтил)-диизопропиламидофосфита (F-6)

Соединение **F-6** получали аналогично получению соединения **A-7** на стадии 3 **схемы А** с выходом 73%. ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO- d_6) δ =149.11 (ушир. s, 1P), 147.26 (s, 1P); ЖХ-МС [M+H]=959,0.

Схема G



Стадия 1: синтез (2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-((((((1S,2R,3S,5R)-5-(6-(бензилокси)-9H-пурин-9-ил)-2-((трет-бутилдиметилсилил)-окси)-3-гидроксициклопентил)окси)(2-цианоэтоксифосфорокси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (G-1)

Соединение G-1 получали аналогично получению соединения E-1 на стадии 1 схемы E с выходом 42%.

¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ=-201.22 (s, 1F), -201.70 (s, 1F); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ=68.34 (s, 1P), 65.79 (s, 1P), -0.03 (s, 1P), -0.15 (s, 1P); ЖХ-МС [M+H]=1025.

Стадия 2: синтез N-{9-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6-[6-(бензилокси)-9H-пурин-9-ил]-15-{{трет-бутил(диметил)силил}окси}-9-(2-цианоэтоксифосфорокси)-14-фтор-2-

оксидо-2-сульфанил-9-сульфидооктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]-тетраоксадифосфациклотридецин-13-ил]-9H-пурин-6-ил}бензамида (G-2)

Соединение **G-2** получали аналогично получению соединения **E-2** на стадии 2 **схемы E** с выходом 29%.

¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ=-194.72 (s, 1F), -196.58 (s, 1F), -196.67 (s, 1F), -196.96 (s, 1F); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ=67.91 (s, 1P), 67.60 (ушир. s, 1P), 63.96 (ушир. s, 1P), 63.78 (ушир. s, 1P), 51.01 (s, 2P), 49.48 (s, 1P), 48.94 (s, 1P); ЖХ-МС [M+H]=1039.

Стадия 3: синтез 9-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]тетраоксадифосфациклотридецин-6-ил]-1,9-дигидро-6H-пурин-6-она (G-5)

Соединение **G-2** обрабатывали аналогично обработке соединения **E-2** на стадии 3 **схемы E** с получением соединения **G-3** с последующим получением соединения **G-4**. В конце к раствору соединения **G-4** (156 мг; 0,18 ммоль) в MeOH (3,00 мл; с равно 0,06 M) добавляли 3 н. HCl (300 мг; 9 ммоль; 3,00 мл; 3 M). После добавления HCl образовывался белый осадок. Суспензию нагревали до 50°C. Во время нагревания реакционная смесь превращалась в гомогенный желтый раствор. Перемешивание продолжали при 50°C в течение 4,5 часа. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, затем нейтрализовали до значения pH 6 с помощью NaHCO₃ (насыщ.). Водную смесь лиофилизировали, затем очищали посредством препаративной ВЭЖХ с получением 4 диастереомеров.

Пик 1: 41 мг, выход 28%, 95% de, ¹H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ=8.43 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 6.49 (d, J=16,1 Гц, 1H), 5.73-5.57 (m, 1H), 5.52-5.42 (m, 1H), 5.24-5.09 (m, 2H), 4.60 (ушир. s, 1H), 4.52 (d, J=8,8 Гц, 1H), 4.33 (d, J=11,6 Гц, 1H), 4.12 (dd, J=6,4, 11,7 Гц, 1H), 3.13-2.99 (m, 1H), 2.30 (dd, J=5,6, 16,1 Гц, 1H), один необменный протон перекрывается пиком растворителя и не регистрируется. ¹⁹F ЯМР (376 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ=-199.99 (s, 1F); ³¹P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ=55.96 (ушир. s, 1P), 51.76 (s, 1P) (внутренний стандарт H₃PO₄); ЖХ-МС [M+H]=678.

Пик 2: 30 мг, выход 19%, 95% de, ¹H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) δ=8.45 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 6.49 (d, J=15,9 Гц, 1H), 6.33-6.14 (m, 1H), 5.55-5.43 (m, 1H), 5.13 (dd, J=10,9, 14,9 Гц, 2H), 4.64 (d, J=5,3 Гц, 1H), 4.61 (ушир. s, 1H), 4.55 (d, J=8,9 Гц, 1H), 4.36 (d, J=10,6 Гц, 1H), 4.16 (dd, J=5,9, 12,0 Гц, 1H), 3.10-2.97 (m, 1H),

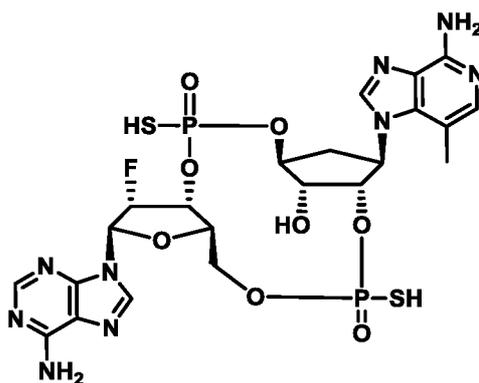
2.25 (dd, $J=5,8, 15,8$ Гц, 1H); ^{19}F ЯМР (376МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=-200.31$ (s, 1F); ^{31}P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=55.98$ (s, 1P), 50.38 (s, 1P) (H_3PO_4 внутренний стандарт); ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]=678$.

Пик 3: 8 мг, выход 7%, 93% de, ^1H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=8.30$ (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.47 (d, $J=16,5$ Гц, 1H), 6.33-6.15 (m, 1H), 5.60-5.50 (m, 1H), 5.18-5.06 (m, 2H), 4.63 (d, $J=2,6$ Гц, 2H), 4.55 (d, $J=9,7$ Гц, 1H), 4.43 (d, $J=12,3$ Гц, 1H), 4.13-4.03 (m, 1H), 3.07-2.94 (m, 1H), 2.19 (dd, $J=5,5, 15,8$ Гц, 1H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=-200.30$ (s, 1F); ^{31}P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=51.72$ (ушир. s, 1P), 50.31 (s, 1P) (H_3PO_4 внутренний стандарт); ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]=678$.

Пик 4: 8 мг, выход 6%, 93% de, ^1H ЯМР (400 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=8.29$ (ушир. s, 1H), 8.27 (ушир. s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.65 (ушир. s, 1H), 6.47 (d, $J=16,0$ Гц, 1H), 5.75-5.46 (m, 2H), 5.13 (ушир. s, 2H), 4.69 (ушир. s, 1H), 4.62 (ушир. s, 1H), 4.53 (d, $J=7,8$ Гц, 1H), 4.40 (d, $J=10,8$ Гц, 1H), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.04 (ушир. s, 1H), 2.23 (d, $J=15,4$ Гц, 1H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=-199.96$ (ушир. s, 1F); ^{31}P ЯМР (162 МГц, ОКСИД ДЕЙТЕРИЯ) $\delta=53.04$ (ушир. s, 1P) (наблюдали только один пик, H_3PO_4 внутренний стандарт); ЖХ-МС $[\text{M}+\text{H}]=678$.

Пример 4

2,9-Диоксид (4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-6-(4-амино-7-метил-1*H*-имидазо[4,5-*c*]пиридин-1-ил)-13-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]-тетраоксиадифосфациклотридецин-15-ола

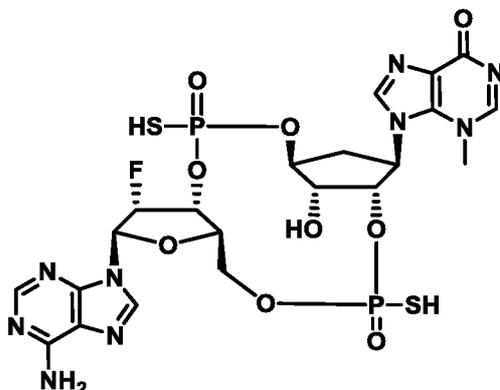


Соединение по **Примеру 4** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании N-(7-метил-1*H*-имидазо[4,5-*c*]пиридин-4-ил)бензамида вместо соединения **A-2** на стадии 1 **Схемы А**.

Пример 5

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-

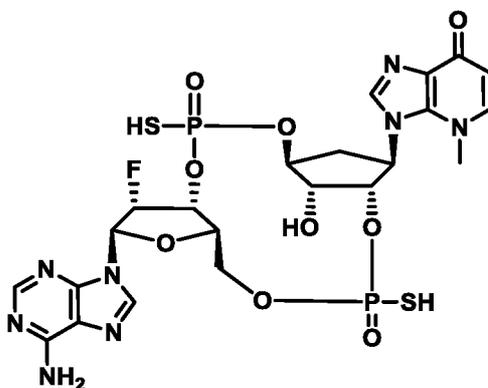
d[[1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]-3-метил-3,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он



Соединение по **Примеру 5** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании 3-метил-3,9-дигидро-6*H*-пурин-6-она вместо соединения **A-2** на стадии 1 **Схемы А**.

Пример 6

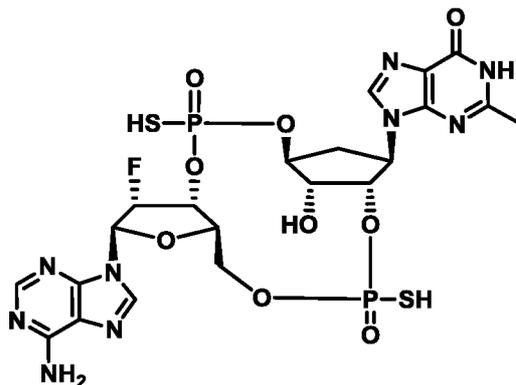
3-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]-4-метил-3,4-дигидро-7*H*-имидазо[4,5-*b*]пиридин-7-он



Соединение по **Примеру 6** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании 4-метил-3,4-дигидро-7*H*-имидазо[4,5-*b*]пиридин-7-она вместо соединения **A-2** на стадии 1 **Схемы А**.

Пример 7

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]-2-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он



Соединение по **Примеру 7** получали аналогично получению соединения по **Примеру 3** при использовании 6-(бензилокси)-2-метил-9Н-пурина вместо соединения **F-1** на стадии 1 **Схемы F**.

Пик 1: ^1H ЯМР (400 МГц, Метанол- d_4) δ 8.72 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.25 (s, 2H), 6.42 (d, $J=15,8$ Гц, 1H), 5.62 (dd, $J=50,8, 3,7$ Гц, 1H), 5.46 (ddd, $J=13,1, 9,1, 2,8$ Гц, 1H), 5.28- 5.14 (m, 2H), 4.80 (t, $J=6,2$ Гц, 1H), 4.68 (s, 1H), 4.46 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 4.43- 4.35 (m, 1H), 4.18 (dd, $J=11,8, 5,7$ Гц, 1H), 3.09- 2.96 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.11 (dd, $J=15,1, 6,0$ Гц, 1H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, MeOD) δ -200.3; ^{31}P ЯМР (162 МГц, MeOD) δ 59.20, 55.02; ЖХ-МС [M+H]=692.

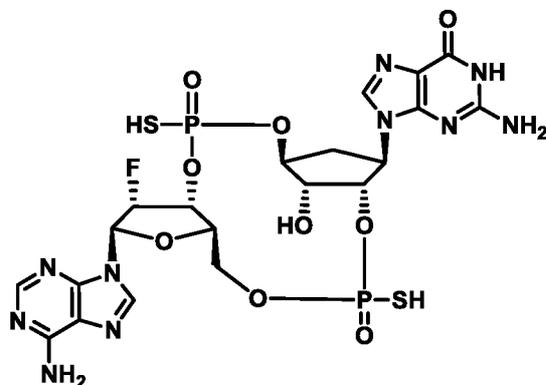
Пик 2: ^1H ЯМР (400 МГц, Метанол- d_4) δ 8.73 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 6.41 (d, $J=15,5$ Гц, 1H), 6.22 (dd, $J=50,3, 3,6$ Гц, 1H), 5.57- 5.48 (m, 1H), 5.23-5.09 (m, 2H), 4.70 (s, 1H), 4.71-4.63 (m, 1H), 4.45 (dd, $J=16,5, 10,9$ Гц, 2H), 4.23 (dd, $J=11,7, 5,6$ Гц, 1H), 2.95 (ddd, $J=11,8, 8,3, 4,7$ Гц, 1H), 2.14 (dd, $J=15,1, 6,0$ Гц, 1H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, MeOD) δ -201.4; ^{31}P ЯМР (162 МГц, MeOD) δ 59.33, 53.25; ЖХ-МС [M+H]=692.

Пик 3: ^1H ЯМР (400 МГц, Метанол- d_4) δ 8.38 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 6.29 (d, $J=16,2$ Гц, 1H), 6.12 (dd, $J=50,3, 3,4$ Гц, 1H), 5.36 (t, $J=9,4$ Гц, 1H), 5.13-4.88 (m, 2H), 4.59 (d, $J=5,8$ Гц, 2H), 4.34 (t, $J=10,5$ Гц, 2H), 4.18 (dd, $J=12,4, 6,4$ Гц, 1H), 2.93-2.77 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 1.98 (d, $J=15,0$ Гц, 1H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, MeOD) δ -201.2; ^{31}P ЯМР (162 МГц, MeOD) δ 54.06, 52.75; ЖХ-МС [M+H]=692.

Пик 4: ^1H ЯМР (400 МГц, Метанол- d_4) δ 8.35 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 6.28 (d, $J=16,5$ Гц, 1H), 5.49 (dd, $J=51,1, 3,6$ Гц, 1H), 5.25 (td, $J=9,2, 2,8$ Гц, 1H), 5.11 (td, $J=10,3, 9,8, 5,7$ Гц, 1H), 4.96 (ddt, $J=23,4, 9,3, 4,8$ Гц, 1H), 4.70 (t, $J=6,2$ Гц, 1H), 4.58 (s, 1H), 4.37-4.27 (m, 2H), 4.17 (dd, $J=12,3, 6,8$ Гц, 1H), 2.92 (dddd, $J=14,8, 10,4, 6,1, 3,3$ Гц, 1H), 2.19 (s, 3H), 1.92-1.86 (m, 1H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, MeOD) δ -200.8; ^{31}P ЯМР (162 МГц, MeOD) δ 55.16, 53.92; ЖХ-МС [M+H]=692.

Пример 8

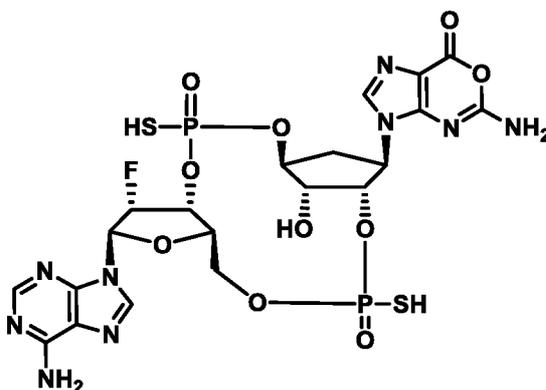
2-Амино-9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он



Соединение по **Примеру 8** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании N-(6-(бензилокси)-9*H*-пурин-2-ил)бензамида вместо соединения **A-2** на стадии 1 **Схемы А**.

Пример 9

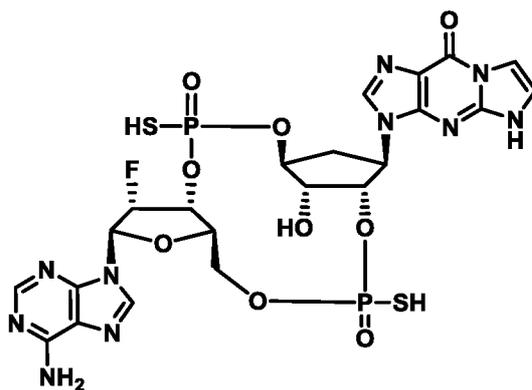
5-Амино-3-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]имидазо[4,5-*d*][1,3]оксазин-7(3*H*)-он



Соединение по **Примеру 9** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании N-(7-оксо-3,7-дигидроимидазо[4,5-*d*][1,3]оксазин-5-ил)бензамида вместо соединения **A-2** на стадии 1 **Схемы А**.

Пример 10

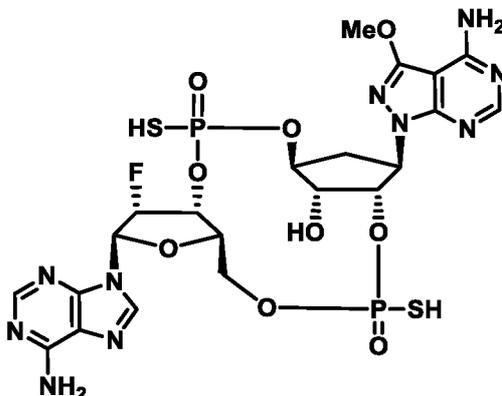
3-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксидифосфациклотридецин-6-ил]-3,5-дигидро-9*H*-имидазо[1,2-*a*]пурин-9-он



Соединение по **Примеру 10** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании N-(6-(бензилокси)-9H-пурин-2-ил)бензамида вместо соединения **A-2** на стадии 1 **Схемы А**.

Пример 11

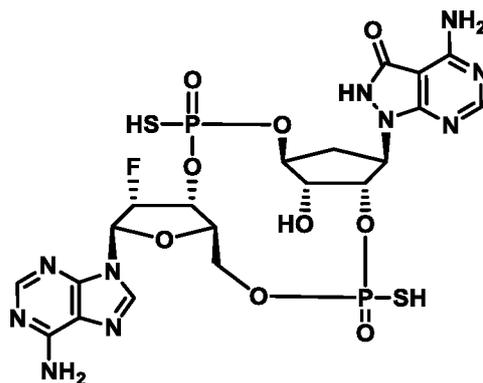
2,9-Диоксид (4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-6-(4-амино-3-метокси-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-1-ил)-13-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]-тетраоксиадифосфациклотридецин-15-ола



Соединение по **Примеру 11** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании N-(3-метокси-1H-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)бензамида вместо соединения **A-2** на стадии 1 **Схемы А**.

Пример 12

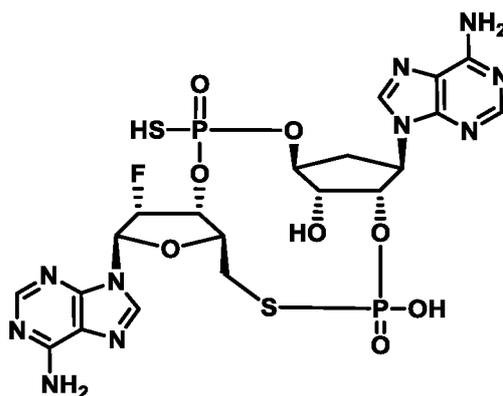
4-Амино-1-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-диоксидо-2,9-дисульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксиадифосфациклотридецин-6-ил]-1,2-дигидро-3*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-3-он



Соединение по **Примеру 12** получали аналогично получению соединения по **Примеру 11** при использовании дополнительной стадии снятия защиты после стадии 5 **Схемы С**.

Пример 13

2,9-Диоксид (4*S*,6*R*,7*S*,11*aS*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-6,13-бис(6-амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-2-сульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,9,7,2,8]-триоксатиадифосфациклотридецин-9,15-диола

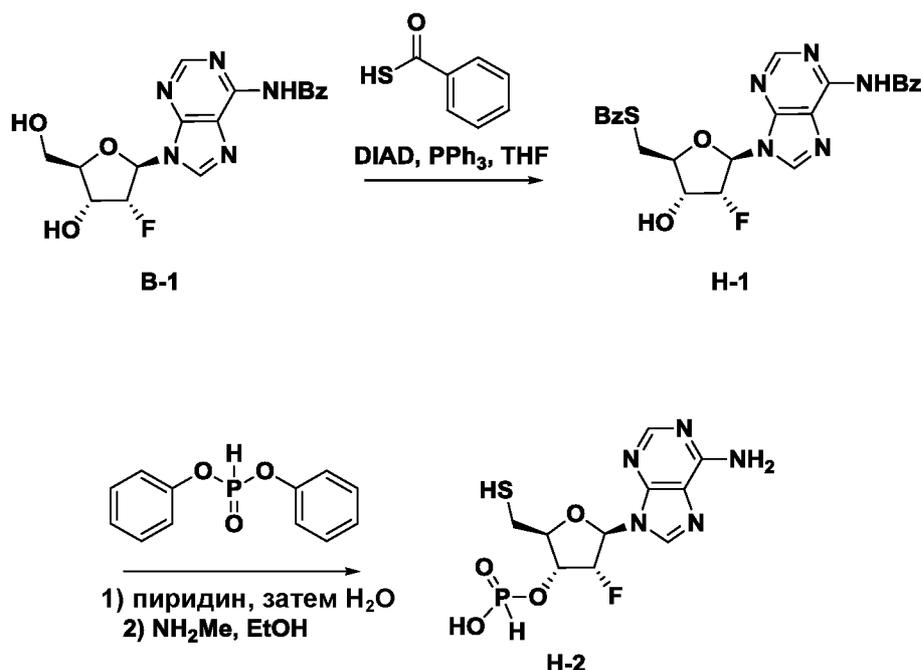


Соединение по **Примеру 13** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании (2*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-бензамидо-9*H*-пурин-9-ил)-4-фтор-2-(меркаптометил)тетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (**Н-2**, **Схема Н**) вместо соединения **В-4**, тетразола вместо трифлата пиридиния (pyTFA) и tBuOOH вместо DDT на стадии 1 **Схемы С**.

Пик 1: 30 мг; 24%; ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*6) δ м.д.: 8.33 (s, 1H), 8.23 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 6.15-6.26 (m, 1H), 5.66-5.85 (m, 1H), 5.08-5.24 (m, 2H), 4.98-5.07 (m, 1H), 4.77 (t, $J=7,40$ Гц, 1H), 4.35 (ушир. s, 2H), 3.42 (d, $J=14,31$ Гц, 1H), 3.16-3.20 (m, 1H), 2.84 (ушир. s, 1H), 2.57 (q, $J=7,25$ Гц, 1H), 1.79 (ушир. s, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*6, внутренний стандарт H_3PO_4) δ м.д.: 51.14 (s, 1P) 9.89 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*6) δ м.д.: -194.39 (s, 1F).

Пик 2: 18 мг; 15%; ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ м.д.: 8.39 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 6.05-6.26 (m, 2H), 5.12-5.27 (m, 2H), 4.93-5.03 (m, 1H), 4.62 (t, $J=6,30$ Гц, 1H), 4.31-4.42 (m, 2H), 3.41 (d, $J=15,04$ Гц, 1H), 3.10 (t, $J=11,68$ Гц, 1H), 2.85 (ушир. s, 1H), 1.68 (d, $J=5,99$ Гц, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, $\text{DMSO-}d_6$, внутренний стандарт H_3PO_4) δ м.д.: 48.59 (s, 1P) 10.51 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ м.д.: -195.78 (s, 1F).

Схема Н



Стадия 1: синтез *N*-бензоил-5'-*S*-бензоил-2'-дезоксид-2'-фтор-5'-тиоаденозина (H-1)

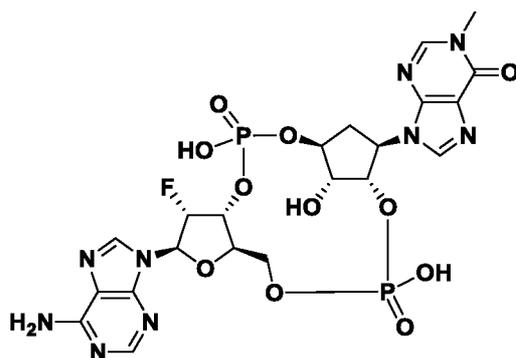
К суспензии соединения **B-1** (2,00 г; 5,36 ммоль) и тиобензойной кислоты (1,11 г; 8,04 ммоль) в THF (50 мл) добавляли раствор DIAD (1,48 мл; 7,50 ммоль) и PPh₃ (1,97 г; 7,50 ммоль) в THF (5 мл). После перемешивания в течение ночи реакционную смесь разбавляли EtOAc и промывали водой и рассолом. Органические фазы сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный остаток очищали посредством флэш-хроматографии (80 г SiO₂, Isco; 0-100% EtOAc/гептаны) с получением соединения **H-1** (2,1 г; 79%). ЖХ-МС [M+H]=494 наблюдаемый; ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO-}d_6$) δ м.д.: 11.21 (ушир. s, 1H), 8.74 (s, 1H), 8.65 (s, 1H), 7.98-8.10 (m, 2H), 7.83-7.93 (m, 2H), 7.62-7.72 (m, 2H), 7.50-7.61 (m, 4H), 6.39 (dd, $J=19,20, 2,20$ Гц, 1H), 5.97 (d, $J=6,24$ Гц, 1H), 5.61-5.79 (m, 1H), 4.61-4.76 (m, 1H), 4.11-4.22 (m, 1H), 3.67 (dd, $J=14,06, 4,28$ Гц, 1H), 3.44 (dd, $J=13,94, 7,21$ Гц, 1H).

Стадия 2: синтез (2S,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-4-фтор-2-(меркаптометил)тетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (Н-2)

Соединение **Н-1** (1,00 г; 2,03 ммоль) упаривали совместно с безводным пиридином (3×), затем остаток растворяли последний раз в безводном пиридине (20,0 мл). Раствор охлаждали на бане с ледяной водой с последующим добавлением дифенилфосфоната (770 мкл; 4,05 ммоль). Ледяную баню удаляли и реакционную смесь перемешивали в течение 2,5 часа. Добавляли еще 1 экв. дифенилфосфоната и через 1 час реакционную смесь гасили 1 М ТЕАВ (выделялся газ). Экстрагировали DCM (4×), органические фазы сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Остаток растворяли в 33% MeNH₂ в EtOH (10 мл). Через 30 минут реакционную смесь концентрировали и неочищенный остаток очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO₂, Isco; 0-100% MeOH/DCM) с получением соединения **Н-2** (2,1 г; 79%). ЖХ-МС [M+H]=350 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.35 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.36 (s, 2H), 6.24 (dd, J=2,6, 18,2 Гц, 1H), 5.68-5.49 (m, 1H), 4.95-4.81 (m, 1H), 4.16-4.09 (m, 1H), 3.01-2.93 (m, 1H), 2.86 (dd, J=6,1, 14,1 Гц, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 0.28 (s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -201.15 (s, 1F).

Пример 14

9-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-Амино-9H-пурин-9-ил)-14-фтор-2,9,15-тригидрокси-2,9-диоксидооктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9,2,8]-тетраоксадифосфациклотридецин-6-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он

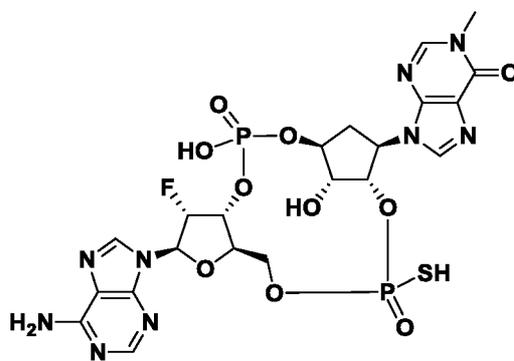


Соединение по **Примеру 14** получали аналогично получению соединения по **Примеру 2** при использовании ЕТТ вместо рuTFA, DCM вместо THF и ^tBuOOH вместо DDTT на стадии 1 и йода вместо 3H-бензодитиол-3-она на стадии 2 **Схемы Е**. Неочищенное вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии (колонка Phenomenex Luna Omega 5 мкм Polar, подвижная фаза А: H₂O w/10 mM NH₄OAc, подвижная фаза В: MeCN) с получением требуемого продукта (11 мг; выход 13,8%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.32 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 6.27 (d, $J=18,5$ Гц, 1H), 5.59-5.39 (m, 1H), 5.15-5.07 (m, 1H), 4.96-4.80 (m, 2H), 4.51-4.48 (m, 1H), 4.31-4.25 (m, 1H), 4.23-4.17 (m, 1H), 4.11-4.05 (m, 2H), 3.46 (s, 3H), 2.90-2.76 (m, 1H), 1.75-1.67 (m, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H_3PO_4) δ м.д.: -3.42 (s, 1P), -6.58 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: -198.30 (s, 1F).

Пример 15

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-2,15-дигидрокси-2,9-диоксидо-9-сульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофурос[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксадифосфациклотридецин-6-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он



Соединение по **Примеру 15** получали аналогично получению соединения по **Примеру 2** при использовании ЕТТ вместо рутФА и DCM вместо THF на стадии 1 и йода вместо 3*H*-бензодитиол-3-она на стадии 2 **Схемы Е**. Неочищенное вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии (колонка Phenomenex Gemini NX-C18 3 мкм, подвижная фаза А: H_2O w/10 mM NH_4OAc , подвижная фаза В: MeCN) с получением двух диастереомерных продуктов.

Пик 1

15 мг; выход 20%

^1H ЯМР (400 МГц, D_2O) δ м.д.: 8.49 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.80 (s, 1H), 6.55 (d, $J=16,0$ Гц, 1H), 5.78-5.66 (m, 1H), 5.66-5.60 (m, 2H), 5.18-5.11 (m, 2H), 4.70-4.59 (m, 1H), 4.59-4.54 (m, 1H), 4.43-4.37 (m, 1H), 4.25-4.17 (m, 1H), 3.56 (s, 3H), 3.13-3.03 (m, 1H), 2.31-2.23 (m, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H_3PO_4) δ м.д.: 53.77 (s, 1P), -6.21 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: -198.24 (s, 1F).

Пик 2

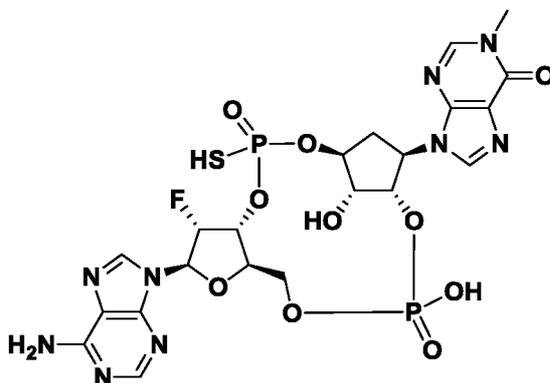
27 мг; выход 29%

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.33 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 6.28 (d, $J=18,1$ Гц, 1H), 5.55-5.38 (m, 1H), 5.35-5.24 (m, 1H), 4.95-4.86 (m, 2H), 4.86-

4.79 (m, 1H), 4.51-4.47 (m, 1H), 4.29-4.22 (m, 2H), 4.12-4.08 (m, 1H), 3.46 (s, 3H), 2.87-2.76 (m, 1H), 1.75-1.71 (m, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H₃PO₄) δ м.д.: 49.60 (s, 1P), -6.27 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: -199.37 (s, 1F).

Пример 16

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-9,15-дигидрокси-2,9-диоксидо-2-сульфанилоктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксациклофосфатридецин-6-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он



Соединение по **Примеру 16** получали аналогично получению соединения по **Примеру 2** при использовании ЕТТ вместо рuTFA, DCM вместо THF и $^4\text{BuOOH}$ вместо DDTT на стадии 1 **Схемы Е**. Неочищенное вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии (колонка Phenomenex Gemini NX-C18 3 мкм, подвижная фаза А: H₂O w/10 mM NH₄OAc, подвижная фаза В: MeCN) с получением двух диастереомерных продуктов.

Пик 1

11 мг; выход 8,5%

^1H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ м.д.: 8.36 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 7.71 (s, 1H), 6.53 (d, *J*=16,4 Гц, 1H), 5.80-5.60 (m, 3H), 5.25-5.11 (m, 2H), 4.68 (m, 1H), 4.59-4.53 (m, 1H), 4.43 (m, 1H), 4.20-4.13 (m, 1H), 3.55 (s, 3H), 3.14-3.02 (m, 1H), 2.26-2.18 (m, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H₃PO₄) δ м.д.: 50.40 (s, 1P), -3.59 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) м.д.: -197.41 (s, 1F).

Пик 2

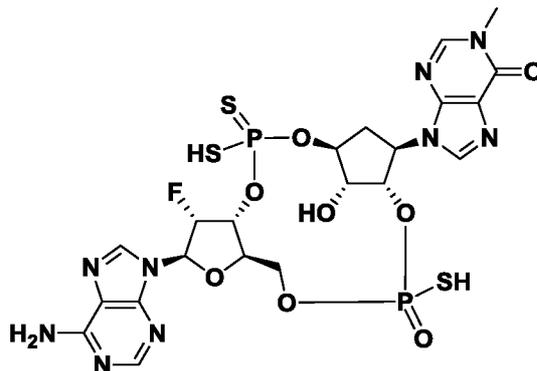
32 мг; выход 24,3%

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆) δ м.д.: 8.35 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 6.27 (d, *J*=17,4 Гц, 1H), 6.20-6.01 (m, 1H), 5.07-4.99 (m, 1H), 4.98-4.83 (m, 2H), 4.48-4.37 (m, 2H), 4.26-4.19 (m, 1H), 4.17-4.09 (m, 1H), 4.08-3.99 (m, 1H), 3.47 (s, 3H), 2.90-2.79

(m, 1H), 1.68-1.60 (m, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-*d*₆, внутренний стандарт H₃PO₄) δ 48.53 (s, 1P), -3.30 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-*d*₆) -198.19 (s, 1F).

Пример 17

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-9-оксидо-2,9-дисульфанил-2-сульфидооктагидро-11*H*-4,7-метанофуру[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]тетраоксацидифосфациклотридецин-6-ил]-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он



Соединение по **Примеру 17** получали аналогично получению соединения по **Примеру 1** при использовании соединения **I-1** (*N*-бензоил-2'-дезоксидеокси-2'-фтор-3'-*O*-[гидрокси(сульфило)-I⁵-фосфанил]аденозин) вместо соединения **B-4**, ЕТТ вместо рУТФА, DCM вместо THF на стадии 1 и DPPCl вместо ДМОСР на стадии 2 **Схемы С**.

Очистка: колонка Phenomenex Gemini NX-C18 3 мкм, подвижная фаза А: H₂O w/10 mM NH₄OAc, подвижная фаза В: MeCN.

Пик 1

7,4 мг; выход 7,7%

^1H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ м.д.: 8.51 (s, 1H), 8.33 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 6.56 (d, *J*=15,6 Гц, 1H), 6.47-6.28 (m, 1H), 5.80-5.69 (m, 1H), 5.40-5.26 (m, 1H), 5.22-5.10 (m, 2H), 4.65-4.62 (m, 1H), 4.62-4.56 (m, 1H), 4.46-4.39 (m, 1H), 4.24-4.16 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.17-3.03 (m, 1H), 2.33-2.22 (m, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, D₂O, внутренний стандарт H₃PO₄) δ 108.39 (s, 1P), 56.07 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, D₂O) -199.57 (s, 1F).

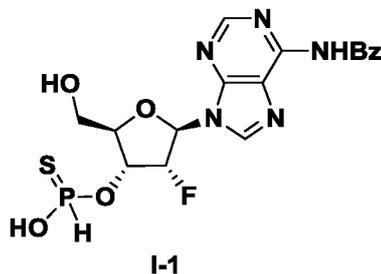
Пик 2

9,4 мг; выход 8,5%

^1H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ м.д.: 8.36 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.69 (s, 1H), 6.54 (d, *J*=16,0 Гц, 1H), 6.46-6.30 (m, 1H), 5.86-5.75 (m, 1H), 5.34-5.20 (m, 2H), 5.16-5.10 (m, 1H), 4.68-4.64 (m, 1H), 4.63-4.58 (m, 1H), 4.53-4.45 (m, 1H), 4.17-4.08 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.16-2.99 (m, 1H), 2.27-2.17 (m, 1H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, D₂O, внутренний стандарт H₃PO₄) δ 108.06 (s, 1P), 51.78 (s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, D₂O) -199.73 (s, 1F).

Соединение I-1

N-Бензоил-2'-дезоксигуанозин-2'-фтор-3'-*O*-[гидрокси(сульфило)-I⁵-фосфанил]аденозин



Соединение I-1 получали аналогично получению соединения B-4 согласно методам, описанным в литературе (Jones et al. Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids 2009, 28, 352-378), при использовании дифенилфосфоната вместо ди-*трет*-бутилфосфоната и Li₂S вместо воды на стадии 2 Схемы В.

Пример 18

9-((4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-Амино-9*H*-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-димеркапто-2,9-дисульфидооктагидро-11*H*-4,7-метанофуоро[3,2-*d*][1,3,7,9]тетраокса[2,8]дифосфациклотридецин-6-ил)-1-метил-1,9-дигидро-6*H*-пурин-6-он (J-5)

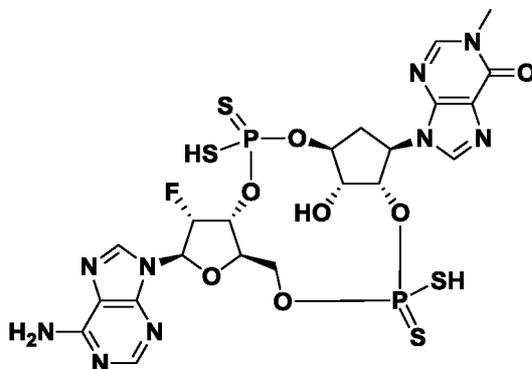
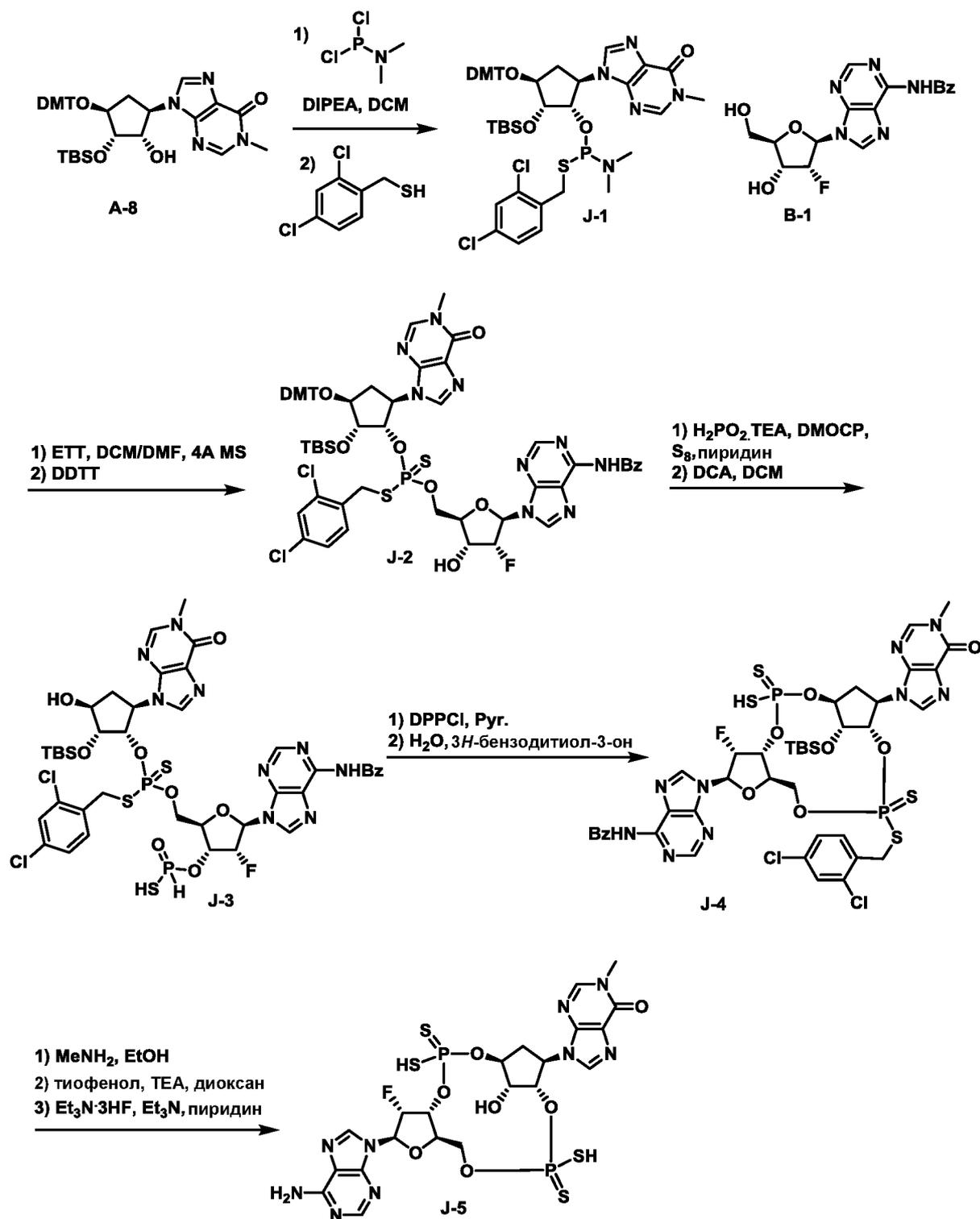


Схема J



Стадия 1: синтез *O*-[(1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-3-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси]-2-
 {*трет*-бутил(диметил)силил]окси}-5-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9*H*-пурин-9-ил)-
 циклопентил]-*S*-[(2,4-дихлорфенил)метил]-*N,N*-диметилфосфорамидотиоита (J-1)

Все растворы содержали порошкообразные молекулярные сита. К охлажденному
 (баня с ледяной водой) раствору *N,N*-диметилфосфорамиддихлорида (0,34 мл; 2,9 ммоль)
 в DCM (10 мл) добавляли раствор соединения A-8 (1,0 г; 1,5 ммоль) и DIEA (2,0 мл; 12

ммоль) в DCM (10 мл). Через 1 час добавляли раствор (2,4-дихлорфенил)метантиола (0,83 мл; 5,9 ммоль) в DCM (5 мл) и ледяную баню удаляли. Через 1 час молекулярные сита удаляли посредством фильтрации и фильтрат концентрировали, затем очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO₂, Isco; 0-100% EtOAc/гептаны) с получением соединения **J-1** (790 мг; 57%) в виде белого твердого вещества. ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 174.12, 169.6.

Стадия 2: синтез N-бензоил-5'-O-(((1S,2R,3S,5R)-3-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метокси]-2-{[трет-бутил(диметил)силил]окси}-5-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9H-пурин-9-ил)циклопентил]окси){[(2,4-дихлорфенил)метил]-сульфанил}фосфоротиоил)окси){[(2,4-дихлорфенил)метил]сульфанил}-фосфоротиоил)-2'-дезоксидезокси-2'-фтораденозина (J-2**)**

Смесь соединения **J-1** (1,3 г; 1,3 ммоль) и порошкообразных молекулярных сит в DCM (13 мл) перемешивали в течение 20 минут (колба А). В отдельной колбе смесь соединения **B-1** (540 мг; 1,5 ммоль), ЕТТ (1,3 г; 9,9 ммоль) и порошкообразных молекулярных сит в DMF (13 мл) перемешивали в течение 20 минут (колба В). Содержимое колбы В затем добавляли в колбу А. Через 30 минут добавляли DDTT (310 мг; 1,5 ммоль). Через 15 минут молекулярные сита удаляли посредством фильтрации и фильтрат концентрировали, затем очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO₂, Isco; 0-100% EtOAc/гептаны) с получением соединения **J-2** (436 мг; с примесями). ЖХ-МС [M+H]=1308 наблюдаемый; ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 95.8, 94.3; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 201.49, 201.51.

Стадия 3: синтез O-((2R,3R,4R,5R)-5-(6-бензамидо-9H-пурин-9-ил)-2-((((1S,2R,3S,5R)-2-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-3-гидрокси-5-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9H-пурин-9-ил)циклопентил)окси)((2,4-дихлорбензил)тио)-фосфоротиоил)окси)метил)-4-фтортетрагидрофуран-3-ил)-S-гидрофосфонотиоата (J-3**)**

Смесь соединения **J-2** (180 мг; 0,14 ммоль; с примесями), серы (13 мг; 0,42 ммоль) и фосфината N,N-диэтилэтанамина (0,120 мл; 0,83 ммоль) упаривали совместно с пиридином. Остаток растворяли в пиридине (1,4 мл), затем добавляли DMOCP (77 мг; 0,42 ммоль). Приблизительно через 1 час реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали водой и рассолом и концентрировали. К остатку добавляли DCM (2 мл) с последующим добавлением дихлоруксусной кислоты (120 мкл) с получением ярко-оранжевого раствора. Через 15 минут гасили пиридином до исчезновения оранжевого цвета, концентрировали и очищали посредством флэш-

хроматографии (12 г SiO₂, Isco; 0-30% MeOH/DCM) с получением соединения **J-3** (64 мг). ЖХ-МС [M+H]=1086 наблюдаемый; ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 96.9, 94.2, 49.4; 48.7; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 199.6, 199.7, 199.8, 200.1.

Стадия 4: синтез N-(9-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-15-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-9-((2,4-дихлорбензил)тио)-14-фтор-2-меркапто-6-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9H-пурин-9-ил)-2,9-дисульфидооктагидро-11H-4,7-метанофуρο[3,2-d][1,3,7,9]тетраокса[2,8]дифосфациклотридецин-13-ил)-9H-пурин-6-ил)бензамида (J-4)

Соединение **J-4** получали аналогично получению соединения **C-2** при использовании DPPCl вместо DMOCP. ЖХ-МС [M+H]=1100 наблюдаемый; ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 110.4, 110.3, 97.1, 95.5; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 196.0, 196.5.

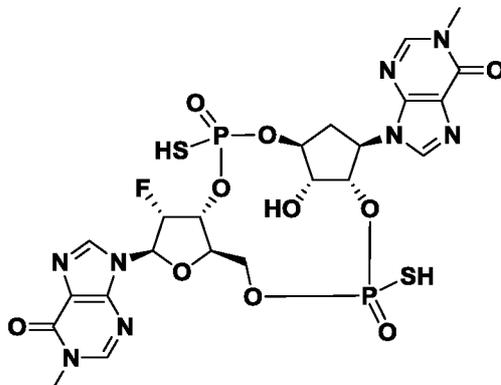
Стадия 5: синтез 9-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-амино-9H-пурин-9-ил)-14-фтор-15-гидрокси-2,9-димеркапто-2,9-дисульфидооктагидро-11H-4,7-метанофуρο[3,2-d][1,3,7,9]тетраокса[2,8]дифосфациклотридецин-6-ил)-1-метил-1,9-дигидро-6H-пурин-6-она (J-5)

В колбу, содержащую соединение **J-4** (24 мг; 0,022 ммоль), добавляли раствор 1:1 ACN и 33% метиламина в EtOH (0,5 мл). Через 3 часа реакционную смесь концентрировали и остаток растворяли в растворе 1:1:2 тиофенола, TEA и диоксана (0,2 мл). Через 5 часов реакционную смесь концентрировали. К остатку добавляли раствор TEA:пиридин 1:1 (0,4 мл) с последующим добавлением тригидрофторида триэтиламина (150 мкл). Реакционную смесь нагревали до 70°C в течение 12 часов, затем гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия и концентрировали. Остаток растирали с 10% MeOH/DCM, затем Et₂O (2×), затем очищали посредством препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой [колонка Phenomenex Gemini NX-C18 5 мкм 21×150 мм, элюирование 0-80% MeCN/H₂O, содержащая NH₄HCO₃ (10 mM)] с получением 5 мг соединения **J-5**.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.54 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.17 (s, 1H), 8.04 (s, 1H), 6.30 (d, J=16,02 Гц, 1H), 6.03-6.20 (m, 1H), 5.24-5.35 (m, 1H), 4.94-5.10 (m, 2H), 4.75-4.81 (m, 1H), 4.36-4.40 (m, 1H), 4.29-4.35 (m, 1H), 4.17-4.25 (m, 1H), 3.88-3.95 (m, 1H), 3.49 (s, 3H), 2.80-2.91 (m, 1H), 1.61-1.68 (m, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 113.20, 110.74; ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -198.74 ЖХ-МС [M+H]=724 наблюдаемый.

Пример 19

9,9'-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-14-Фтор-15-гидрокси-2,9-димеркапто-2,9-диоксидооктагидро-11Н-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9]тетраокса-[2,8]дифосфациклотридецин-6,13-диил)бис(1-метил-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-он



Соединение по **Примеру 19** получали аналогично получению соединения по **Примеру 17** при использовании (2R,3R,4R,5R)-4-фтор-2-(гидроксиметил)-5-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9Н-пурин-9-ил)тетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната **К-4** вместо соединения **В-4**. Неочищенное вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии (колонка Phenomenex Luna Omega 5 мкм Polar C18 4,6×50 мм; подвижная фаза А: H₂O w/10 mM NH₄OAc, подвижная фаза В: MeCN; элюирование градиентом 0-10% В за 2,0 минуты, затем постепенное увеличение до 10-80% за 5,5 минут, удерживание при 80% в течение 0,5 минут, затем повторное уравнивание; поток 2,25 мл/мин) с получением четырех диастереомерных продуктов.

Пик 1: 38 мг; 10,6%; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.45 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.18 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 6.27 (d, J=18,58 Гц, 1H), 5.51-5.68 (m, 1H), 5.48 (d, J=2,57 Гц, 1H), 5.01-5.10 (m, 1H), 4.95 (td, J=9,75, 5,69 Гц, 2H), 4.60 (ушир. s, 1H), 4.55 (t, J=5,62 Гц, 1H), 4.20 (ушир. s, 1H), 3.95-4.02 (m, 1H), 3.86-3.94 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 2.82 (d, J=11,62 Гц, 1H), 1.69-1.75 (m, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 53.70 (s, 1P), 49.98 (s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -196.72 (s., 1F); ЖХ-МС [M+H]=707,0.

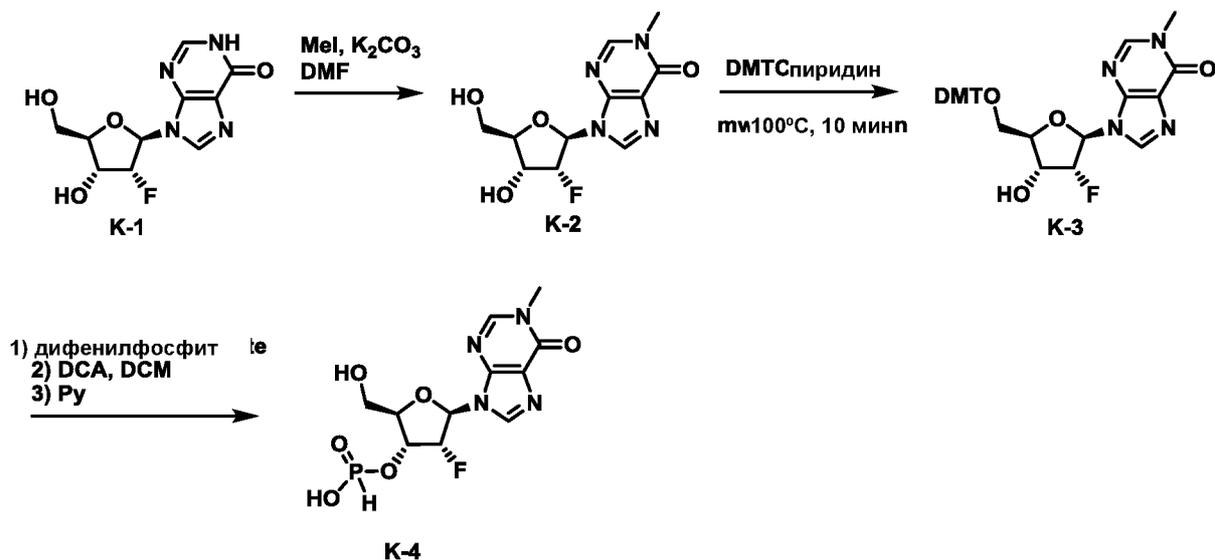
Пик 2: 35 мг; 9,3%; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.44 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 6.10-6.26 (m, 2H), 4.89-5.06 (m, 3H), 4.61 (ушир. s, 1H), 4.44 (t, J=5,32 Гц, 1H), 4.20 (d, J=8,80 Гц, 1H), 3.97 (d, J=2,32 Гц, 2H), 3.52 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 2.75-2.84 (m, 1H), 1.67 (dd, J=14,73, 5,07 Гц, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 53.60 (ушир. s, 1P) 48.19 (ушир. s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -197.17 (s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=707,0.

Пик 3: 8 мг; 2%; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.47 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.10 (s, 1H), 6.52 (s, 1H), 6.26 (d, J=17,61 Гц, 1H), 5.45-5.65 (m, 1H), 5.12-5.25 (m,

2H), 4.81-4.97 (m, 2H), 4.51 (t, J=6,30 Гц, 1H), 4.45 (ушир. s, 1H), 4.23 (d, J=8,56 Гц, 1H), 3.98-4.13 (m, 2H), 3.53 (s, 3H), 3.50 (s, 3H), 2.74-2.87 (m, 1H), 1.67 (dd, J=14,67, 6,11 Гц, 1 H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 50.04 (s, 1P) 48.32 (ушир. s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: -198.02 (s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=707,0.

Пик 4: 40 мг; 10,9%; ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 8.46 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 6.27 (d, J=17,48 Гц, 1H), 6.07-6.23 (m, 1H), 5.19 (td, J=9,51, 2,63 Гц, 1H), 4.81-4.96 (m, 3H), 4.45 (ушир. s, 1H), 4.40 (t, J=5,62 Гц, 1H), 4.24 (d, J=9,41 Гц, 1H), 4.12 (d, J=11,98 Гц, 1H), 4.01 (dd, J=11,68, 5,32 Гц, 1H), 3.53 (s, 3H), 3.50 (s, 3H), 2.81 (d, J=7,46 Гц, 1H), 1.61 (dd, J=14,55, 6,24 Гц, 2H); ^{31}P ЯМР (162 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 49.20 (ушир. s, 1P), 48.19 (ушир. s, 1P); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: -198.36 (s., 1F); ЖХ-МС [M+H]=707,0.

Схема К



Стадия 1: синтез 2'-дезоксидезокси-2'-фтор-1-метилюридина (К-2)

Соединение **К-2** получали аналогично получению соединения **Д-4** при использовании 2'-дезоксидезокси-2'-фторинозина (**К-1**) вместо соединения **Д-3** на стадии 3 Схемы D с выходом 98%.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 8.44 (s, 1H), 8.35 (s, 1H), 6.21 (dd, J=16,75, 2,69 Гц, 1H), 5.73 (d, J=6,11 Гц, 1H), 5.25-5.47 (m, 1H), 5.14 (t, J=5,44 Гц, 1H), 4.36-4.52 (m, 1H), 3.93-4.04 (m, 1H), 3.75 (ddd, J=12,32, 5,17, 2,81 Гц, 1H), 3.59 (ddd, J=12,32, 5,65, 4,03 Гц, 1H), 3.52 (s, 3H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: -204.63 (s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=285,1.

Стадия 2: синтез 5'-О-[бис(4-метоксифенил)(фенил)метил]-2'-дезоксидезокси-2'-фтор-1-метилюридина (К-3)

Соединение **К-3** получали аналогично получению соединения **В-2** при использовании микроволнового излучения (mw) при 100°C в течение 10 минут вместо 25°C в течение 12 часов на стадии 1 Схемы В с выходом 60%.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 8.39 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.29-7.36 (m, 2H), 7.15-7.28 (m, 7H), 6.81 (dd, J=8,86, 7,64 Гц, 4H), 6.27 (dd, J=19,44, 1,47 Гц, 1H), 5.72 (d, J=6,85 Гц, 1H), 5.38-5.59 (m, 1H), 4.55-4.72 (m, 1H), 4.10 (dt, J=7,76, 3,94 Гц, 1H), 3.72 (d, J=1,71 Гц, 6H), 3.51 (s, 3H), 3.20-3.28 (m, 2H); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: -199.30 (s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=587,2.

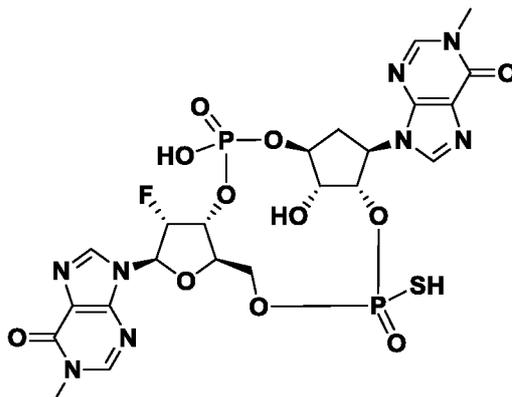
Стадия 3: синтез (2R,3R,4R,5R)-4-фтор-2-(гидроксиметил)-5-(1-метил-6-оксо-1,6-дигидро-9H-пурин-9-ил)тетрагидрофуран-3-илгидрофосфоната (К-4)

Соединение **К-3** (1,28 г; 2,19 ммоль) упаривали совместно с безводным пиридином (3×), затем остаток последний раз растворяли в безводном пиридине (22,0 мл). Раствор по каплям добавляли в раствор дифенилфосфоната (3,6 г; 15,4 ммоль) в безводном пиридине (22,0 мл) в высушенной в печи колбе. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут в атмосфере N₂, добавляли смесь триэтиламин-вода (12 мл; 1:1; об./об.), продолжали перемешивание при комнатной температуре в течение 15 минут. Реакционную смесь концентрировали под вакуумом, растворяли в DCM (22,0 мл), добавляли DCA (5,66 г; 43,9 ммоль), перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут, затем гасили пиридином (22,0 мл). Реакционную смесь концентрировали, очищали посредством флэш-хроматографии (40 г SiO₂, Isco; 50% MeOH/DCM) с получением соединения **К-4** (0,71 г; 93%) в виде 0,8 экв. Et₃N соли.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 8.60 (ушир. s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.34 (s, 1H), 7.84 (t, J=7,58 Гц, 0,36H) 7.61 (s, 0,5H) 7.38-7.49 (m, 0,75H) 6.25 (d, J=15,89 Гц, 1H), 6.01 (s, 0,5H) 5.75 (s, 0,2H) 5.43-5.66 (m, 1H), 4.92-5.09 (m, 1H), 4.14 (ушир. s, 1H), 3.75 (d, J=11,13 Гц, 1H), 3.64 (d, J=12,72 Гц, 1H), 3.51 (ушир. s, 3H), 3.04-3.13 (m, 1,7H) 1.17 (t, J=7,15 Гц, 2,5H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: 1.88 (ушир. s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d6) δ м.д.: -200.26 (ушир. s, 1F). ЖХ-МС [M+H]=350 наблюдаемый; ЖХ-МС [M+H]=349,0.

Пример 20

9,9'-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-14-Фтор-2,15-дигидрокси-9-меркапто-2,9-диоксиоктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9]тетраокса-[2,8]дифосфациклотридецин-6,13-диил)бис(1-метил-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он)



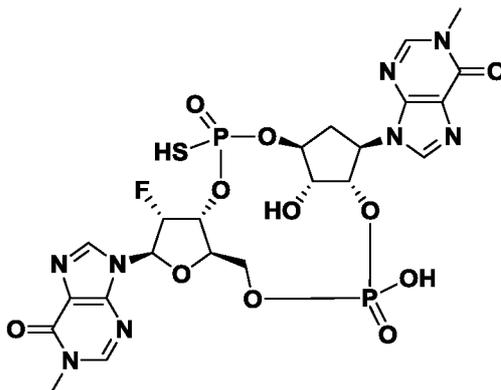
Соединение по **Примеру 20** получали аналогично получению соединения по **Примеру 15**. Неочищенное вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии (колонка Phenomenex Gemini NX-C18 4,6×50 мм 5 мкм; подвижная фаза А: H₂O w/10 mM NH₄OAc, подвижная фаза В: MeCN; элюирование градиентом 0-80% В за 5,0 минут, удерживание при 80% в течение 0,5 минут, затем повторное уравнивание; поток 2,25 мл/мин) с получением двух диастереомерных продуктов.

Пик 1: 33 мг; 23%; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.44 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 6.25 (d, J=18,58 Гц, 1H), 5.43-5.67 (m, 2H), 4.99-5.07 (m, 1H), 4.89-4.98 (m, 1H), 4.76-4.88 (m, 1H), 4.68 (ушир. s, 1H), 4.26 (ушир. s, 1H), 4.17 (ушир. s, 1H), 3.95-4.03 (m, 1H), 3.87-3.95 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 2.76 (ушир. s, 1H), 1.67 (dd, J=14,79, 5,38 Гц, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 53.57 (s, 1P), -5.78 (ушир. s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -197.49 (ушир. s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=691,0.

Пик 2: 33 мг; 23%; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.47 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.15 (s, 1H), 7.11 (ушир. s, 2H), 6.52 (s, 3H), 6.25 (d, J=17,36 Гц, 1H), 5.42-5.62 (m, 1H), 5.19 (d, J=3,42 Гц, 2H), 4.88 (td, J=9,96, 6,36 Гц, 1H), 4.68-4.81 (m, 1H), 4.52 (ушир. s, 1H), 4.17-4.27 (m, 2H), 3.97-4.14 (m, 2H), 3.53 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 2.72-2.84 (m, 1H), 1.61 (dd, J=14,49, 6,05 Гц, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 48.70 (ушир. s, 1P), -5.56 (ушир. s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -196.64 (ушир. s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=691,0.

Пример 21

9,9'-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-14-Фтор-9,15-дигидрокси-2-меркапто-2,9-диоксидооктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9]тетраокса[2,8]-дифосфациклотридецин-6,13-диил)бис(1-метил-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он



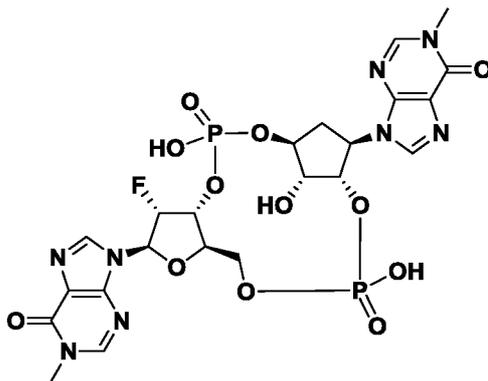
Соединение по **Примеру 21** получали аналогично получению соединения по **Примеру 16**. Неочищенное вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии (колонка Phenomenex Gemini NX-C18 3 мкм 4,6×50 мм; подвижная фаза А: H₂O w/10 mM NH₄OAc, подвижная фаза В: MeCN; элюирование градиентом 0-80% В за 5,0 минут, удерживание при 80% в течение 0,5 минут, затем повторное уравнивание; поток 2,25 мл/мин) с получением двух диастереомерных продуктов.

Пик 1: 7,8 мг; 20%; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.38 (s, 1H), 8.31 (s, 1H), 8.21 (s, 2H), 6.10-6.30 (m, 2H), 5.83 (ушир. s, 1H), 4.88 (ушир. s, 3H), 4.47 (d, J=9,54 Гц, 2H), 4.16 (d, J=9,17 Гц, 1H), 3.96-4.11 (m, 2H), 3.52 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 2.80 (m, 1H), 1.67 (m, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 47.81 (s, 1P), -3.08 (ушир. s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -200.26 (ушир. s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=691,0.

Пик 2: 4 мг; 10%; ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.38 (s, 1H), 8.19 (s, 2H), 8.15 (s, 1H), 6.24 (d, J=18,22 Гц, 1H), 5.78 (d, J=2,69 Гц, 1H), 5.49-5.65 (m, 1H), 4.80-4.92 (m, 3H), 4.55 (s, 1H), 4.48 (ушир. s, 1H), 4.15 (d, J=8,44 Гц, 1H), 4.08 (d, J=12,35 Гц, 1H), 3.97 (d, J=8,68 Гц, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 2.78 (m, 1H), 1.72 (d, J=11,13 Гц, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 49.78 (s, 1P), -3.06 (s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -195.17 (s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=691,0.

Пример 22

9,9'-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-14-Фтор-2,9,15-тригидрокси-2,9-диоксидооктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9]тетраокса[2,8]-дифосфациклотридецин-6,13-диил)бис(1-метил-1,9-дигидро-6H-пурин-6-он)

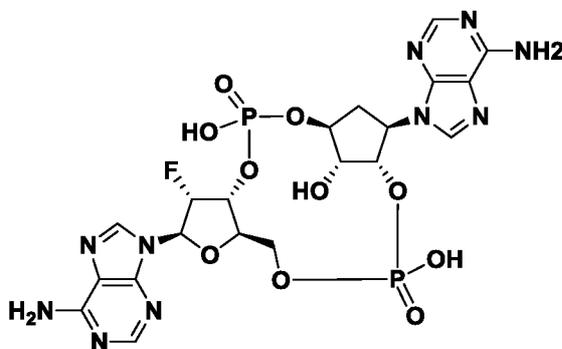


Соединение по **Примеру 22** получали аналогично получению соединения по **Примеру 14** при использовании Н-фосфоната **К-4** вместо соединения **В-4**. Неочищенное вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии (колонка Phenomenex Gemini NX-C18 3 мкм 4,6×50 мм; подвижная фаза А: H₂O w/10 mM NH₄OAc, подвижная фаза В: MeCN; элюирование градиентом 0-80% В за 5,0 минут, удерживание при 80% в течение 0,5 минут, затем повторное уравнивание; поток 2,25 мл/мин) с получением требуемого продукта.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: 8.40 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 6.24 (d, J=17,97 Гц, 1H), 5.74 (ушир. s, 1H), 5.44-5.64 (m, 1H), 4.83-4.96 (m, 2H), 4.66-4.81 (m, 1H), 4.57 (ушир. s, 1H), 4.27 (d, J=4,77 Гц, 1H), 4.06-4.18 (m, 2H), 3.96-4.04 (m, 1H), 3.52 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 2.71-2.82 (m, 1H), 1.67 (dd, J=13,94, 5,26 Гц, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -3.03 (s, 1P), -5.74 (ушир. s, 1P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, DMSO-d₆) δ м.д.: -196.01 (ушир. s, 1F); ЖХ-МС [M+H]=675,0.

Пример 23

(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6,13-бис(6-Амино-9H-пурин-9-ил)-14-фтор-2,9,15-тригидроксиоктагидро-11H-4,7-метанофуоро[3,2-d][1,3,7,9]тетраокса[2,8]-дифосфациклотридецин-2,9-диоксид



Соединение по **Примеру 23** получали аналогично получению соединения по **Примеру 14** при использовании амидофосфита **А-7** вместо соединения **Д-8**. Неочищенное

вещество очищали посредством обращенно-фазовой хроматографии при использовании колонки Agela Durashell C18 25×150 мм, элюируя 0-10% MeCN/H₂O, содержащей NH₄CO₃ (10 мМ).

ЖХ-ВПМС (ЭРИ+) [M+H]⁺=645 наблюдаемый; ¹H ЯМР (400 МГц, D₂O) δ м.д.: 8.31-8.24 (m, 3H), 7.86 (s, 1H), 6.47 (d, J=16,8 Гц, 1H), 5.76-5.55 (m, 1H), 5.42-5.29 (m, 1H), 5.22-5.12 (m, 1H), 5.10-4.97 (m, 1H), 4.68 (d, J=0,8 Гц, 1H), 4.52 (d, J=7,0 Гц, 2H), 4.37 (d, J=12,3 Гц, 1H), 4.13 (dd, J=5,5, 12,3 Гц, 1H), 3.12-2.98 (m, 1H), 2.21 (dd, J=4,9, 15,4 Гц, 1H); ³¹P ЯМР (162 МГц, D₂O) δ м.д.: -4.21 (s, 2P); ¹⁹F ЯМР (376 МГц, D₂O) δ м.д.: -200.68 (ушир. s, 1F).

Биологические примеры

Биохимические методы анализа

Определение связывания с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР)

Исследования связывания агонистов STING с помощью поверхностного плазмонного резонанса (ППР) проводили при использовании прибора Biacore T200 (GE Healthcare) при 4°C в рабочем буфере: 150 мМ KCl, 25 мМ Hepes (4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота) (pH 7,5), 1 мМ TCEP (трихлорэтилфосфат), 2,5 мМ MgCl₂, 5% (об./об.) глицерин, 0,005% (об./об.) P₂O, 1% (об./об.) DMSO. Рекombинантный белок, иммобилизованный на стрептавидиновом чипе, представлял собой либо человеческий WT, либо H232R STING. Во всех исследованиях использовалась усеченная конструкция STING. Конструкции STING состояли из остатков 155-341 с усечением как на N-, так и на C-конце; N-концевые трансмембранные домены были удалены (1-154), а также C-концевой хвост (342-379). Высокоспецифичное N-концевое биотинилирование было достигнуто ферментативно с помощью биотин-лигазы *E. coli* (BirA) и включения пептида биотинилирования AviTag™ с высоким средством. Карбоксиметилированный декстран, предварительно иммобилизованный со стрептавидином (сенсорный чип Streptavidin CM5 серии S), использовали для захвата биотинилированного белка STING. Ввод тестируемых соединений проводили со скоростью потока 100 мкл в минуту с временем ассоциации 60 секунд и переменным временем диссоциации. Для всех тестируемых соединений использовали серию трехкратных разведений от исходной концентрации 10 мкМ. Анализ данных проводили с использованием пакета программного обеспечения для оценки данных BiacoreT200 (GE Healthcare). Ввод соединений был привязан как к эталонному, так и к буферному контролю. Обработанные данные были приведены в соответствие с равновесной или

кинетической моделью для получения наблюдаемой константы диссоциации K_D . Данные ППР связывания представлены в Таблице 1.

Таблица 1		
ППР связывание	H232R STING K_D Среднее значение (мкМ) (N)	WT STING K_D Среднее значение (мкМ) (N)
Пример 1 Пик 1	4,1 (2)	4,7 (2)
Пример 1 Пик 2	3,25 (2)	2,75 (2)
Пример 1 Пик 3	1,5 (3)	0,48 (3)
Пример 1 Пик 4	0,58 (3)	0,24 (3)
Пример 2 Пик 1	0,116 (1)	0,023 (1)
Пример 2 Пик 2	0,091 (1)	0,093 (1)
Пример 2 Пик 3	,006 (1)	,00044 (1)
Пример 2 Пик 4	0,011 (1)	0,00078 (1)
Пример 3 Пик 1	0,032 (1)	0,008 (1)
Пример 3 Пик 2	0,039 (1)	0,014 (1)
Пример 3 Пик 3	0,003 (1)	0,001 (1)
Пример 3 Пик 4	0,001 (1)	0,0003 (1)
Пример 7 Пик 1	1,04 (1)	0,098 (1)
Пример 7 Пик 2	1,89 (1)	0,416 (1)
Пример 7 Пик 3	0,009 (1)	0,004 (1)
Пример 7 Пик 4	0,003 (1)	0,003 (1)
Пример 13 Пик 1	1,21 (2)	1,29 (3)
Пример 13 Пик 2	4,57 (2)	5,98 (3)
Пример 14	0,216 (2)	0,015 (2)
Пример 15 Пик 1	0,102 (2)	0,045 (2)
Пример 15 Пик 2	0,006 (2)	0,003 (2)
Пример 16 Пик 1	0,003 (2)	0,057 (2)
Пример 16 Пик 2	0,132 (2)	0,020 (2)
Пример 17 Пик 1	0,004 (1)	0,0015 (2)
Пример 17 Пик 2	0,0005 (2)	0,0003 (2)
Пример 18	0,001 (1)	0,0002 (1)
Пример 19 Пик 1	0,102 (1)	0,086 (1)
Пример 19 Пик 2	0,750 (1)	0,740 (1)
Пример 19 Пик 3	0,002 (1)	0,003 (1)
Пример 19 Пик 4	0,010 (1)	0,019 (1)
Пример 20 Пик 1	0,447 (1)	0,256 (1)
Пример 20 Пик 2	0,029 (2)	0,046 (2)
Пример 21 Пик 1	0,198 (1)	0,127 (1)
Пример 21 Пик 2	0,048 (1)	0,016 (1)
Пример 22	0,117 (1)	0,449 (1)
Пример 23	5,05 (1)	0,993 (1)

Конкурентное связывание при сцинтилляционном анализе сближения (САБ)

Анализ связывания радиолиганда был разработан для определения взаимодействия соединений, которые конкурируют с меченым тритием вариантом нативного лиганда STING, ^3H -циклическим гуанин-(2',5')монофосфат-аденин-(3',5')монофосфатом (^3H -

cGAMP). Конструкции STING (WT и H232R) состояли из остатков 155-341 с усечением как на N-, так и на C-конце; N-концевые трансмембранные домены были удалены (1-154), а также C-концевой хвост (342-379). Высокоспецифичное N-концевое биотинилирование было достигнуто ферментативно с помощью биотин-лигазы *E. coli* (BirA) и включения пептида биотинилирования AviTag™ с высоким сродством. 100 нМ белка STING иммобилизовали на покрытых 20 мкг стрептавидина шариках из поливинилтолуола (SA-PVT) в 150 мМ NaCl, 25 мМ Hepes (pH 7,5), 0,1 мМ EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота), 1 мМ DTT (дитиотреитол), 0,005% (об./об.) Tween-20, 1% (об./об.) DMSO. Добавляли 100 нМ ³H-cGAMP и соединения и оставляли для уравнивания при комнатной температуре (20 мин). Соединения тестировали в сериях трехкратных разведений от исходной концентрации 100 мкМ и нормализовали до соединения положительного контроля, которое полностью блокировало связывание ³H-cGAMP и отрицательного контроля DMSO. K₁ для конкурентного связывания определяли по IC₅₀ с помощью уравнения Ченга-Прусова (Cheng & Prusoff, *Biochemical Pharmacology*, 22 (1973), pp. 3099-3108). Эмпирически было установлено, что значения K_D для ³H-cGAMP, использованные в уравнении Ченга-Прусова, составляли 1 нМ для WT STING и 750 нМ для R232H STING. Данные конкурентного связывания в САБ представлены в таблице 2.

Таблица 2	
Конкурентное связывание в САБ	WT STING K₁ Среднее значение (мкМ) (N)
Пример 1 Пик 3	0,107 (8)
Пример 1 Пик 4	0,042 (8)
Пример 2 Пик 1	0,007 (5)
Пример 2 Пик 2	0,073 (5)
Пример 2 Пик 3	0,002 (9)
Пример 2 Пик 4	0,0002 (9)
Пример 3 Пик 1	0,004 (2)
Пример 3 Пик 2	0,018 (2)
Пример 3 Пик 3	0,001 (1)
Пример 3 Пик 4	0,0002 (4)
Пример 7 Пик 1	0,044 (1)
Пример 7 Пик 2	0,107 (1)
Пример 7 Пик 3	0,013 (1)
Пример 7 Пик 4	0,003 (1)
Пример 13 Пик 1	более 1 (2)
Пример 13 Пик 2	более 1 (2)
Пример 14	0,008 (3)
Пример 15 Пик 1	0,037 (3)

Пример 15 Пик 2	0,001 (3)
Пример 16 Пик 1	0,001 (3)
Пример 16 Пик 2	0,009 (3)
Пример 17 Пик 1	0,002 (1)
Пример 17 Пик 2	0,0003 (2)
Пример 18	0,00019 (1)
Пример 19 Пик 1	0,022 (1)
Пример 19 Пик 2	более 1 (1)
Пример 19 Пик 3	0,002 (1)
Пример 19 Пик 4	0,054 (1)
Пример 20 Пик 1	0,294 (1)
Пример 20 Пик 2	0,038 (2)
Пример 21 Пик 1	0,142 (2)
Пример 21 Пик 2	0,008 (2)
Пример 22	0,222 (2)
Пример 23	1,26 (1)

Индукция интерферона- β : репортерная клеточная линия THP-1 ISG

Клетки THP-1 Lucia™ ISG (InvivoGen) экспрессируют репортерный ген секретлируемой люциферазы «Lucia» под контролем IRF-индуцируемого составного промотора, состоящего из пяти элементов интерфероновой ответа. Клетки THP-1 Lucia™ ISG выращивали в среде RPMI с 2 mM L-глутамин, 10% фетальной бычьей сыворотки и 0,5% Pen-Strep (пенициллин-стрептомицин). Для поддержания стабильной трансфекции присутствовали гиграмицин В и зеонин. 10⁴ клеток высевали в 96-луночные планшеты и инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO₂. 50 мкл серийно разведенных в средах соединений (конечное разведение 0,5% DMSO) инкубировали в течение дополнительных 24 часов. После инкубации планшеты центрифугировали при 2000 об/мин в течение 10 минут. 50 мкл супернатанта клеточной культуры из каждой лунки переносили в белый непрозрачный 96-луночный планшет. Один пакет порошка QUANTI-Luc™ (InvivoGen) готовили в 25 мл воды, свободной от эндотоксинов, и 100 мкл приготовленного теплого раствора QUANTI-Luc добавляли в каждую лунку, содержащую супернатант. Сигнал люминесценции измеряли с использованием ридера для микропланшетов Perkin-Elmer Envision. Данные были нормализованы до «% эффекта» с использованием агониста STING в качестве положительного контроля, который, как известно, усиливает до максимума сигнал люциферазы, и ДМСО в качестве отрицательного контроля. Данные по индукции интерферона- β представлены в таблице 3.

Таблица 3	
IFN-β TNP-1 репортер	Индукция IFN-β EC50 среднее значение мкМ (N)
Пример 1 Пик 3	10,12 (6)
Пример 1 Пик 4	8,49 (6)
Пример 2 Пик 1	3,08 (4)
Пример 2 Пик 2	7,9 (4)
Пример 2 Пик 3	0,93 (9)
Пример 2 Пик 4	3,02 (7)
Пример 3 Пик 1	6,52 (3)
Пример 3 Пик 2	22,9 (3)
Пример 3 Пик 3	2,1 (2)
Пример 3 Пик 4	4,5 (3)
Пример 7 Пик 1	13,8 (1)
Пример 7 Пик 2	более 30 (1)
Пример 7 Пик 3	4,6 (2)
Пример 7 Пик 4	7,4 (2)
Пример 13 Пик 1	более 100 (2)
Пример 13 Пик 2	более 100 (2)
Пример 14	31,17 (4)
Пример 15 Пик 1	9,89 (4)
Пример 15 Пик 2	5,19 (4)
Пример 16 Пик 1	31,41 (3)
Пример 16 Пик 2	14,88 (4)
Пример 17 Пик 1	10,43 (2)
Пример 17 Пик 2	3,43 (4)
Пример 18	0,98 (1)
Пример 19 Пик 1	5,33 (2)
Пример 19 Пик 2	более 100 (1)
Пример 19 Пик 3	4,39 (1)
Пример 19 Пик 4	8,82 (2)
Пример 20 Пик 1	80,84 (2)
Пример 20 Пик 2	7,54 (4)
Пример 21 Пик 1	более 30 (1)
Пример 21 Пик 2	28,5 (1)
Пример 22	более 30 (1)
Пример 23	более 100 (1)

Анализ репортера клеток TNP-1 с различными полиморфизмами STING человека для измерения активности интерферона I типа

Сообщалось, что аллель STING дикого типа (WT) имеет еще 4 различных однонуклеотидных полиморфизма (ОНП) в человеческой популяции, которые могут

влиять на его ответ. Эти ОНП известны как R71H-G230A-R293Q (HAQ), R232H, G230A-R293Q (AQ) и R293Q. Чтобы проверить, могут ли указанные соединения активировать все пять аллелей STING человека, представленных у более 98% человеческой популяции, клетки THP-1-Dual KO-STING (InvivoGen) индивидуально трансдуцировали лентивирусом, содержащим одну из аллелей STING человека (Genecoroeia). Отбирали трансдуцированные клетки, и экспрессию STING подтверждали вестерн-блоттингом (данные не показаны). Отобранные клетки культивировали и собирали в конические пробирки на 50 мл, подсчитывали с помощью BC Vi-flow и разбавляли до концентрации $7,4 \times 10^5$ клеток/мл. 135 мкл разведенных клеток переносили в 96-луночный планшет (100000 клеток/лунка) и инкубировали при 37°C в CO₂-инкубаторе в течение 3-4 часов. Затем 15 мкл серийно разведенного тестируемого соединения добавляли в каждую лунку для стимуляции, планшет, содержащий клетки и соединения, дополнительно инкубировали при 37°C и 5% CO₂ течение 24 часов. После инкубирования планшеты центрифугировали при 2000 об/мин в течение 10 мин. 50 мкл супернатанта клеточной культуры из каждой лунки переносили в белый непрозрачный 96-луночный планшет. Порошок QUANTI-Luc™ (InvivoGen) готовили в 25 мл воды, свободной от эндотоксинов, и 100 мкл приготовленного теплого раствора QUANTI-Luc добавляли в каждую лунку, содержащую культуральный супернатант, и сразу же измеряли сигнал люминесценции при использовании ридера для микропланшетов Perkin Elmer Enspire (0,2 секунды). RLU (относительные единицы люминесценции) получали по исходному значению. Данные анализа репортера клеток THP-1 представлены в Таблице 4.

Таблица 4					
Соединение	THP-1 ISG WT EC50 (мкМ)	THP-1 ISG R232H EC50 (мкМ)	THP-1 ISG HAQ EC50 (мкМ)	THP-1 ISG AQ EC50 (мкМ)	THP-1 ISG R293Q EC50 (мкМ)
Пример 1 Пик 3	более 50 (N=2)	более 50 (N=3)	32,56 (N=2)	15,38 (N=2)	более 50 (N=2)
Пример 1 Пик 4	более 50 (N=2)	более 50 (N=3)	25,47 (N=2)	23,93 (N=2)	более 50 (N=2)
Пример 2 Пик 2	более 50 (N=2)	более 50 (N=2)	более 50 (N=1)	более 50 (N=1)	более 50 (N=1)
Пример 2 Пик 3	7,58 (N=3)	12,67 (N=3)	16,56 (N=3)	6,52 (N=3)	7,16 (N=3)
Пример 2 Пик 4	5,79 (N=4)	12,92 (N=4)	12,58 (N=4)	5,33 (N=4)	7,57 (N=4)
Пример 2 Пик 1	5,83 (N=2)	3,26 (N=2)	более 50 (N=1)	7,32 (N=2)	6,63 (N=2)

Пример 14	27,62 (N=3)	более 50 (N=3)	27,13 (N=3)	26,10 (N=3)	более 50 (N=2)
Пример 16 Пик 1	23,63 (N=3)	более 50 (N=3)	29,32 (N=3)	30,69 (N=3)	более 50 (N=3)
Пример 16 Пик 2	16,37 (N=3)	более 50 (N=3)	16,84 (N=3)	12,96 (N=3)	27,14 (N=3)
Пример 15 Пик 2	6,48 (N=3)	более 50 (N=3)	9,75 (N=3)	6,51 (N=3)	14,40 (N=3)
Пример 15 Пик 1	25,77 (N=2)	более 50 (N=3)	18,37 (N=3)	12,58 (N=3)	24,66 (N=3)
Пример 17 Пик 1	9,97 (N=3)	более 50 (N=3)	12,80 (N=3)	6,80 (N=3)	19,39 (N=3)
Пример 17 Пик 2	2,22 (N=3)	7,34 (N=3)	4,86 (N=3)	2,67 (N=3)	4,17 (N=3)

Фосфорилирование IRF3: ИФА (иммуноферментный анализ) клеток THP-1 или OVCAR4

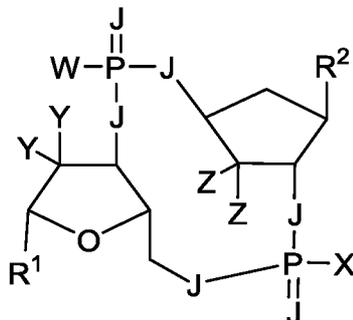
Активация STING приводит к привлечению TBK1 (TANK-связывающая киназа 1) и фосфорилированию фактора транскрипции IRF3 перед индукцией интерферонов типа I. Клетки THP-1 (InvivoGen) или клетки OVCAR4 (Pfizer Cell Bank) выращивали в среде RPMI с 2 mM L-глутамином, 10% фетальной бычьей сывороткой и 0,5% Pen-Strep. 10^4 клеток высевали в 96-луночные планшеты и инкубировали в течение ночи при 37°C, 5% CO₂. Серийно разведенные в средах соединения (конечное разведение 0,5% DMSO) добавляли к клеткам и инкубировали в течение дополнительных 3 часов. После инкубации планшеты центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут. Затем клетки лизировали в 100 мкл буфера RIPA и перемешивали на вихревой мешалке в течение 30 минут при комнатной температуре. Затем 25 мкл лизата переносили в прозрачные полистирольные планшеты с высоким связыванием, которые были предварительно покрыты иммобилизованным антителом мыши против IRF-3 человека (BD Pharmigen), и оставляли для инкубирования при 4°C в течение 16 часов. Затем планшеты промывали и инкубировали с кроличьим детекторным антителом к фосфо-IRF3 (Cell Signaling Technologies) в течение 1,5 часа при комнатной температуре. В заключение, связанное с HRP (пероксидазой хрена) вторичное антитело (Cell Signaling Technologies) добавляли за 30 минут до использования субстратного реагента Glo (R&D Systems) для генерации люминесцентного сигнала. Сигнал измеряли при использовании ридера для микропланшетов Perkin-Elmer Envision. Данные были нормализованы до «% эффекта» с агонистом STING в качестве положительного контроля, который, как известно, усиливает до максимума сигнал фосфорилированного IRF3, и отрицательным контролем служил DMSO. Данные фосфорилирования IRF3 представлены в Таблицах 5 и 6.

Таблица 5	
pIRF3 ИФА ТНР-1	pIRF EC50 Среднее значение мкМ (N)
Пример 1 Пик 3	25,6 (5)
Пример 1 Пик 4	39,2(5)
Пример 2 Пик 1	58,4 (3)
Пример 2 Пик 2	более 100 (3)
Пример 2 Пик 3	13,66 (10)
Пример 2 Пик 4	23,68 (5)
Пример 3 Пик 1	более 100 (2)
Пример 3 Пик 2	более 100 (2)
Пример 3 Пик 3	20,5 (2)
Пример 3 Пик 4	30,69 (3)
Пример 7 Пик 1	ND
Пример 7 Пик 2	ND
Пример 7 Пик 3	ND
Пример 7 Пик 4	ND
Пример 13 Пик 1	более 100 (2)
Пример 13 Пик 2	более 100 (2)
Пример 14	более 100 (3)
Пример 15 Пик 1	более 100 (3)
Пример 15 Пик 2	31,6 (3)
Пример 16 Пик 1	более 100 (3)
Пример 16 Пик 2	более 100 (3)
Пример 17 Пик 1	92,8 (1)
Пример 17 Пик 2	18,54 (3)
Пример 18	9,04 (1)
Пример 19 Пик 1	56,8 (1)
Пример 19 Пик 2	более 100 (1)
Пример 19 Пик 3	30,9 (1)
Пример 19 Пик 4	66,0 (1)
Пример 20 Пик 1	более 100 (1)
Пример 20 Пик 2	62,55 (3)
Пример 21 Пик 1	ND
Пример 21 Пик 2	ND
Пример 22	ND
Пример 23	более 100 (2)

Таблица 6	
pIRF3 ELISA OVCA4	pIRF EC50 среднее значение мкМ (N)
Пример 14	39,27 (3)
Пример 15 Пик 1	51,5 (2)
Пример 15 Пик 2	2,76 (3)
Пример 16 Пик 1	57,0 (3)
Пример 16 Пик 2	71,46 (3)
Пример 17 Пик 1	46,37 (2)
Пример 17 Пик 2	8,06 (3)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

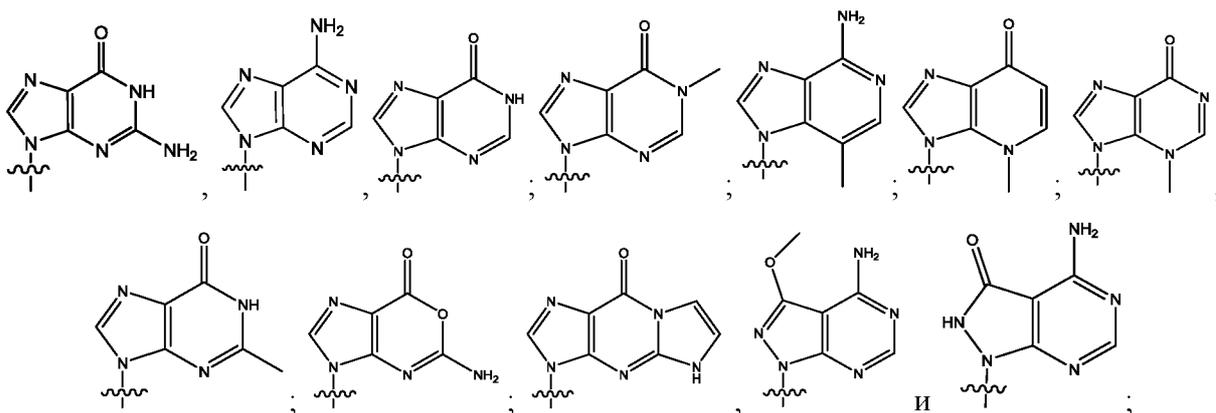
1. Соединение формулы (I):



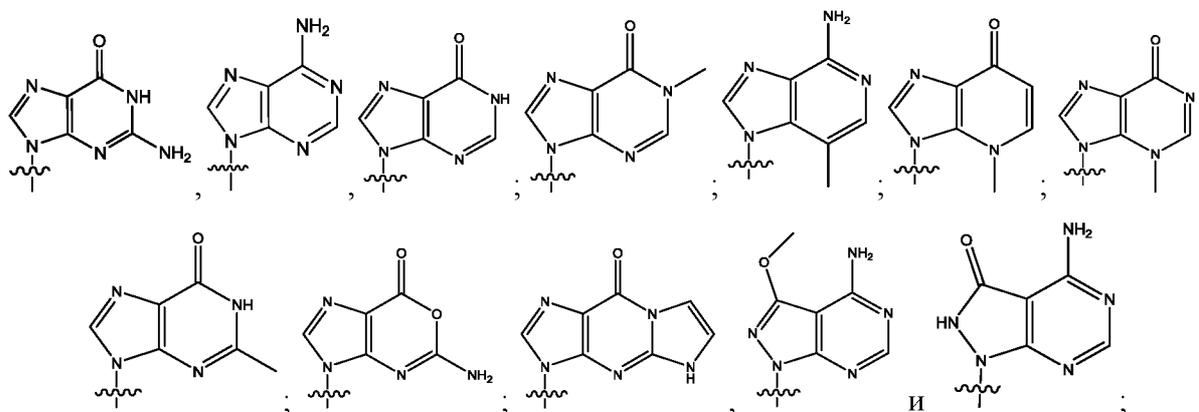
или его фармацевтически приемлемая соль, где

каждый J независимо представляет собой кислород (O) или серу (S);

R¹ выбран из:



R² выбран из:



W представляет собой OH, SH, O⁻M⁺ или S⁻M⁺, где M⁺ представляет собой катионный противоион;

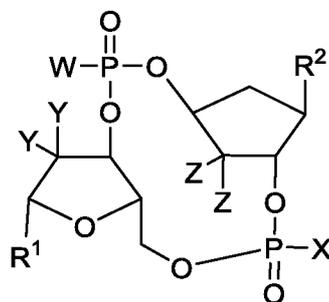
X представляет собой OH, SH, O⁻M⁺ или S⁻M⁺, где M⁺ представляет собой катионный противоион;

каждый Y независимо выбран из водорода, галогена, C₁-C₆алкила, замещенного C₁-C₆алкила, N(R³)₂ и OR⁴, или два Y заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом;

каждый Z независимо выбран из водорода, галогена, C₁-C₆алкила, замещенного C₁-C₆алкила, N(R³)₂ и OR⁴, или два Z заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом; и

R³ и R⁴ каждый независимо представляет собой водород или C₁-C₆алкил.

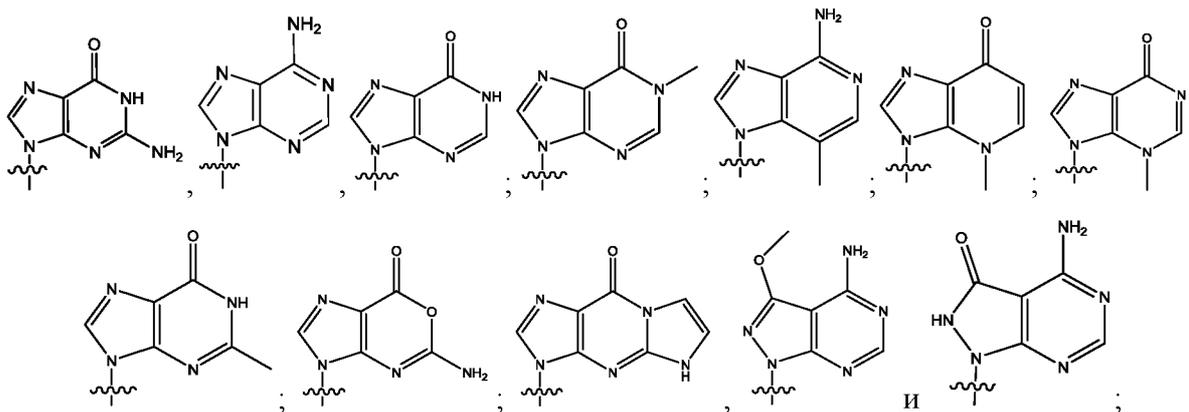
2. Соединение формулы (II):



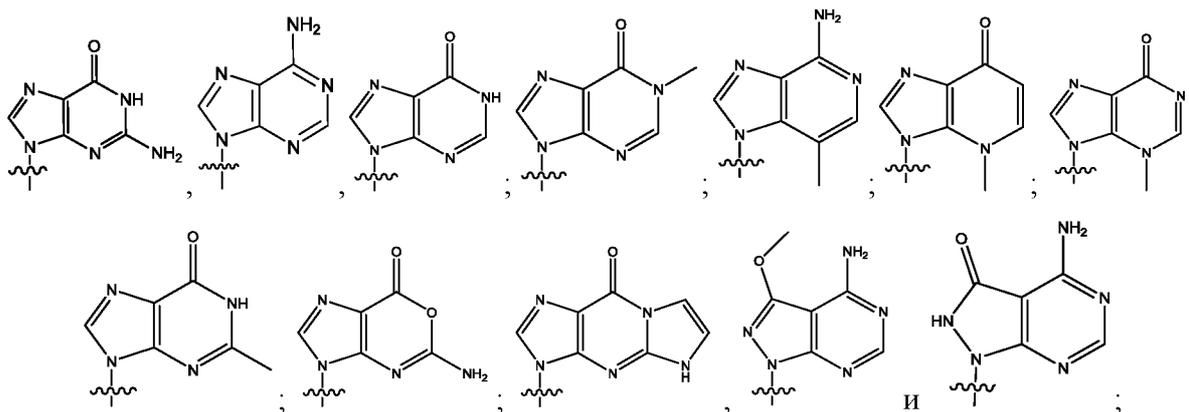
(II)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

R¹ выбран из:



R² выбран из:



W представляет собой OH, SH, O⁻M⁺ или S⁻M⁺, где M⁺ представляет собой катионный противоион;

X представляет собой OH, SH, O⁻M⁺ или S⁻M⁺, где M⁺ представляет собой катионный противоион;

каждый Y независимо выбран из водорода, галогена, C₁-C₆алкила, замещенного C₁-C₆алкила, N(R³)₂ и OR⁴, или два Y заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом;

каждый Z независимо выбран из водорода, галогена, C₁-C₆алкила, замещенного C₁-C₆алкила, N(R³)₂ и OR⁴, или два Z заместителя связаны вместе с образованием 3-5-членной спироциклической кольцевой системы, содержащей 0-1 гетероатом; и

R³ и R⁴ каждый независимо представляет собой водород или C₁-C₆алкил.

3. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где M⁺ выбран из группы, состоящей из натрия, калия, кальция, аммония, триэтиламмония, триметиламмония и магния.

4. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где противоионы M⁺ являются одинаковыми.

5. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R¹ представляет собой



, и R² представляет собой

6. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R¹ представляет собой



, и R² представляет собой

7. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



8. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



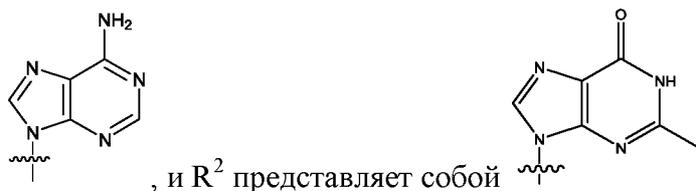
9. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



10. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



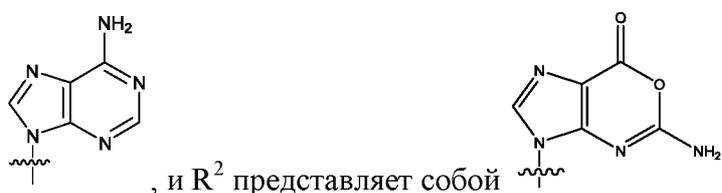
11. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



12. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



13. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



14. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



15. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



16. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



17. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где R^1 представляет собой



18. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где один или оба Y представляют собой галоген.

19. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где один Y представляет собой водород, а другой Y представляет собой галоген.

20. Соединение или соль по п. 19, где указанный галоген представляет собой фтор.

21. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где один Z представляет собой водород, а другой Z представляет собой OR^4 .

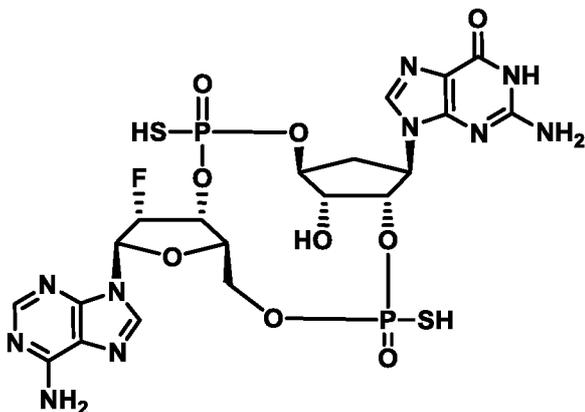
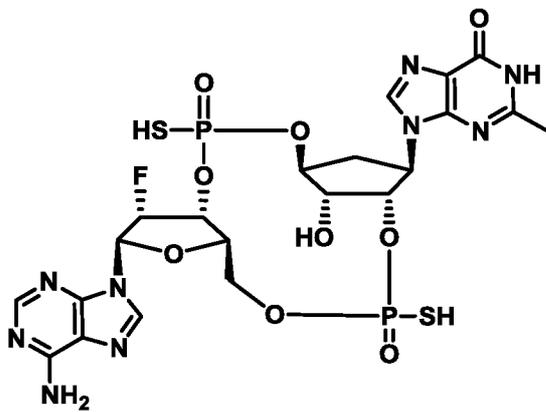
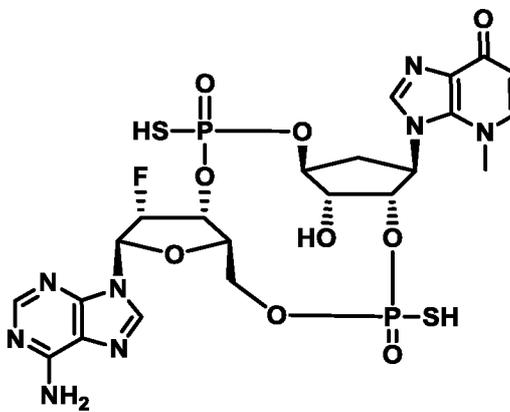
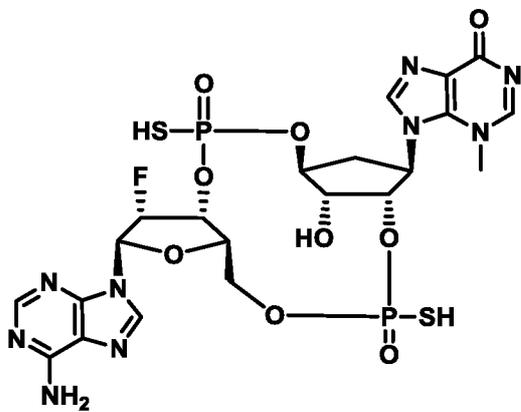
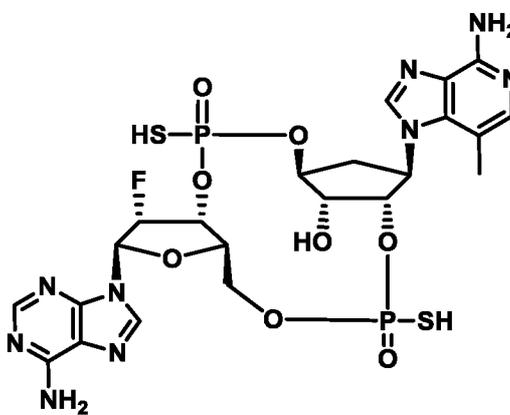
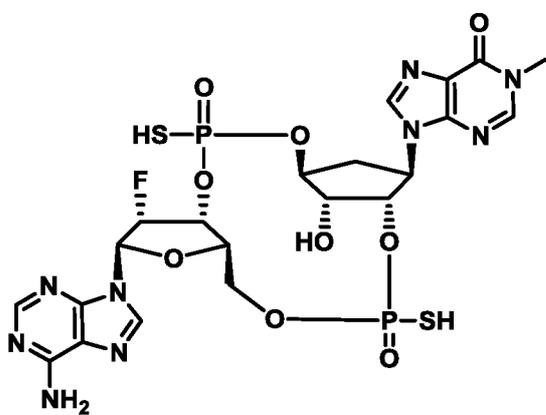
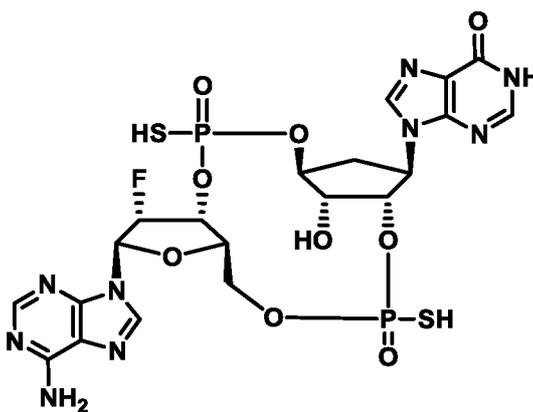
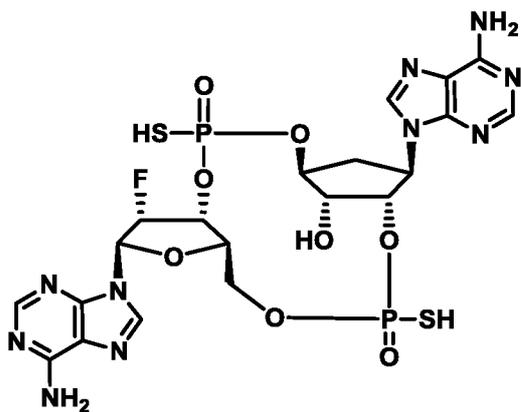
22. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где W представляет собой $-SH$, и X представляет собой $-SH$.

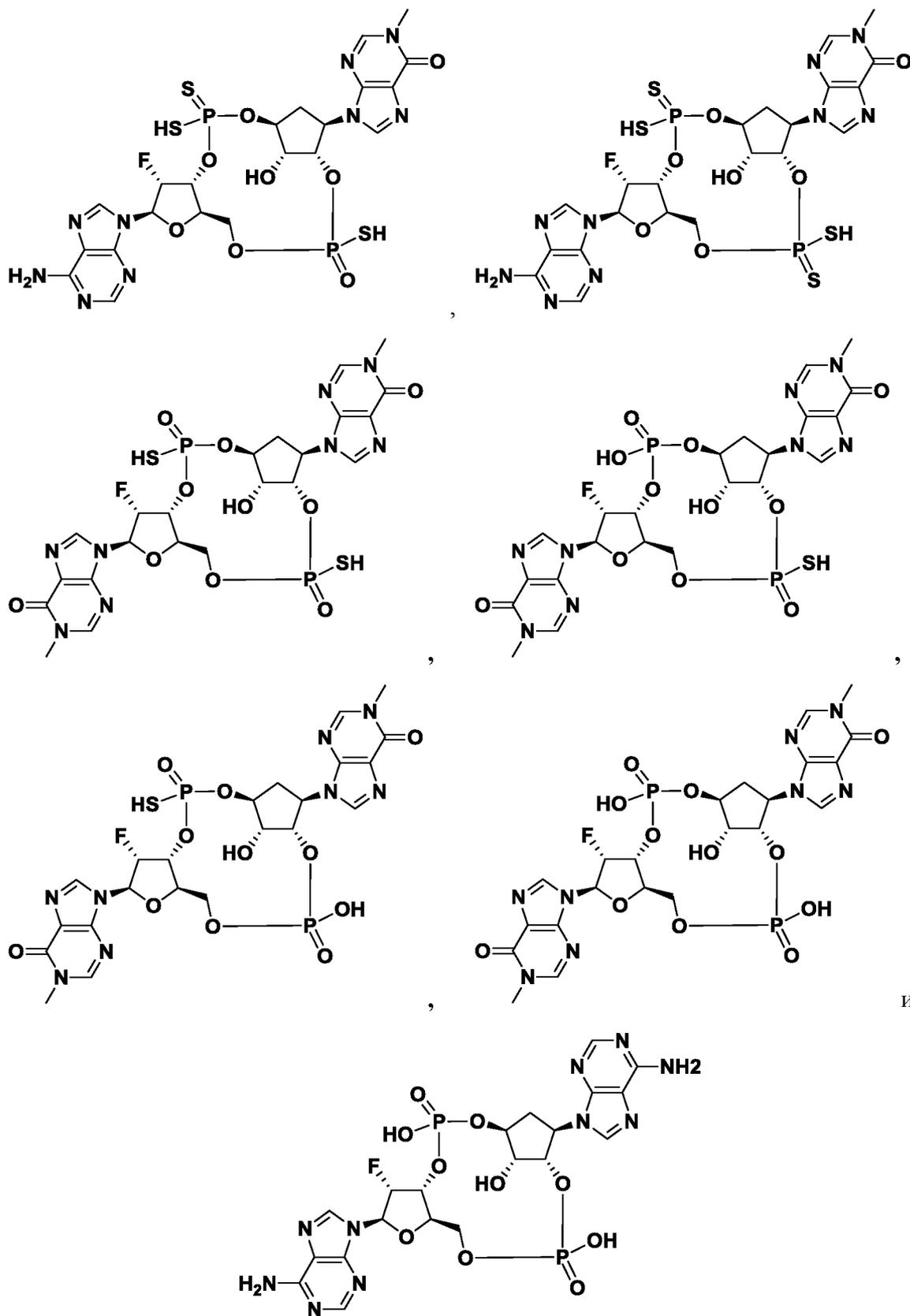
23. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где W представляет собой $-OH$, и X представляет собой $-OH$.

24. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где W представляет собой $-SH$, и X представляет собой $-OH$.

25. Соединение или соль по любому из пп. 1 и 2, где W представляет собой $-OH$, и X представляет собой $-SH$.

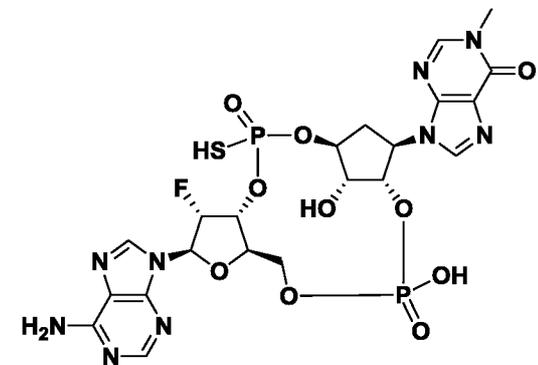
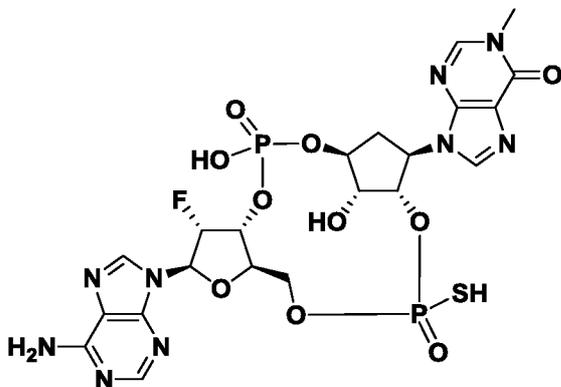
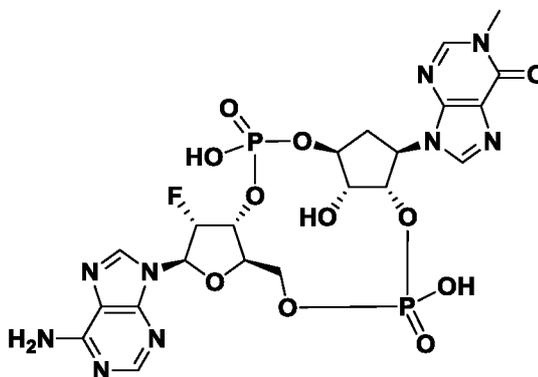
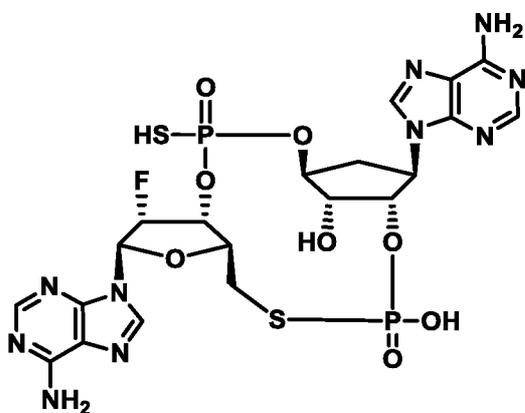
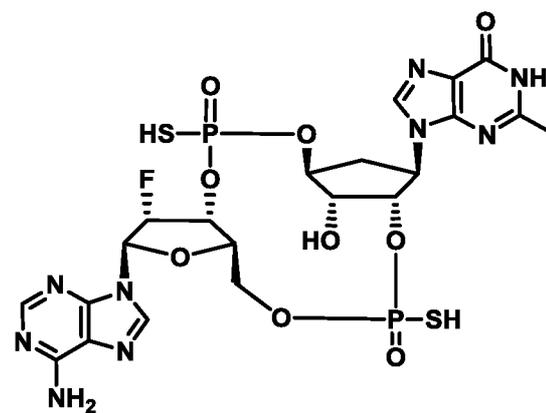
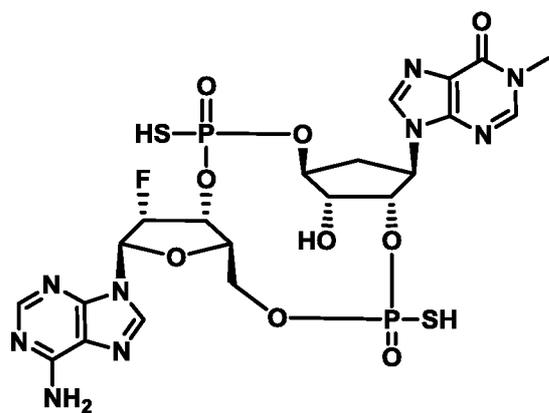
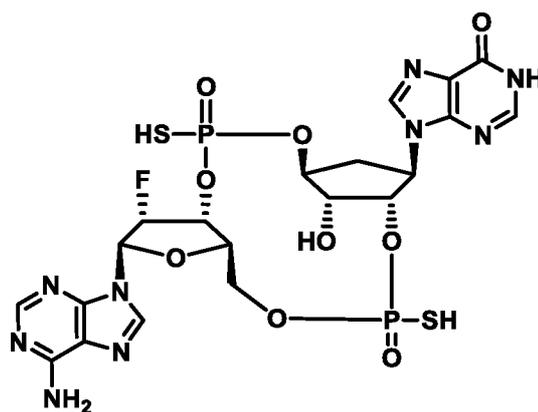
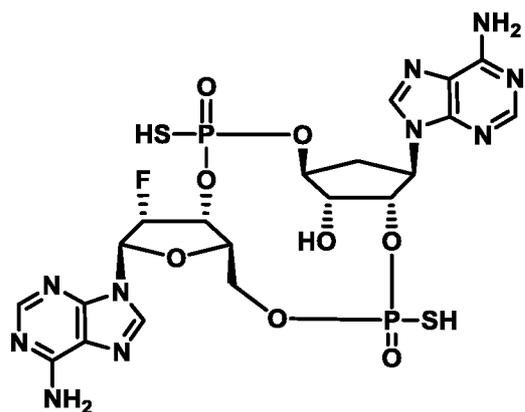
26. Соединение, выбранное из:

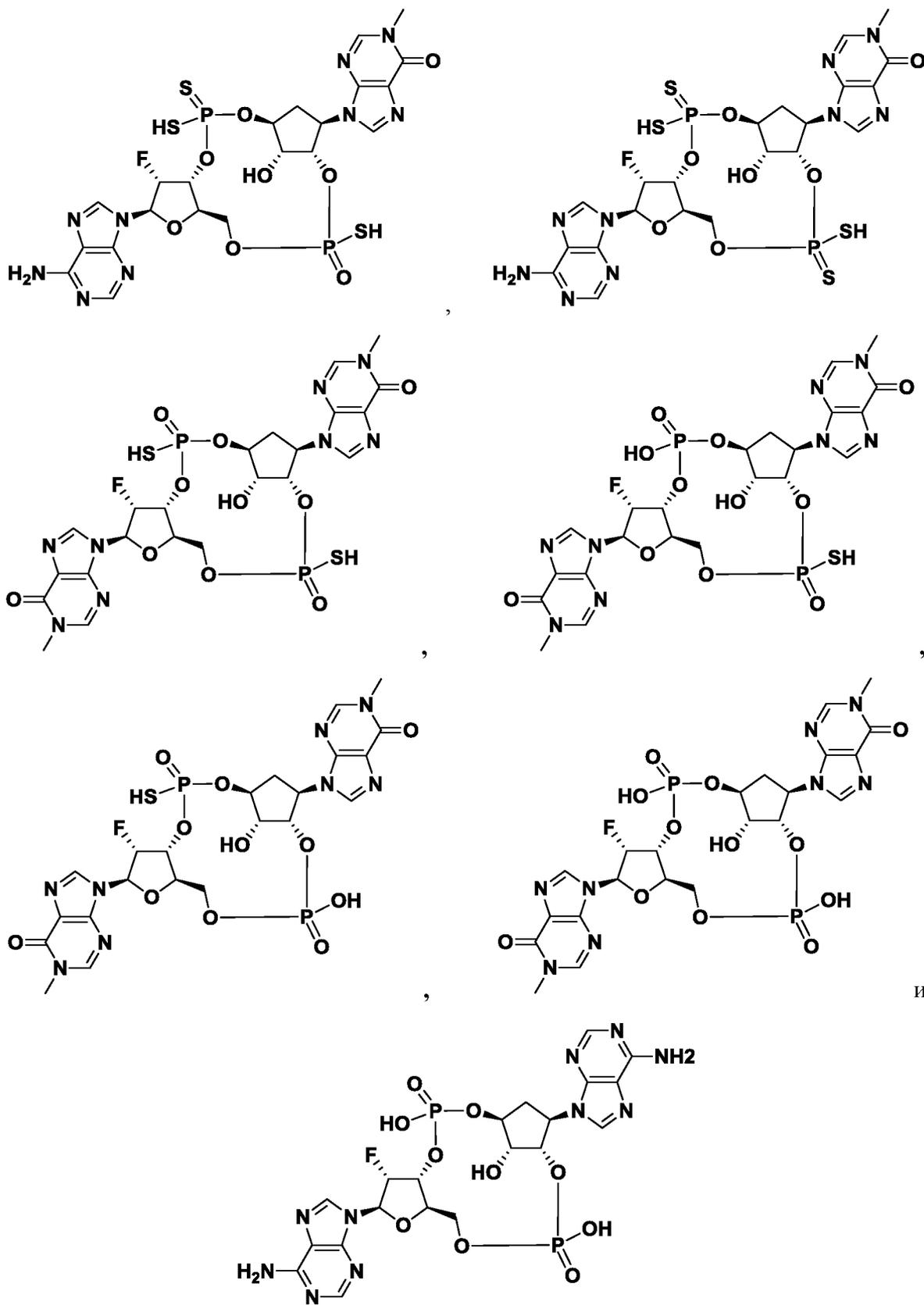




или его фармацевтически приемлемая соль.

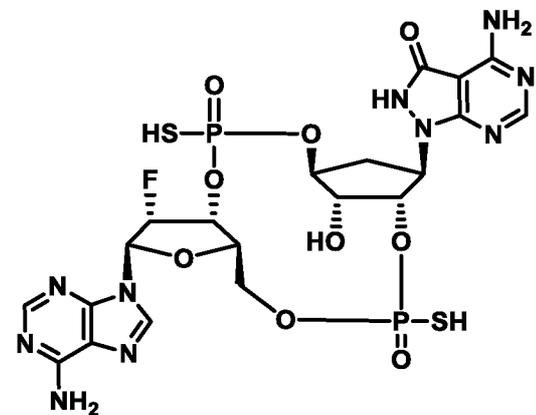
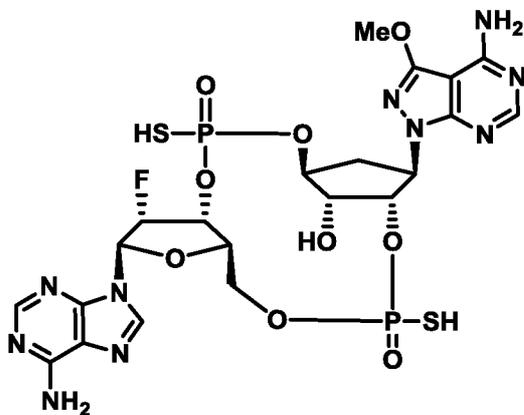
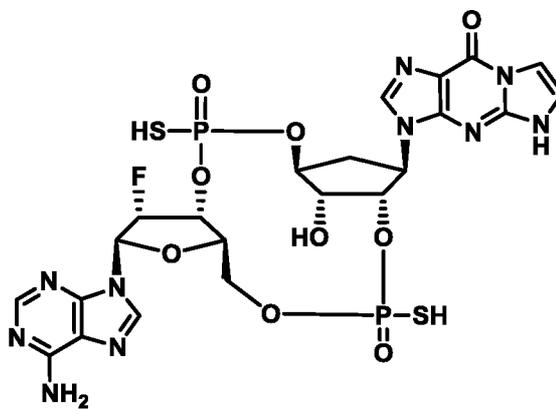
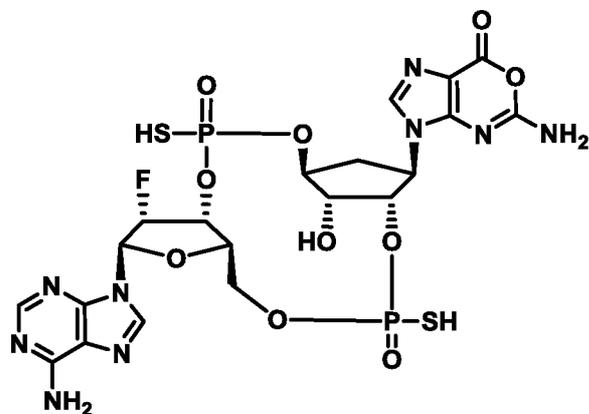
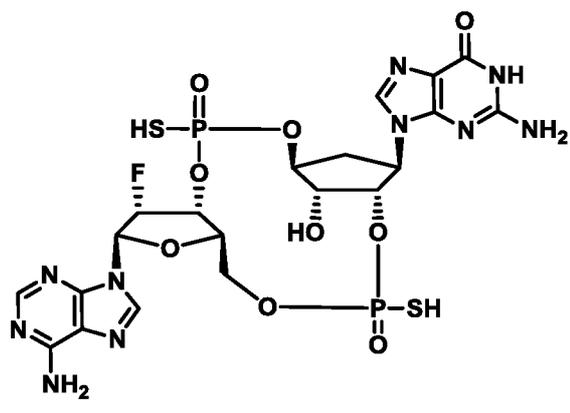
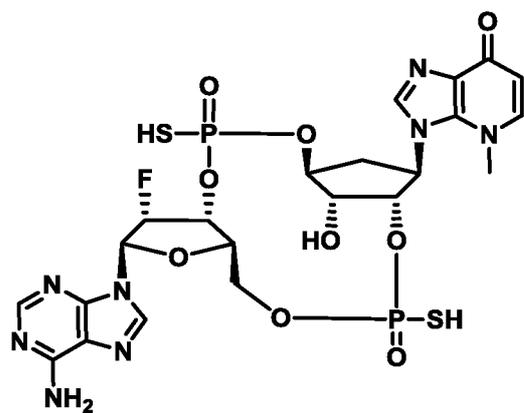
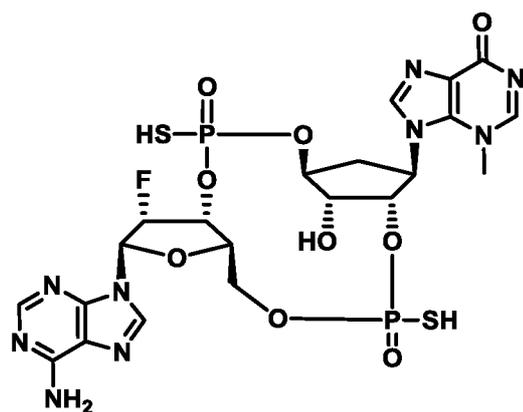
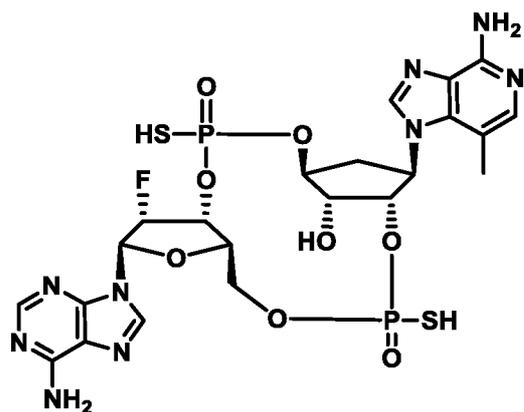
27. Соединение, выбранное из:





или его фармацевтически приемлемая соль.

28. Соединение, выбранное из:



И

или его фармацевтически приемлемая соль.

29. Индивидуальный диастереомер соединения или соли по любому из пп. 1-28.

30. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение или соль по любому из пп. 1-27 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

31. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение или соль по любому из пп. 1-29, где указанное соединение представляет собой компонент конъюгата антитело-лекарственное средство.

32. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение или соль по любому из пп. 1-29, где указанное соединение представляет собой компонент системы доставки на основе частиц.

33. Способ лечения аномального роста клеток у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения или соли по любому из пп. 1-29.

34. Способ по п. 33, где указанное соединение или соль представляет собой компонент конъюгата антитело-лекарственное средство.

35. Способ по п. 33, где указанное соединение или соль представляет собой компонент системы доставки на основе частиц.

36. Способ по п. 33, где аномальный рост клеток представляет собой рак.

37. Способ по п. 36, при котором рак представляет собой рак легких, рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, меланому кожи или внутриглазную меланому, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак матки, рак фаллопиевых труб, карциному эндометрия, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, болезнь Ходжкина, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, рак предстательной железы, хронический или острый лейкоз, лимфоцитарные лимфомы, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, почечно-клеточную карциному, рак почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухоли позвоночника, глиому ствола головного мозга или аденому гипофиза.

38. Применение соединения или соли по любому из пп. 1-29 для изготовления лекарственного средства, полезного в лечении аномального роста клеток у млекопитающего.

39. Применение по п. 38, где указанный аномальный рост клеток представляет собой рак.

40. Применение по п. 39, где рак представляет собой рак легких, рак костей, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, меланому кожи или внутриглазную меланому, рак матки, рак яичников, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак толстой кишки, рак молочной железы, рак матки, рак фаллопиевых труб, карциному эндометрия, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, болезнь Ходжкина, рак пищевода, рак тонкой кишки, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак паращитовидной железы, рак надпочечников, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, рак предстательной железы, хронический или острый лейкоз, лимфоцитарные лимфомы, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, почечно-клеточную карциному, рак почечной лоханки, новообразования центральной нервной системы (ЦНС), первичную лимфому ЦНС, опухоли позвоночника, глиому ствола головного мозга или аденому гипофиза.

41. Способ повышения активности белка STING (стимулятора генов интерферона) у млекопитающего, включающий стадию введения указанному млекопитающему эффективного количества соединения или соли по любому из пп. 1-29.

42. Способ повышения уровней интерферона-бета у млекопитающего, включающий стадию введения указанному млекопитающему эффективного количества соединения или соли по любому из пп. 1-29.