

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047403**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.07.17

(21) Номер заявки
202290768

(22) Дата подачи заявки
2020.09.11

(51) Int. Cl. **A61K 31/70** (2006.01)
C07H 19/16 (2006.01)
C07H 19/173 (2006.01)

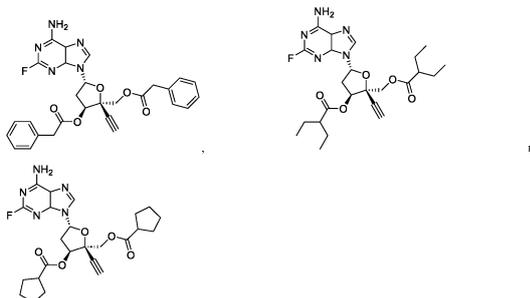
(54) ПРОТИВОВИРУСНЫЕ ПРОЛЕКАРСТВА И ИХ КОМПОЗИЦИИ(31) **62/898,679**(32) **2019.09.11**(33) **US**(43) **2022.07.15**(86) **PCT/US2020/050519**(87) **WO 2021/050961 2021.03.18**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ДЗЕ СКРИППС РИСЕРЧ
ИНСТИТЮТ (US)**

(72) Изобретатель:
**Чаттерджи Арнаб Кумар, Гупта
Анил Кумар, Элиасен Андерс Микал,
Джозеф Шон Барри (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) Kageyama et al. "Enantioselective Total Synthesis of the Potent Anti-HIV Nucleoside EfdA"; 02 September 2011, Organic Letters, Volume 13, Number 19, Pages 5264-5266; abstract
US-B2-7339053
US-B2-8835615
US-A1-20180002366
WO-A1-2019171285
(PUBCHEM. CID 139466901. 02 November 2019, pg. 1-9. Retrieved from the Internet <URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/139466901> >; entire document

(57) **Описаны соединения:**

фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения, и способы лечения или профилактики инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека, с использованием указанных соединений.

B1**047403****047403****B1**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

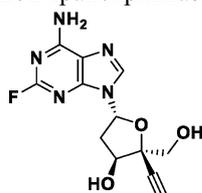
В настоящей заявке испрашивается приоритет по предварительной заявке США с порядковым номером 62/898679, поданной 11 сентября 2019 г., которая включена в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к противовирусным соединениям и фармацевтическим композициям, которые могут быть использованы для лечения или профилактики инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека.

Предпосылки создания изобретения

Соединение (EFdA) (МК-8591) представляет собой нуклеозидный аналог, известный как эффективный ингибитор фермента обратной транскриптазы (Current Opinion in HIV and AIDS 2018, 13, 294-299)



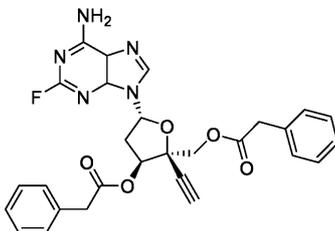
МК-8591 (Ислатравир, EFdA).

Некоторые аналоги EFdA описаны в заявке США, опубликованной как US 2019/185508, включая фосфаты, сложные эфиры, карбонаты, карбаматы, где по меньшей мере один из заместителей в гликозильном донорном кольце содержит атом "D" (D=дейтерий=²H).

Ингибиторы обратной транскриптазы могут быть эффективны при лечении вирусных инфекций, вызванных вирусами, в случаях, когда функция обратной транскриптазы необходима для репликации вируса и продукции вирусных белков, таких как ВИЧ (вирус иммунодефицита человека) и ВГВ (вирус гепатита В, HBV). В случае ВИЧ вирус представляет собой РНК-вирус, который использует обратную транскриптазу для синтеза обратных транскриптов ДНК жизненно важного генома, которые транслируются хозяином с получением вирусных белков. В случае ВГВ, ДНК-вируса, вирусная ДНК-полимераза также выполняет функцию обратной транскриптазы, генерируя вирусную ДНК из промежуточной вирусной РНК во время репликации. Примером противовирусного соединения, которое подавляет как ВИЧ, так и ВГВ, является ламивудин.

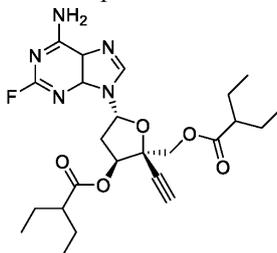
Изложение сущности изобретения

В одном аспекте настоящего изобретения предложено соединение, которое представляет собой:



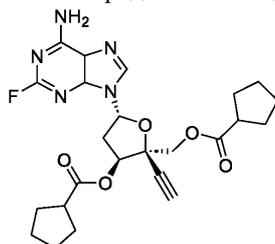
или его фармацевтически приемлемая соль.

В другом аспекте настоящего изобретения предложено соединение, которое представляет собой:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В другом аспекте настоящего изобретения предложено соединение, которое представляет собой:



или его фармацевтически приемлемая соль.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая указанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В еще одном аспекте настоящего изобретения предложен способ лечения или профилактики инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека, у пациента, у которого по медицинским показаниям необходимо ингибирование обратной транскриптазы, включающий введение пациенту эффективного количества или концентрации указанного соединения или его фармацевтически приемлемой соли.

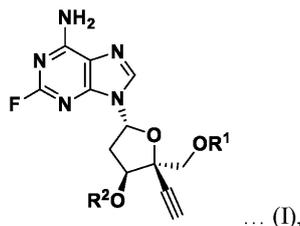
Краткое описание чертежей

На фигурах:

- фиг. 1 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму (XPRD) EFdA;
- фиг. 2 показывает данные, полученные с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) и термогравиметрического анализа (ТГА) EFdA;
- фиг. 3 показывает данные ДСК и ТГА для соединения 2;
- фиг. 4 показывает данные XPRD для соединения 3;
- фиг. 5 показывает данные ДСК для соединения 3;
- фиг. 6 показывает данные ТГА для соединения 3;
- фиг. 7 показывает данные XPRD для соединения 5;
- фиг. 8 показывает данные ДСК для соединения 5;
- фиг. 9 показывает данные ТГА для соединения 5;
- фиг. 10 показывает в графическом виде данные, представленные в табл. 2;
- фиг. 11 показывает в графическом виде данные, представленные в табл. 3;
- фиг. 12 показывает в графическом виде данные, представленные в табл. 4.

Описание предпочтительных вариантов осуществления

Настоящее изобретение обеспечивает в различных вариантах осуществления соединение формулы (I):



где R^1 представляет собой H или X-Lm, где $m=1$ или 2 , и где X-Lm представляет собой $-C(=O)L$, $-C(=O)OL$, $-C(=O)N(L)$, $-C(=O)N(L)_2$, $-CH(R)OC(=O)L$, $-C(=O)CH(R)-NH(L)$, $-C(=O)CH(R)-N(L)_2$, $-P(=O)(NHL)_2$, $-P(=O)(NHL)(NL_2)$ или $-P(=O)(NL_2)_2$, и каждый независимо выбранный L представляет собой (C_{1-22}) алкил, (C_{3-22}) алкенил, где алкенил может содержать 1-6 ненасыщенных связей; (C_{3-7}) циклоалкил, $(CHR)_n$ -фенил, где $n=0$ или 1 , или $-CHR-N(R)_2$, или R^1 представляет собой $-OCH(R)OP(=O)(OH)_2$ или R^1 представляет собой фосфатный остаток или остаток его производного, включая монофосфат, дифосфат, трифосфат, фосфонат, фосфатный полиэфир, фосфат амидат (моно- и ди-), фосфотиоат, фосфоселеноат или фосфобораноат;

R представляет собой H, (C_{1-22}) алкил или (C_{3-22}) алкенил, где алкенил может содержать 1-6 ненасыщенных связей, или представляет собой (C_{3-7}) циклоалкил;

R^2 представляет собой H или X-Lm, или R^2 представляет собой $OCH(R)OP(=O)(OH)_2$, или R^2 представляет собой фосфатный остаток или остаток его производного, включая монофосфат, дифосфат, трифосфат, фосфонат, фосфатный полиэфир, фосфат амидат (моно- и ди-), фосфотиоат, фосфоселеноат или фосфобораноат;

за исключением следующих комбинаций: (a) $R^1=R^2$ =ацетил, (b) $R^1=R^2$ =H и (c) R^2 =H, когда R^1 представляет собой фосфатный остаток или остаток его производного, включающий монофосфат, дифосфат, трифосфат, фосфонат, фосфатный полиэфир, фосфат амидат (моно- и ди-), фосфотиоат, фосфоселеноат или фосфобораноат;

или его фармацевтически приемлемую соль.

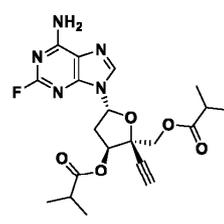
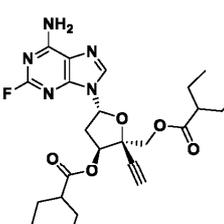
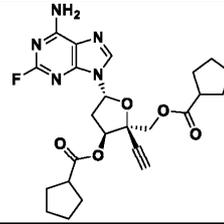
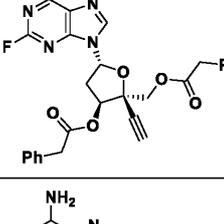
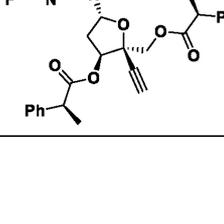
В различных вариантах осуществления соединения формулы (I) может представлять собой любое из конкретных соединений 2-51, показанных в табл. 1.

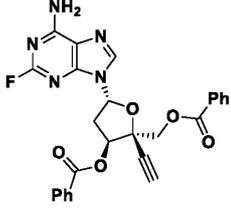
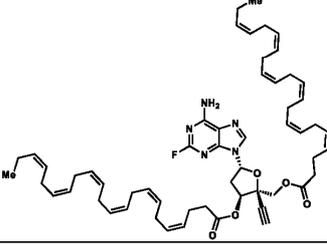
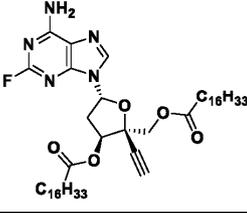
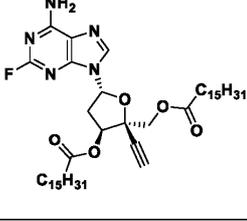
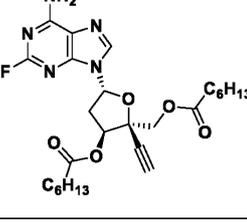
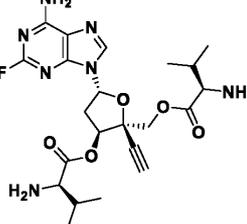
Изобретение дополнительно обеспечивает в различных вариантах осуществления способ ингибирования биологической активности вирусной обратной транскриптазы, включающий обеспечение контакта вируса, экспрессирующего фермент с биологической активностью обратной транскриптазы, с эффективным количеством или концентрацией соединения формулы (I), где ингибирование фермента обратной транскриптазы (РНК-направленной ДНК-полимеразы) замедляет или блокирует вирусную инфекцию.

Изобретение дополнительно обеспечивает в различных вариантах осуществления способ профилактики вирусной инфекции или лечения вирусной инфекции у пациента, у которого по медицинским показаниям необходимо ингибирование обратной транскриптазы, включающий введение пациенту эффективного ко-

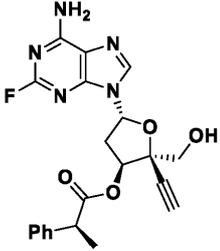
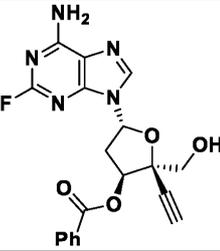
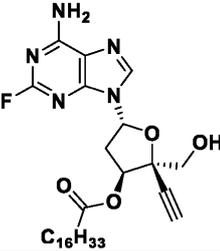
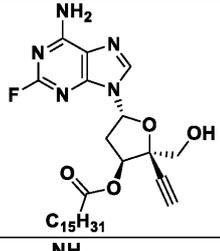
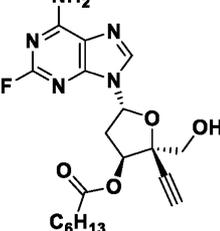
личества или концентрации соединения формулы (I). Более конкретно, соединение формулы (I) можно вводить в составе, который обеспечивает медленное, контролируемое или пролонгированное высвобождение EFdA из этих пролекарств. Более конкретно, соединение формулы (I) может быть приготовлено в виде водной суспензии, растворов, и может быть инкапсулировано в частицы для медленного высвобождения, включая PLGA и частицы, известные в данной области техники. Более конкретно, вирусная инфекция может быть вызвана ВИЧ или ВГВ. Пути введения этих пролекарств могут включать пероральный, парентеральный и имплантаты (композицию и устройство для доставки лекарственного средства), но не ограничиваются ими. В способе лечения или профилактики вирусной инфекции способ может дополнительно включать дополнительное средство против ВИЧ и/или против ВГВ, включая каботегравир, долутегравир, доравирин, элвитегравир, лерсиверин, тенофовира дизопроксила фумарат, тенофовира алафенамид фумарат или ламивудин, но не ограничиваясь ими.

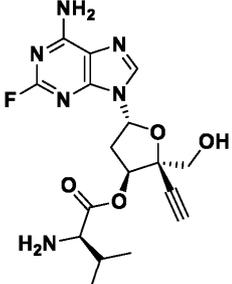
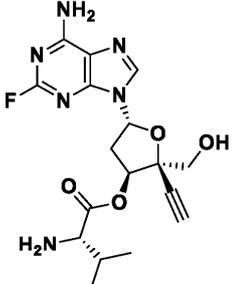
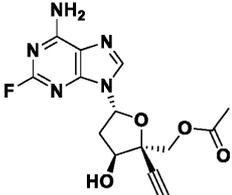
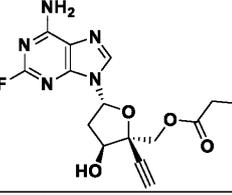
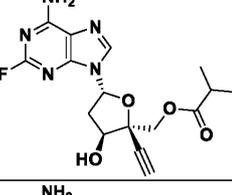
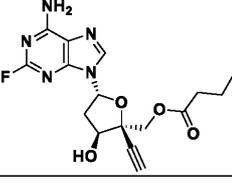
Таблица 1
Соединения по изобретению

№ соед.	Структура	Данные при характеристике (ЯМР и ЖХ-МС)
2		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,34 (с, 1H); 7,96 (с, 1H); 7,87 (с, 1H); 6,35 (т, J = 6,6 Гц, 1H); 5,68 (т, J = 5,6 Гц, 1H); 4,40 (дд, J = 11,9; 1,5 Гц, 1H); 4,21 (д, J = 10,4 Гц, 1H); 3,81 (с, 1H); 3,18 (дт, J = 13,6; 6,8 Гц, 1H); 2,69 – 2,57 (м, 2H); 1,2 – 1,1 (м, 6H); 1,08 – 0,98 (м, 6H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 434,49 (M+H) ⁺ Расчет для C ₂₀ H ₂₄ FN ₃ O ₅ : C, 55,42; H, 5,58; N, 16,16. Найдено: C 55,48; H 5,73; N 15,94. Растворимость в воде (pH 7,4): 0,028 мг/мл
3		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,35 (с, 1H); 7,91 (д, J = 39,8 Гц, 2H); 6,35 (т, J = 6,8 Гц, 1H); 5,73 (т, J = 6,5 Гц, 1H); 4,38 (дд, J = 11,8; 2,5 Гц, 1H); 4,24 (дд, J = 11,7; 2,5 Гц, 1H); 3,81 (с, 1H); 3,20 (дт, J = 13,5; 6,8 Гц, 1H); 2,61 (дт, J = 13,2; 6,6 Гц, 1H); 2,29 (ддд, J = 8,3; 5,6; 2,6 Гц, 1H); 2,13 (тт, J = 8,9; 5,9 Гц, 1H); 1,72 – 1,031 (м, 8H); 0,88 (тт, J = 7,5; 2,3 Гц, 6H); 0,80–0,66 (м, 6H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 490,56 (M+H) ⁺ Растворимость в воде (pH 7,4): <0,002 мг/мл
4		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,34 (с, 1H); 7,92 (д, J = 36,1 Гц, 2H); 6,34 (т, J = 6,8 Гц, 1H); 5,68 (т, J = 6,2 Гц, 1H); 4,39 (дт, J = 11,6; 1,8 Гц, 1H); 4,21 (дд, J = 11,6; 2,4 Гц, 1H); 3,81 (с, 1H); 3,18 (дт, J = 13,9; 6,9 Гц, 1H); 2,90–2,78 (м, 1H); 2,74–2,57 (м, 2H); 1,93–1,44 (м, 16H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 486,44 (M+H) ⁺
5		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,31 (с, 1H); 7,93 (д, J = 37,3 Гц, 2H); 7,39 – 7,12 (м, 10H); 6,35 (т, J = 6,7 Гц, 1H); 5,71 (т, J = 6,0 Гц, 1H); 4,41 (д, J = 11,7 Гц, 1H); 4,25 (д, J = 11,3 Гц, 1H); 3,88 – 3,71 (м, 3H); 3,63 (к, J = 15,8 Гц, 2H); 3,11 (дт, J = 14,0; 7,0 Гц, 1H); 2,63 (дт, J = 12,5; 6,4 Гц, 1H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 530,52 (M+H) ⁺ Растворимость в воде (pH 7,4): <0,002 мг/мл
6		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,26 (с, 1H); 7,93 (д, J = 34,8 Гц, 2H); 7,38 – 7,13 (м, 10H); 6,35 – 6,25 (м, 1H); 5,59 (т, J = 6,3 Гц, 1H); 4,38 (д, J = 11,8 Гц, 1H); 4,09 (д, J = 11,4 Гц, 1H); 3,88 (кв, J = 7,0 Гц, 1H); 3,70 (кв, J = 7,1 Гц, 1H); 3,48 (с, 1H); 3,04 (дт, J = 14,3; 7,0 Гц, 1H); 2,61–2,53 (м, 1H); 1,47 (д, J = 7,4 Гц, 3H); 1,28 (д, J = 7,3 Гц, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 558,65 (M+H) ⁺

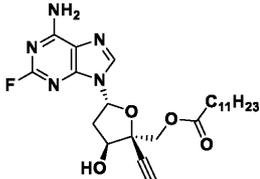
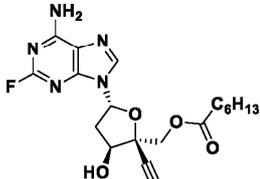
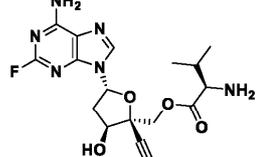
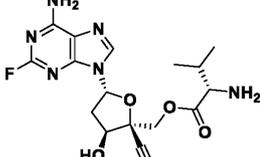
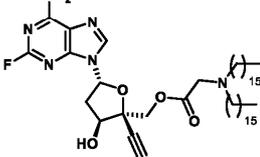
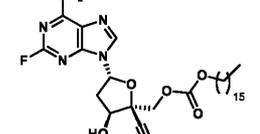
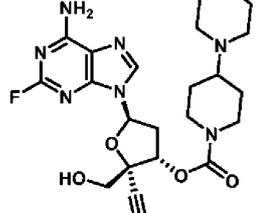
7		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ 8,38 (с, 1H), 8,09 (дт, J = 8,6; 1,4 Гц, 2H), 8,02 – 7,83 (м, 4H), 7,76 – 7,68 (м, 1H), 7,66 (тд, J = 7,4, 1,5 Гц, 1H), 7,59 (тд, J = 7,6; 7,1; 1,7 Гц, 2H), 7,53–7,44 (м, 2H), 6,54 (т, J = 6,8 Гц, 1H) , 6,16–6,08 (м, 1H), 4,72 (д, J = 11,6 Гц, 1H), 4,59 (д, J = 11,5 Гц, 1H), 3,84 (с, 1H), 3,41–3,32 (м, 1H), 2,85 (дт, J = 13,4; 6,3 Гц, 1H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 502,41 (M+H) ⁺
8		^1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,02 (с, 1H), 6,39 (т, J = 6,4 Гц, 1H), 5,64 (т, J = 6,2 Гц, 1H), 5,49 – 5,25 (м, 24H) , 4,50 (д, J = 12,0 Гц, 1H), 4,40 (д, J = 12,2 Гц, 1H), 3,00 (дт, J = 13,6; 6,7 Гц, 1H), 2,90 – 2,66 (м, 21H), 2,53 – 2,30 (м, 10H), 2,07 (п, J = 7,3 Гц, 5H), 0,97 (т, J = 7,5 Гц, 6H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 457,23 (M/2+H) ⁺
9		^1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,92 (с, 1H), 6,40 (т, J = 6,4 Гц, 1H), 5,76 (шир.с, 2H), 5,65 (дд, J = 7,1; 5,3 Гц, 1H), 4,49 (д, J = 12,0 Гц, 1H), 4,38 (д, J = 12,1 Гц, 1H), 2,99 (дт, J = 13,5; 6,7 Гц, 1H), 2,75 – 2,64 (м, 2H), 2,41 (т, J = 7,5 Гц, 2H), 2,34 (к, J = 3,8 Гц, 1H), 1,71 – 1,57 (м, 9H), 1,41 – 1,17 (м, 48H), 0,88 (т, J = 6,8 Гц, 6H). ЭРИ-МС: m/z сигнал отсутствует (M+H) ⁺
10		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ 8,34 (с, 1H), 7,91 (д, J = 30,8 Гц, 2H), 6,34 (т, J = 6,9 Гц, 1H), 5,70 (т, J = 6,4 Гц, 1H), 4,39 (д, J = 11,6 Гц, 1H), 4,22 (д, J = 11,9 Гц, 1H), 3,81–3,73 (м, 1H), 3,14 (дт, J = 14,1; 6,9 Гц, 1H), 2,60 (дт, J = 12,9; 6,0 Гц, 1H), 2,39 (тд, J = 7,3; 2,4 Гц, 2H), 2,32 – 2,17 (м, 2H), 1,64 – 1,52 (м, 2H), 1,51 – 1,39 (м, 2H), 1,38–1,11 (м, 48H), 0,92–0,78 (м, 6H). ЭРИ-МС: m/z сигнал отсутствует (M+H) ⁺
11		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ 8,33 (с, 1H), 7,91 (д, J = 31,7 Гц, 2H), 6,34 (т, J = 6,7 Гц, 1H), 5,70 (т, J = 6,3 Гц, 1H), 4,40 (д, J = 11,6 Гц, 1H), 4,21 (д, J = 11,6 Гц, 1H), 3,82–3,78 (м, 1H), 3,14 (дт, J = 13,8; 6,9 Гц, 1H), 2,61 (дт, J = 13,2; 6,2 Гц, 1H), 2,39 (тд, J = 7,4; 2,9 Гц, 2H), 2,32 – 2,15 (м, 2H), 1,63 – 1,51 (м, 2H), 1,50 – 1,37 (м, 2H), 1,35–1,13 (м, 12H), 0,91–0,76 (м, 6H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 518,25 (M+H) ⁺
12		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 492,64 (M+H) ⁺

13		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 492,55 (M+H) ⁺
14		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 408,3 (M+H) ⁺ Растворимость в воде (рН 7,4): >106 мг/мл (соль HCl)
15		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 436,5 (M+H) ⁺
16		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,35 (с, 1H), 7,93 (д, J = 35,7 Гц, 2H), 6,32 (т, J = 7,2 Гц, 1H), 5,64 – 5,50 (м, 2H), 3,73–3,66 (м, 2H), 3,66–3,55 (м, 1H), 3,01 (дт, J = 14,4; 7,3 Гц, 1H), 2,67–2,57 (м, 1H), 2,55–2,51 (м, 1H), 1,16 (ддд, J = 11,3; 7,1; 1,7 Гц, 6H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 364,53 (M+H) ⁺
17		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 392,47 (M+H) ⁺
18		¹ H ЯМР (400 МГц, метанол-d ₄) δ 8,30 (с, 1H), 6,45 (т, J = 7,1 Гц, 1H), 5,70 (дд, J = 6,8; 3,3 Гц, 1H), 3,94 – 3,80 (м, 2H), 3,21 – 3,17 (м, 1H), 3,03 (дт, J = 14,1; 7,3 Гц, 1H), 2,90 (п, J = 8,3 Гц, 1H), 2,63 (ддт, J = 12,4; 5,8; 2,7 Гц, 1H), 2,04 – 1,87 (м, 4H), 1,79 – 1,60 (м, 4H). ЭРИ-МС: m/z сигнал отсутствует (M+H) ⁺
19		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,35 (с, 1H), 7,93 (д, J = 35,1 Гц, 2H), 7,40 – 7,20 (м, 5H), 6,33 (т, J = 7,0 Гц, 1H), 5,59 (т, J = 6,3 Гц, 2H), 3,85 – 3,71 (м, 2H), 3,69 (дд, J = 11,8; 5,6 Гц, 1H), 3,65 – 3,63 (м, 1H), 3,59 (дд, J = 11,9; 7,0 Гц, 1H), 3,01 (дт, J = 14,4; 7,3 Гц, 1H), 2,58 – 2,52 (м, 1H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 412,43 (M+H) ⁺

20		^1H ЯМР 1H (400 МГц, ДМСО-d6) δ 8,34 (с, 1H), 7,92 (с, 2H), 7,41 – 7,23 (м, 5H), 6,30 (т, J = 7,0 Гц, 1H), 5,59 – 5,49 (м, 2H), 3,87 (к, J = 7,1 Гц, 1H), 3,64 (дд, J = 11,9; 5,4 Гц, 1H), 3,57 – 3,47 (м, 1H), 3,01 (дт, J = 14,2; 7,2 Гц, 1H), 2,58 – 2,54 (м, 1H), 1,49 (д, J = 7,2 Гц, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 426,56 (M+H) ⁺
21		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ 8,39 (с, 1H), 8,11 – 8,04 (м, 2H), 7,94 (д, J = 35,1 Гц, 2H), 7,71 (ддд, J = 8,2; 7,3, 2,7; 1,3 Гц, 1H), 7,62 – 7,51 (м, 2H), 6,45 (т, J = 7,2 Гц, 1H), 5,87 – 5,75 (м, 1H), 5,71 – 5,61 (м, 1H), 3,82 – 3,63 (м, 3H), 3,13 (дт, J = 14,2; 7,1 Гц, 1H), 2,77 – 2,65 (м, 1H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 398,47 (M+H) ⁺
22		^1H ЯМР (400 МГц, метанол-d4) δ 8,29 (с, 1H), 6,49 – 6,41 (м, 1H), 5,73 (дд, J = 6,9; 3,4 Гц, 1H), 3,90 (д, J = 12,1 Гц, 1H), 3,84 (д, J = 12,1 Гц, 1H), 3,17 (с, 1H), 3,03 (дт, J = 14,4; 7,3 Гц, 1H), 2,63 (ддд, J = 13,8; 6,2; 3,4 Гц, 1H), 2,46 (т, J = 7,5 Гц, 2H), 1,75 – 1,57 (м, 3H), 1,33 – 1,28 (м, 25H), 0,92 (т, J = 6,7 Гц, 3H). ЭРИ-МС: m/z сигнал отсутствует (M+H) ⁺
23		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ 8,35 (с, 1H), 7,93 (д, J = 38,4 Гц, 2H), 6,31 (т, J = 7,2 Гц, 1H), 5,63 – 5,54 (м, 2H), 3,75–3,64 (м, 2H), 3,60 (дд, J = 11,9; 7,1 Гц, 1H), 3,00 (дт, J = 14,4; 7,3 Гц, 1H), 2,55–2,51 (м, 1H), 2,46–2,31 (м, 2H), 1,64–1,50 (м, 2H), 1,36–1,16 (м, 24H), 0,89–0,81 (м, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 532,74 (M+H) ⁺
24		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d6) δ 8,35 (с, 1H), 7,93 (д, J = 37,5 Гц, 2H), 6,31 (т, J = 7,2 Гц, 1H), 5,64 – 5,54 (м, 2H), 3,74 – 3,65 (м, 2H), 3,60 (дд, J = 11,9, 7,0 Гц, 1H), 3,00 (дт, J = 14,2; 7,2 Гц, 1H), 2,56–2,51 (м, 1H), 2,46–2,31 (м, 2H), 1,64–1,50 (м, 2H), 1,37–1,21 (м, 6H), 0,92–0,80 (м, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 406,55 (M+H) ⁺

25		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,35 (с, 1H), 7,93 (д, $J = 31,1$ Гц, 2H), 6,33 (т, $J = 7,0$ Гц, 1H), 5,59 (дд, $J = 6,6$; 3,8 Гц, 2H), 3,74 – 3,65 (м, 2H), 3,61 (дд, $J = 11,9$; 6,8 Гц, 1H), 3,20 (д, $J = 5,3$ Гц, 1H), 3,09 – 2,99 (м, 4H), 2,00 – 1,92 (м, 1H), 0,93 (д, $J = 6,7$ Гц, 3H), 0,88 (д, $J = 6,7$ Гц, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 393,52 (M+H) ⁺
26		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 393,48 (M+H) ⁺
27		^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,28 (с, 1H), 7,86 (с, 2H), 6,24 (дд, $J = 8,0$; 4,0 Гц, 1H), 5,80 (д, $J = 5,4$ Гц, 1H), 4,70 (к, $J = 7,4$ Гц, 1H), 4,39 (д, $J = 11,7$ Гц, 1H), 4,09 (д, $J = 11,7$ Гц, 1H), 3,65 (д, $J = 1,0$ Гц, 1H), 2,77 (дд, $J = 12,1$; 7,2; 4,0 Гц, 1H), 2,47 – 2,43 (м, 1H), 1,94 (с, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 336,42 (M+H) ⁺
28		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 350,49 (M+H) ⁺
29		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 364,57 (M+H) ⁺
30		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 364,49 (M+H) ⁺

31		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 392,48 (M+H) ⁺
32		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 390,3 (M+H) ⁺
33		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 350,18 (M+H) ⁺
34		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 412,43 (M+H) ⁺
35		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 426,54 (M+H) ⁺
36		¹ H ЯМР (499 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,26 (с, 1H), 7,84 (с, 2H), 6,24 (дд, J = 8,0; 4,0 Гц, 1H), 5,78 (д, J = 5,5 Гц, 1H), 5,35–5,26 (м, 2H), 4,74–4,66 (м, 1H), 4,41 (д, J = 11,7 Гц, 1H), 4,09 (д, J = 11,8 Гц, 1H), 3,62 (с, 1H), 2,78 (ддд, J = 13,4; 7,3; 4,0 Гц, 1H), 2,18 (ддт, J = 30,6; 15,6; 7,8 Гц, 2H), 1,96 (ш, J = 6,2 Гц, 5H), 1,45–1,35 (м, 2H), 1,31–1,14 (м, 19H), 0,87–0,82 (м, 3H). ЭРИ-МС: m/z сигнал отсутствует (M+H) ⁺
37		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 546,67 (M+H) ⁺
38		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,27 (с, 1H), 7,84 (с, 2H), 6,23 (дд, J = 8,0; 3,9 Гц, 1H), 5,79 (д, J = 4,9 Гц, 1H), 4,70 (к, J = 7,3 Гц, 1H), 4,41 (д, J = 11,7 Гц, 1H), 4,08 (д, J = 11,7 Гц, 1H), 3,63 (с, 1H), 2,78 (ддд, J = 13,3; 7,3; 4,0 Гц, 1H), 2,44 (д, J = 8,0 Гц, 1H), 2,28–2,06 (м, 2H), 1,45–1,34 (м, 2H), 1,29–1,11 (м, 25H), 0,85 (t, J = 6,6 Гц, 3H). ЭРИ-МС: m/z сигнал отсутствует (M+H) ⁺

39		¹ H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,26 (с, 1H), 7,82 (с, 2H), 6,24 (дд, J = 8,0, 4,0 Гц, 1H), 5,77 (д, J = 5,4 Гц, 1H), 4,70 (тд, J = 7,7; 5,4 Гц, 1H), 4,41 (д, J = 11,8 Гц, 1H), 4,09 (д, J = 11,8 Гц, 1H), 3,61 (с, 1H), 2,78 (ддд, J = 13,5; 7,3; 4,0 Гц, 1H), 2,48 – 2,43 (м, 1H), 2,18 (ддт, J = 30,5; 15,6; 7,8 Гц, 2H), 1,46 – 1,35 (м, 2H), 1,29 – 1,13 (м, 16H), 0,85 (т, J = 6,9 Гц, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 476,66 (M+H) ⁺
40		¹ H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d ₆) δ 8,27 (с, 1H), 7,84 (с, 2H), 6,24 (дд, J = 8,0; 4,0 Гц, 1H), 5,78 (д, J = 5,4 Гц, 1H), 4,71 (тд, J = 7,8; 5,5 Гц, 1H), 4,42 (д, J = 11,7 Гц, 1H), 4,09 (д, J = 11,8 Гц, 1H), 3,63 (с, 1H), 2,79 (ддд, J = 13,4; 7,3; 4,0 Гц, 1H), 2,49 – 2,42 (м, 1H), 2,26 – 2,09 (м, 2H), 1,44 – 1,33 (м, 2H), 1,25 – 1,09 (м, 6H), 0,82 (т, J = 7,0 Гц, 3H). ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 406,57 (M+H) ⁺
41		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 415,47 (M+Na) ⁺
42		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 393,32 (M+H) ⁺
43		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 797,4 (M-H) ⁻
44		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 562,8 (M+H) ⁺
45		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 488,6 (M+H) ⁺

46		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 488,7 (M+H)+
47		ЭРИ-МС: m/z= 828,4 (M-H)-
48		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 604,8 (M+H) +
49		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 398,5 (M+H) +
50		ЭРИ-МС: наблюдаемое m/z 428,3 (M+H)-

Примеры

Сокращения.

Используются следующие сокращения: тетрагидрофуран (THF), дихлорметан (DCM), ацетонитрил (MeCN), N,N-диметилформамид (DMF), диметилсульфоксид (DMSO), трифторуксусная кислота (TFA), триэтиламин (TEA), диизопропилэтиламин (DIPEA), метанол (MeOH), этилацетат (EtOAc), 4-диметиламинопиридин (DMAP), N-(3-диметиламинопропил)-N'-этилкарбодиимида гидрохлорид (EDO·HCl), N,N'-дициклогексилкарбодиимид (DCC).

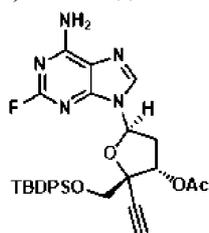
Общие примеры получения соединений по изобретению.

Исходные материалы и промежуточные соединения для соединений по данному изобретению могут быть получены путем применения или адаптации способов, описанных ниже, их очевидных химических эквивалентов или, например, как описано в литературе, такой как The Science of Synthesis, Volumes 1-8. Editors E. M. Carreira et al., Thieme publishers (2001-2008). Подробная информация о вариантах реагентов и реакций также доступна при поиске структуры и реакции с использованием коммерческих компьютерных поисковых систем, таких как Scifinder (www.cas.org) или Reaxys (www.reaxys.com).

Часть I. Получение промежуточных продуктов и EFdA (МК-8591).

Пример 1.

Синтез промежуточного соединения-А, -В и соединения 1 (EFdA).

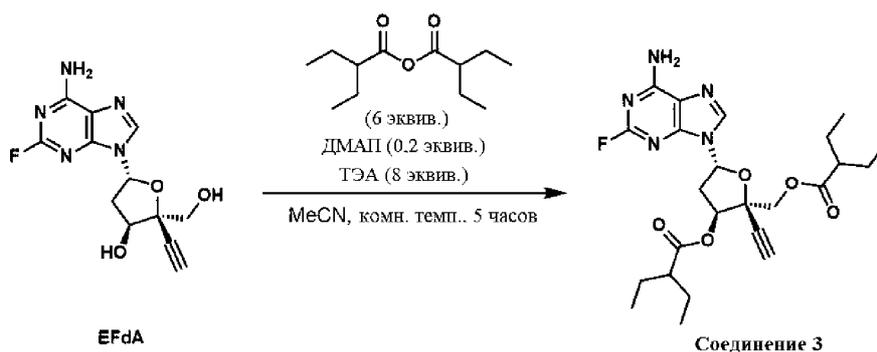


Промежуточное
соединение А

(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9Н-пурин-9-ил)-2-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-

дого вещества (2,5 г, выход 85%). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 434,49 [M+H]⁺.

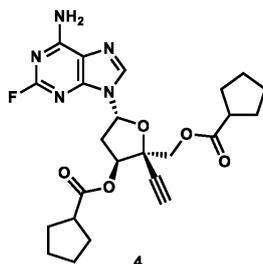
Пример 3



(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-(((2-этилбутаноил)окси)метил)-2-этинилтетрагидрофуран-3-ил 2-этилбутаноат, 3.

К смеси EFdA (1 г; 3,4 ммоль; 1 экв.), 2-этилбутанового ангидрида (4,4 г; 20,4 ммоль; 6 экв.), триэтиламина (TEA) (3,8 мл; 27,2 ммоль; 8 экв.) в безводном ацетонитриле (MeCN) (43 мл), охлажденной до 0°C, добавляли 4-диметиламинопиридин (DMAP) (83 мг; 0,68 ммоль; 0,2 экв.) при 0°C. Полученную смесь перемешивали в течение 0,5 ч при 0°C, а затем в течение 5 ч при комнатной температуре. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС из-за случайного алкилирования группы NH₂, наблюдаемого в течение удлиненного времени реакции. Реакционную смесь гасили метанолом, и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Полученный неочищенный материал очищали хроматографией на колонке с силикагелем, используя 60-70% этилацетат (EtOAc) в гексане, с получением соединения 3 в виде стеклообразного твердого вещества. Полученное стеклообразное твердое вещество диспергировали в минимальном количестве изопропанола с последующим его ротационным выпариванием с получением чистого соединения в виде белого твердого вещества (1,33 г; выход 80%). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 490,56 [M+H]⁺.

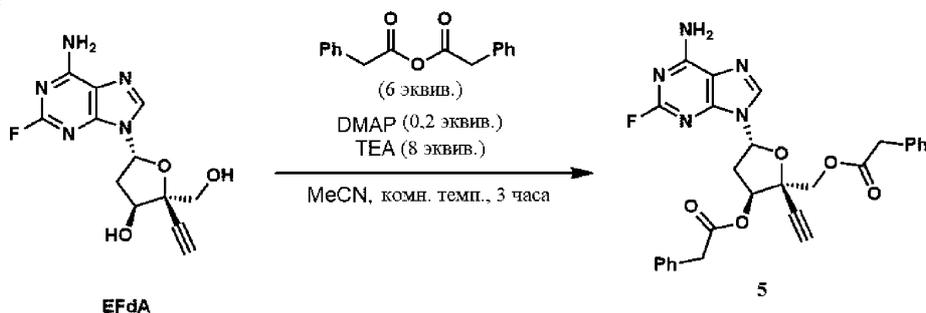
Пример 4



(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-(((циклопентанкарбонил)окси)метил)-2-этинилтетрагидрофуран-3-ил циклопентанкарбоксилат, 4.

Соединение 4 получали с использованием процедуры, аналогичной получению соединения 2. ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 486,44 [M+H]⁺.

Пример 5

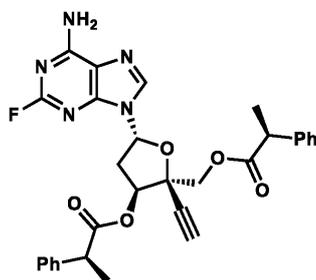


(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-этинил-2-((2-фенилацетокси)метил)тетрагидрофуран-3-ил 2-фенилацетат, 5.

К смеси EFdA (499 мг; 1,7 ммоль; 1 экв.), 2-фенилуксусного ангидрида (2,6 г; 10,2 ммоль; 6 экв.), триэтиламина (TEA) (1,9 мл; 13,6 ммоль; 8 экв.) в безводном ацетонитриле (MeCN) (22 мл), охлажденной до 0°C, добавляли 4-диметиламинопиридин (DMAP) (42 мг; 0,34 ммоль; 0,2 экв.) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 ч при 0°C, а затем в течение 3 ч при комнатной температуре. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС из-за случайного алкилирования группы NH₂, наблюдаемого в течение удлиненного времени реакции. Реакционную смесь гасили метанолом, и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Полученный неочищенный материал очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием 60-70% этилацетата (EtOAc) в гексане с получением соединения 5

в виде стеклообразного твердого вещества. Полученное стеклообразное твердое вещество диспергировали в минимальном количестве изопропанола с последующим его ротационным выпариванием, с получением чистого соединения 5 в виде белого твердого вещества (694 мг, выход 77%). ЖХ-МС (ЭРИ+): m/z 530,52 $[M+H]^+$.

Пример 6

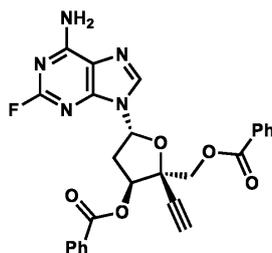


6

(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-этил-2-(((S)-2-фенилпропаноил)окси)метил)-тетрагидрофуран-3-ил (S)-2-фенилпропаноат, 6.

Соединение 6 получали по методике, аналогичной получению соединения 2, со следующими отличиями: (а) вместо 6 использовали 4 экв. соответствующей кислоты; (б) после удаления мочевины фильтрацией растворитель выпаривали при пониженном давлении, затем полученное белое твердое вещество суспендировали в минимальном количестве изопропанола и перемешивали в течение часа. Затем суспензию фильтровали, получая чистое соединение в виде белого твердого вещества с выходом 75%. ЖХ-МС (ЭРИ+): m/z 558,65 $[M+H]^+$.

Пример 7

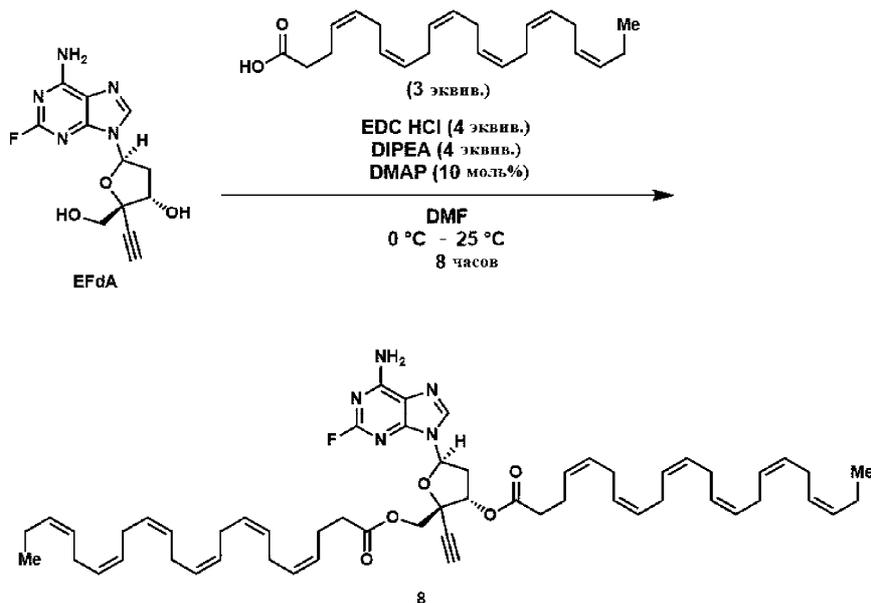


7

(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-((бензоилокси)метил)-2-этилтетрагидрофуран-3-илбензоат, 7.

Соединение 7 получали с использованием процедуры, аналогичной получению соединения 2, с использованием 4,5 экв. соответствующей кислоты. ЖХ-МС (ЭРИ+): m/z 502,41 $[M+H]^+$.

Пример 8



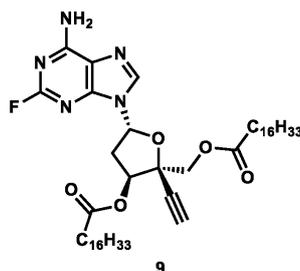
8

(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-(((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-докоза-4,7,10,13,16,19-гексаноил)окси)метил)-2-этилтетрагидрофуран-3-ил (4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-докоза-4,7,10,13,16,19-

гексаеноат, 8.

К смеси EFdA (117 мг; 0,4 ммоль; 1 экв.), докозагексаеновой кислоты (0,39 г; 1,2 ммоль; 3 экв.), DMAP (4,9 мг; 0,04 ммоль; 0,1 экв.), EDO-HCl (307 мг; 1,6 ммоль; 4 экв.) в безводном DMF (4 мл), и охлажденной до 0°C добавляли DIPEA (0,3 мл; 1,6 ммоль; 4 экв.) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 8 ч при комнатной температуре. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС из-за случайного алкилирования группы NH₂, наблюдаемого в течение удлиненного времени реакции. После этого реакционную смесь разбавляли EtOAc и трижды промывали 2,5% NaCl, трижды буферным раствором с pH ~7 и один раз рассолом, а затем растворитель удаляли сушкой, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Полученное неочищенное вещество очищали хроматографией на колонке с силикагелем, используя 5% DCM в MeOH, с получением соединения 8 в виде гелеобразного полутвердого вещества (183 мг, выход 50%). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 457,23 [M/2+H]⁺.

Пример 9

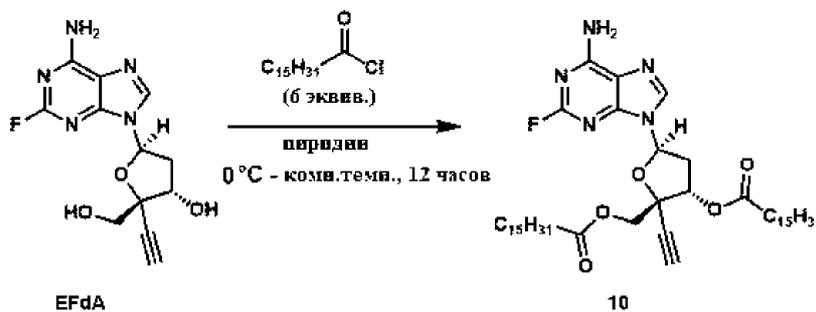


(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-этинил-2-((гептадеканоиокси)метил)-тетрагидрофуран-3-илгептадеканоат, 9.

Соединение 9 получали с использованием процедуры, применяемой для соединения 2, с использованием 8 экв. соответствующей кислоты и 6 экв. DCC.

¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,92 (с, 1H), 6,40 (т, J=6,4 Гц, 1H), 5,76 (шир.с, 2H), 5,65 (дд, J=7,1; 5,3 Гц, 1H), 4,49 (д, J=12,0 Гц, 1H), 4,38 (д, J=12,1 Гц, 1H), 2,99 (дт, J=13,5; 6,7 Гц, 1H), 2,75 - 2,64 (м, 2H), 2,41 (т, J=7,5 Гц, 2H), 2,34 (к, J=3,8 Гц, 1H), 1,71 - 1,57 (м, 9H), 1,41 - 1,17 (м, 48H), 0,88 (т, J=6,8 Гц, 6H). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z сигнала не наблюдается.

Пример 10

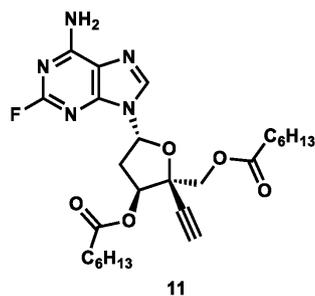


(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9H-пурин-9-ил)-2-этинил-2-((пальмитоиокси)метил)-тетрагидрофуран-3-илпальмитат, 10.

В колбу, содержащую EFdA (202 мг; 0,7 ммоль; 1 экв.), добавляли безводный пиридин (7 мл). Смесь перемешивали 1-2 мин и охлаждали до 0°C. К этой смеси по каплям добавляли пальмитоил хлорид (1,3 мл; 4,2 ммоль; 6 экв.) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС из-за случайного алкилирования группы NH₂, наблюдаемого в течение удлиненного времени реакции. После этого реакционную смесь разбавляли EtOAc и трижды промывали водой, один раз NaHCO₃ и один раз рассолом, а затем растворитель удаляли сушкой, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Полученный неочищенный материал очищали хроматографией на колонке с силикагелем, используя 60-70% EtOAc в гексане, с получением соединения 10 в виде стеклообразного твердого вещества. Полученное твердое вещество диспергировали в минимальном количестве изопропанола с последующим его ротационным выпариванием с получением чистого соединения в виде белого твердого вещества (372 мг, выход 70%).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,34 (с, 1H), 7,91 (д, J=30,8 Гц, 2H), 6,34 (т, J=6,9 Гц, 1H), 5,70 (т, J=6,4 Гц, 1H), 4,39 (д, J=11,6 Гц, 1H), 4,22 (д, J=11,9 Гц, 1H), 3,81-3,73 (м, 1H), 3,14 (дт, J=14,1; 6,9 Гц, 1H), 2,60 (дт, J=12,9; 6,0 Гц, 1H), 2,39 (тд, J=7,3; 2,4 Гц, 2H), 2,32-2,17 (м, 2H), 1,64-1,52 (м, 2H), 1,51-1,39 (м, 2H), 1,38-1,11 (м, 48H), 0,92-0,78 (м, 6H). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z сигнала не наблюдается.

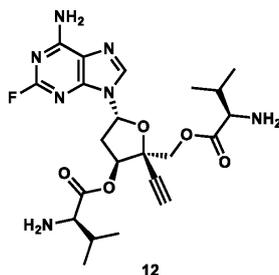
Пример 11



(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9Н-пурин-9-ил)-2-этил-2-((гептаноилокси)метил)тетрагидрофуран-3-илгептаноат, 11.

Соединение 11 получали с использованием процедуры, описанной для соединения 2, с использованием 8 экв. соответствующей кислоты и 6 экв. DCC. ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 518,25 [M+H]⁺.

Пример 12



((2R,3S,5R)-3-((D-валил)окси)-5-(6-амино-2-фтор-9Н-пурин-9-ил)-2-этилтетрагидрофуран-2-ил)метил D-валинат, 12.

Соединение 12 получали с использованием процедуры, аналогичной получению соединения 2, с использованием 7 экв. соответствующей Boc-защищенной аминокислоты и 7 экв. DCC с последующим обычным удалением Boc-группы с использованием HCl в диоксане. ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 492,64 [M+H]⁺.

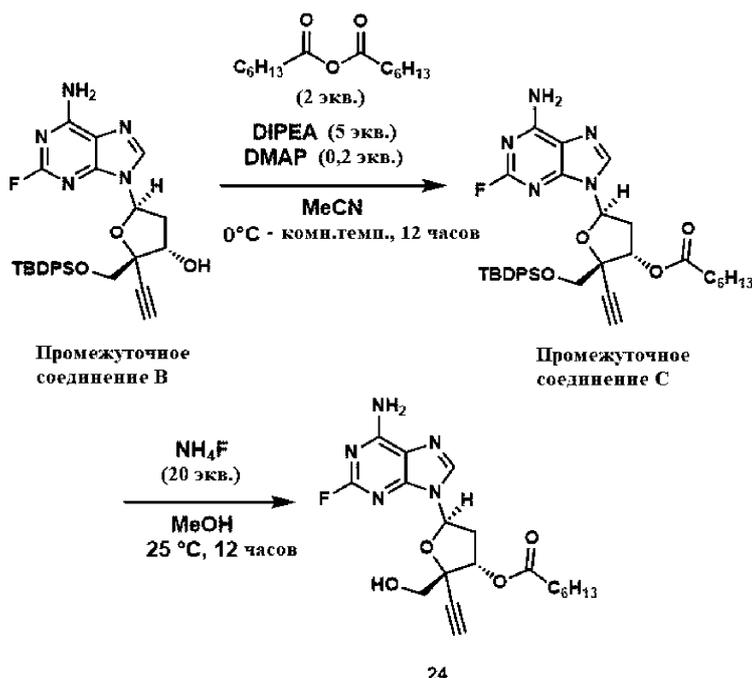
Примеры 13-15.

Соединения 13-15 готовили с применением процедуры, аналогичной получению соединения 12.

Примеры 16-23.

Соединения 16-23 готовили с применением процедуры, аналогичной получению соединения 24, описанной ниже в примере 24.

Пример 24



(2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9Н-пурин-9-ил)-2-этил-2-(гидроксиметил)тетрагидрофуран-3-илгептаноат, 24.

Стадия 1. К раствору промежуточного соединения В (400 мг; 0,75 ммоль; 1 экв.) в безводном MeCN (12 мл) добавляли DIPEA (0,6 мл; 3,77 ммоль; 5 экв.) и DMAP (18,4 мг; 0,15 ммоль; 0,2 экв.). К этому

перемешиваемому раствору при 0°C по каплям добавляли гептановый ангидрид (365 мг; 1,5 ммоль; 2 экв.) в MeCN (5 мл). Полученную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС. После завершения реакции реакционную смесь гасили ледяной водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Объединенный органический слой сушили, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Полученный неочищенный материал очищали хроматографией на колонке с силикагелем, используя 1,5% DCM в MeOH, с получением промежуточного соединения С (430 мг, выход 88,8%). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 645,00 [M+H]⁺.

Стадия 2. К раствору промежуточного соединения С (430 мг; 0,67 ммоль; 1 экв.) в безводном MeOH (5 мл) добавляли NH₄F (495 мг; 13,35 ммоль; 20 экв.). Полученную смесь затем перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС. После завершения реакции реакционную смесь гасили ледяной водой (20 мл) и экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Объединенный органический слой сушили, фильтровали и упаривали при пониженном давлении. Полученное неочищенное вещество очищали хроматографией на колонке с силикагелем, используя 2,5% DCM в MeOH, с получением соединения 24 в виде почти белого твердого вещества (187 мг, выход 69,1%). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 406,55 [M+H]⁺.

Примечание: если реакция не завершалась после 12-часового перемешивания при комнатной температуре, перемешивали еще 2 ч при 60°C для других соединений, включая соединение 24.

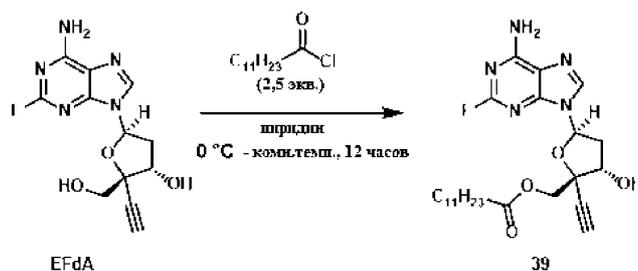
Примеры 25-26.

Соединения 25-26 получали, используя процедуру, описанную для соединения 24, описанную выше в примере 24.

Примеры 27-38.

Соединения 27-38 получали, используя процедуру, описанную для соединения 39, описанную ниже в примере 39.

Пример 39



((2R,3S,5R)-5-(6-амино-2-фтор-9Н-пурин-9-ил)-2-этинил-3-гидрокси-тетрагидрофуран-2-ил)метилдодеcanoат, 39.

В колбу, содержащую EFdA (997 мг; 3,4 ммоль; 1 экв.), добавляли безводный пиридин (34 мл). Смесь перемешивали 1-2 мин и охлаждали до 0°C. К этой смеси по каплям добавляли лауроилхлорид (2,0 мл; 8,5 ммоль; 2,5 экв.) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию контролировали с помощью ЖХ-МС из-за случайного алкилирования группы NH₂, наблюдаемого в течение удлиненного времени реакции. После этого реакционную смесь разбавляли EtOAc и трижды промывали водой, один раз NaHCO₃ и один раз рассолом, а затем растворитель сушили, фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Полученный неочищенный материал очищали хроматографией на колонке с силикагелем, используя 1,5% DCM в MeOH, с получением соединения 39 в виде почти белого твердого вещества (1,0 г, выход 65%). ЖХ-МС (ЭРИ⁺): m/z 476,66 [M+H]⁺.

Примеры 40-42.

Соединения 40-42 получали, используя процедуру, описанную для соединения 39, описанную выше в примере 39.

Примеры 43-50.

Соединение 43 можно получить, используя процедуру, описанную для соединения 39, с использованием хлорангида известной кислоты дигексадецилглицина.

Соединение 44 может быть получено реакцией между EFdA и соответствующим хлорформатом в пиридине в качестве растворителя.

Соединения 45-50 могут быть получены в соответствии с процедурами, аналогичными описанным в других примерах.

Синтез стабильных кристаллических форм.

Пример 51.

Соединение 2 (~200 мг) полностью растворяли в минимальном количестве ацетона при перемешивании. Затем проводили медленное выпаривание растворителей при температуре окружающей среды. Это привело к перекристаллизации образца в виде белого порошка. Также можно использовать другие растворители, включая этилацетат, метанол и тетрагидрофуран.

Общие примеры композиций соединений по изобретению.

Все протоколы составов давали стабильную водную суспензию, пригодную для введения шприцем калибра 26.

Пример 52.

Соединение 1 (EFdA) измельчали и просеивали через сито № 80. 300 мг 1 помещали в подходящий контейнер и добавляли раствор предварительно полученной 0,25% натрий-карбоксиметилцеллюлозы (натрий-КМЦ) и 0,1% полиоксиэтилен (20) сорбитан моноолеата (TWEEN-80) для получения 1 г (300 мг 1 + ~700 мг раствора полимера) готовой композиции (примерно 300 мг/г). Затем суспензию обрабатывали ультразвуком в течение 10 минут на бане со льдом. Плотность композиции составляла 1,064 г/мл. При этом суспензия полученной композиции обеспечивала концентрацию соединения 1 (EFdA) 319,2 мг/мл.

Пример 53.

Перекристаллизованное соединение 2 измельчали и просеивали через сито № 80. 250 мг 1 помещали в подходящий контейнер и добавляли раствор предварительно полученной 0,25% карбоксиметилцеллюлозы натрия и 0,1% Твин-80 для получения 1 г (250 мг 1 + ~750 мг раствора полимера) готовой композиции (~250 мг/г). Затем суспензию обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин на бане со льдом (время обработки ультразвуком: 5 мин; амплитуда импульса: 20; время включения импульса: 30 с; время выключения импульса: 20 с).

Пример 54.

Соединение 3 измельчали и просеивали через сито № 80. 250 мг соединения 3 помещали в подходящий контейнер и добавляли раствор предварительно полученной 0,25% КМЦ натрия и 0,5% Твин-80 для получения 1 г (250 мг соединения 3 + ~750 мг раствора полимера) готовой композиции (~250 мг/г). Затем суспензию обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин на бане со льдом (время обработки ультразвуком: 5 мин; амплитуда импульса: 20; время включения импульса: 30 с; время выключения импульса: 20 с). Плотность композиции составляла 1,004 г/мл. При этом вышеуказанная суспензия композиции содержала 250,88 мг/мл соединения 3 (~150 мг/мл EFdA).

Пример 55.

Соединение 5 измельчали и просеивали через сито № 80. 200 мг соединения 5 помещали в подходящий контейнер и добавляли раствор предварительно полученной 0,25% КМЦ натрия и 0,5% Твин-80 для получения 1 г (200 мг соединения 5 + ~800 мг раствора полимера) готовой композиции (~200 мг/г). Затем суспензию обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин на бане со льдом (время обработки ультразвуком: 5 мин; амплитуда импульса: 20; время включения импульса: 30 с; время выключения импульса: 20 с). Плотность композиции составила 1,047 г/мл. При этом вышеупомянутая суспензия композиции содержала концентрацию 209,4 мг/мл соединения 5 (~115,97 мг/мл EFdA).

Фармакокинетические (ФК) исследования.

1. Животные. Животные (самцы крыс Спрег-Доули ~200-250 г и самцы макак-резус ~2-3 кг) были получены от утвержденного поставщика (SLAC Laboratory Animal Co. Ltd., Шанхай, Китай и/или Torgene Biotechnology, Ухань, провинция Хубэй, Китай).

Акклиматизация/карантин. По прибытии животных оценивал на предмет их общего состояния здоровья представитель ветеринарного персонала или другого уполномоченного персонала. Животных акклиматизировали не менее 3 дней перед исследованием.

Содержание животных. Животных содержали группами во время акклиматизации и индивидуально во время исследования. Среду в помещении для животных контролировали (целевые условия: температура от 18 до 26°C, относительная влажность от 30 до 70%, 12 ч искусственного освещения и 12 ч темноты). Ежедневно контролировали температуру и относительную влажность.

Канюлирование животных. Не проводили.

Животных не кормили по меньшей мере за 12 ч до введения. Всем животным был предоставлен доступ к сертифицированному рациону для грызунов и не грызунов (кат. № M01-F, SLAC Laboratory Animal Cl. Ltd., Шанхай, Китай) без ограничений через 4 часа после введения дозы.

Воду автоклавировали перед тем, как дать животным без ограничения. Проводили периодические анализы воды и результаты архивировали. Не было известных загрязняющих веществ в рационе или воде, которые на уровне обнаружения могли бы повлиять на цель, проведение или результат исследования.

2. Дозировка композиции.

Композиция для подкожного введения: Композиции готовили в день применения в соответствии с процедурой, описанной выше в примерах 52-55 и в табл. 2-4. Животным вводили дозы в течение четырех часов после приготовления суспензии. Две аликвоты по 20 мкл каждой приготовленной суспензии переносили в 1,5 мл полипропиленовые микроцентрифужные пробирки, и валидацию дозы проводили с помощью ЖХ/УФ или ЖХ-МС/МС.

3. Применение дозы.

Композиции вводили посредством подкожной инъекции (п/к) в соответствии со стандартными операционными процедурами учреждения (СОП).

4. Сбор образцов.

Из подкожной вены в каждый момент времени брали приблизительно 200 мкл крови у крыс и 0,5 мл у макак-резус. Все образцы крови переносили в микроцентрифужные пробирки, содержащие 4 мкл

K₂EDTA (0,5 M) в качестве антикоагулянта, и помещали на влажный лед до обработки для получения плазмы.

5. Обработка крови/плазмы.

Кровь. Образцы крови обрабатывали для получения плазмы путем центрифугирования при температуре приблизительно 4°C, 3000 g, 15 мин в течение получаса после сбора. Образцы плазмы хранили в полипропиленовых пробирках, быстро замораживали над сухим льдом и хранили при температуре -70±10°C до анализа методом ЖХ-МС/МС.

6. Анализ образцов.

Проверка концентрации дозы композиции.

Аликвоты композиций собирали в среднем положении каждой дозы композиции в двух повторностях.

Концентрацию активного ингредиента в образцах дозы композиции определяли методом ЖХ/УФ или ЖХ-МС/МС.

Биоаналитический метод и анализ образцов.

Методы ЖХ-МС/МС для количественного определения активного ингредиента (тестируемого соединения) в соответствующей биологической матрице были разработаны не в соответствии с требованиями GLP.

Для метода была применена калибровочная кривая с 8 ненулевыми стандартами калибровки, включая нижний предел количественного определения (НПКО).

Для метода применяли набор образцов контроля качества (КК), состоящий из низкой, средней и высокой концентрации.

Анализ исследуемого образца выполняли одновременно с набором калибровочных стандартов и двумя наборами образцов для контроля качества с использованием метода ЖХ-МС/МС (если количество образцов превышало 48, применяли две калибровочные кривые с 2 наборами образцов для контроля качества).

Критерии приемлемости.

Линейность. Как минимум 6 калибровочных стандартов находились в пределах ±20% от их номинальных значений в плазме.

Точность. Минимум 4 из 6 образцов контроля качества находились в пределах ±20% от их номинальных значений в плазме.

Специфичность. Средняя расчетная концентрация в одной пустой матрице должна быть в 0,5 раза больше НПКО.

Чувствительность. НПКО должен составлять 1~3 нг/мл.

Перенос, средняя расчетная остаточная концентрация в единственной пустой матрице сразу после введения самого высокого стандарта должна быть ≤НПКО. Если перенос не может соответствовать критериям, то следует оценить процент переноса в соответствии с внутренней биоаналитической СОП.

7. Анализ данных

Данные о концентрации в плазме в зависимости от времени анализировали с помощью некомпартментных подходов с использованием программного обеспечения Phoenix WinNonlin 6.3. Получали значения C_{max} , T_{max} , $T^{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$, %F и строили графики зависимости концентрации в плазме от времени.

Пример 5б.

Несколько пролекарств, включая EFdA (1) в качестве контроля, подвергали исследованиям фармакокинетики после подкожного введения однократной дозы у крыс. Всем животным вводили эквивалентные дозы 10 мг/кг и концентрацию 4 мг/мл EFdA в виде водной суспензии в 0,5% КМЦ-Na и 0,5% TWEEN-80. Хотя наблюдалась схожая экспозиция, все соединения 2, 3 и 5 демонстрировали уровни EFdA в плазме выше нижнего предела количественного определения (НПКО) в течение более недели, при этом значение C_{max} было намного ниже, чем для EFdA.

В табл. 2 показаны данные фармакокинетики у крыс для соединений 1, 2, 3 и 5 после подкожного (п/к) введения эквивалентной дозы EFdA 10 мг/кг. Данные в графическом виде представлены на фиг. 10.

Таблица 2

	ПК Соед. 1 (EFdA)	ПК Соед. 2	ПК Соед. 3	ПК Соед. 5
Доза EFdA (мг/кг)	10	10	10	10
Концентрация EFdA (мг/кг)	4	4	4	4
Вспомогательные вещества	0,5% КМЦ-Na/ 0,5% TWEEN-80	0,5% КМЦ-Na/ 0,5% TWEEN-80	0,5% КМЦ-Na/ 0,5% TWEEN-80	0,5% КМЦ-Na/ 0,5% TWEEN-80
T _{1/2} (ч)	1,3 ± 0,2	17 ± 4	NA	12 ± 4
MRT _{0-last} (ч)	1,6 ± 0,1	12 ± 1,2	20 ± 4	13 ± 3
T _{max} (h)	0,5	2 ± 1,1	4 ± 2,3	7 ± 0
C _{max} (нМ)	11548 ± 3173	1795 ± 337	287 ± 177	968 ± 374
AUC _{0-last} (нМ*ч)	22528 ± 1680	19771 ± 1219	6475 ± 2909	18516 ± 4409
AUC _{0-inf} (нМ*ч)	23235 ± 2000	22745 ± 748	Н/П	19993 ± 3525

Пример 57.

После серии оптимизаций составов снова проводили исследования фармакокинетики при подкожном введении у крыс высокой эквивалентной дозы 100 мг/кг при высокой эквивалентной концентрации 120 мг/мл и 319 мг/мл EFdA для пролекарства 3 и EFdA, соответственно. Пролекарство 3 обеспечивает отсроченную и в 100 раз более низкую C_{max}, чем EFdA. Также наблюдали увеличенный период полувыведения и среднее время удерживания в случае пролекарства 3, что делает его пригодным для профилактики.

В табл. 3 показаны данные фармакокинетики у крыс для соединений 1 и 3 после подкожного введения при 10 мг/кг и 100 мг/кг эквивалентной дозе EFdA при высокой концентрации состава. Данные показаны в графической форме на фиг. 11.

Таблица 3

	ПК Соед. 3	ПК Соед. 3	ПК Соед. 1 (EFdA)	ПК Соед. 1 (EFdA)
Доза EFdA (мг/кг)	10	100	100	10
Вспомогательные вещества	0,5% КМЦ-Na / 0,5% TWEEN-80	0,25% КМЦ-Na / 0,1% TWEEN-80	0,25% КМЦ-Na / 0,1% TWEEN-80	0,5% КМЦ-Na / 0,5% TWEEN-80
Концентрация EFdA (мг/мл)	4	120	319	4
T _{1/2} (ч)	Н/П	474 ± 168	53 ± 8	1,3 ± 0,2
MRT _{0-last} (ч)	20 ± 4	456 ± 17	59 ± 20	1,6 ± 0,1
T _{max} (ч)	4 ± 2,3	312 ± 0	1 ± 0	0,5
C _{max} (нМ)	287 ± 177	66 ± 21	7429 ± 1,584	11548 ± 3173
AUC _{0-last} (нМ*ч)	6475 ± 2909	38306 ± 101	156462 ± 19	22528 ± 1680
AUC _{0-inf} (нМ*ч)	Н/П	52531 ± 39	156462 ± 19	23235 ± 2000

Пример 58.

После фармакокинетического анализа у крыс основное внимание было смещено на негрызунов, то есть на макак-резус. Пролекарство 5 и EFdA подвергали исследованиям фармакокинетики при подкожном введении однократной дозы у макак-резус с эквивалентными дозами EFdA 50 мг/кг. Водные суспензии содержали 0,25% КМЦ-Na и 0,1%/0,5% TWEEN-80 с эквивалентной концентрацией 116 мг/мл и 319 мг/мл EFdA для Пролекарства 5 и EFdA, соответственно. Для Пролекарства 5 наблюдались уровни EFdA в плазме выше НПКО в течение более месяца, при этом значение C_{max} было в 24 раза ниже, чем для самого EFdA.

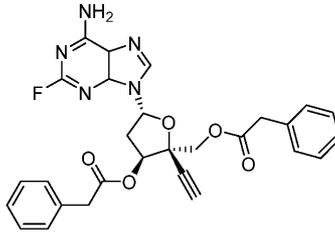
В табл. 4 представлены данные фармакокинетики у макак-резус для соединений 1 и 5 после подкожного введения эквивалентной дозы EFdA, равной 50 мг/кг. Данные представлены в графическом виде на фиг. 12.

Таблица 4

	ПК Соед. 1 (EFdA)	ПК Соед. 5
Доза EFdA (мг/кг)	50	50
Состав	0,25% КМЦ-Na 0,1%TWEEN-80	0,25% КМЦ-Na 0,5%TWEEN-80
Концентрация EFdA (мг/мл)	319	116
T _{1/2} (ч)	69 ± 14	Н/О
MRT _{0-last} (ч)	76 ± 36	350 ± 25
T _{max} (ч)	4 ± 3,6	264 ± 125
C _{max} (нМ)	3060 ± 1058	128 ± 52
C _{28days} (нМ)	1,4 ± 0,3	73 ± 29
AUC _{0-last} (нМ*ч)	135294 ± 22629	61934 ± 27834
AUC _{0-inf} (нМ*ч)	135429 ± 22675	Н/О

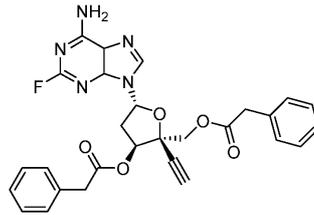
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, которое представляет собой

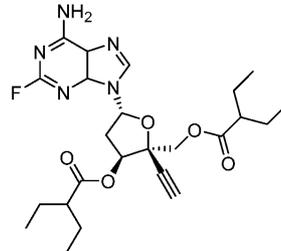


или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, где соединение представляет собой

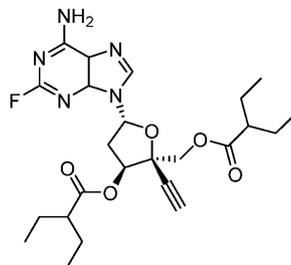


3. Соединение, которое представляет собой

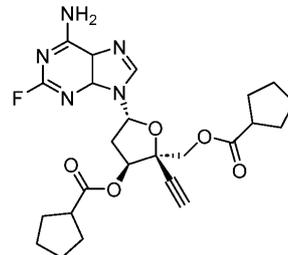


или его фармацевтически приемлемая соль.

4. Соединение по п.3, где соединение представляет собой

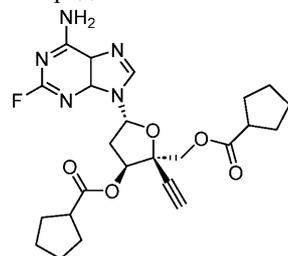


5. Соединение, которое представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль.

6. Соединение по п.5, где соединение представляет собой

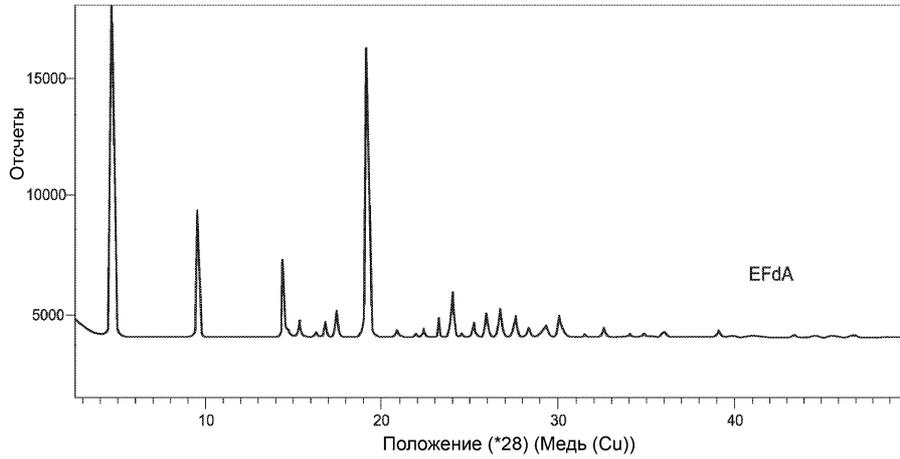


7. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

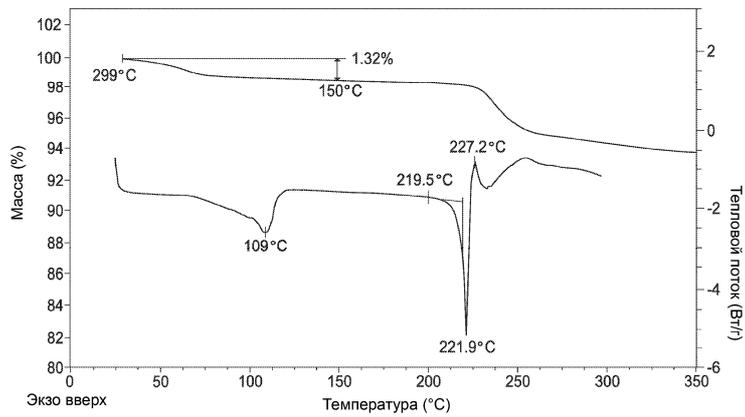
8. Способ лечения или профилактики инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека, у пациента, у которого по медицинским показаниям необходимо ингибирование обратной транскриптазы, включающий введение пациенту эффективного количества или концентрации соединения по любому из пп.1-6 или его фармацевтически приемлемой соли.

9. Способ по п.8, включающий лечение инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека.

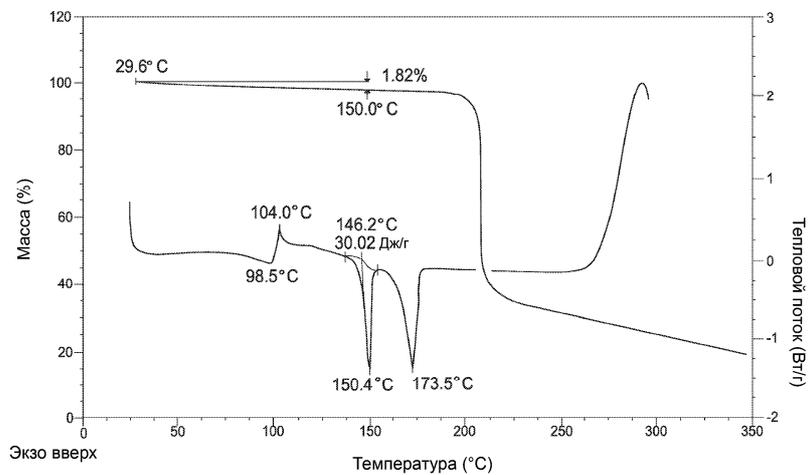
10. Способ по п.8, включающий профилактику инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека.



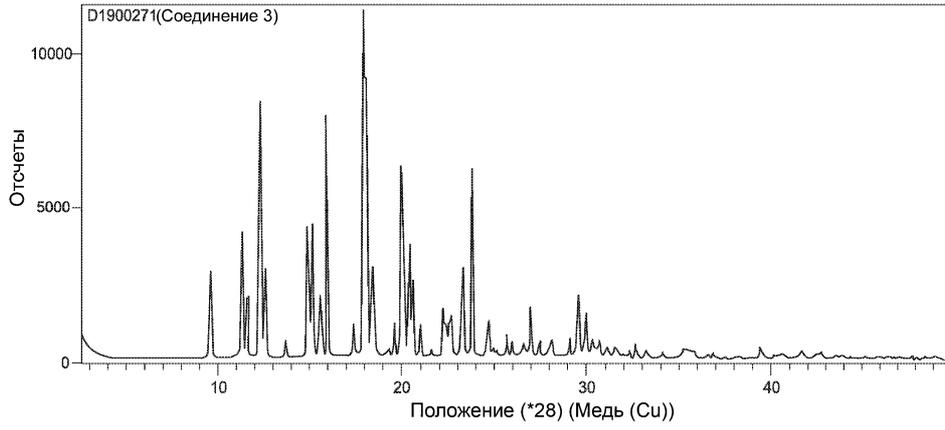
Фиг. 1



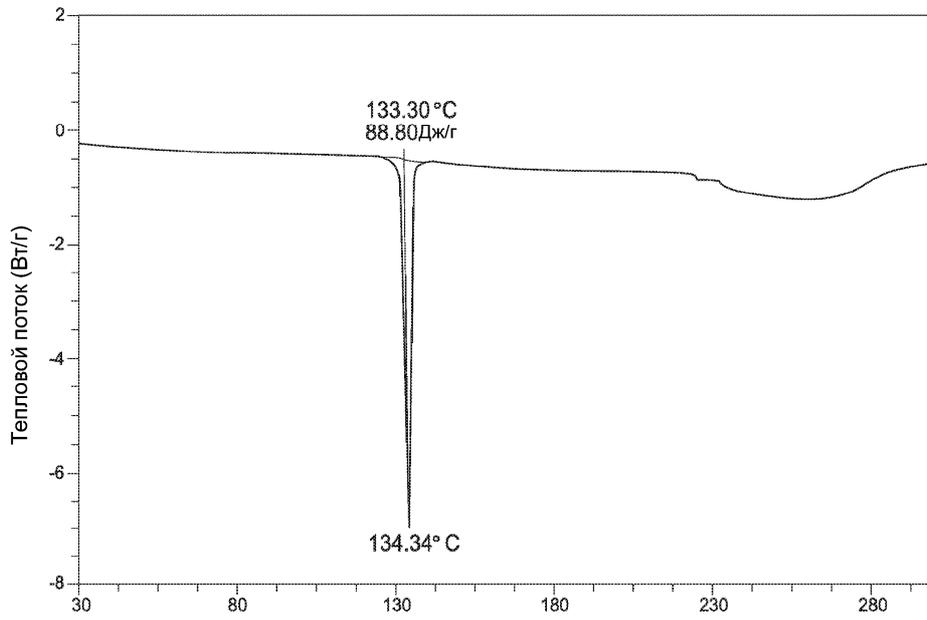
Фиг. 2



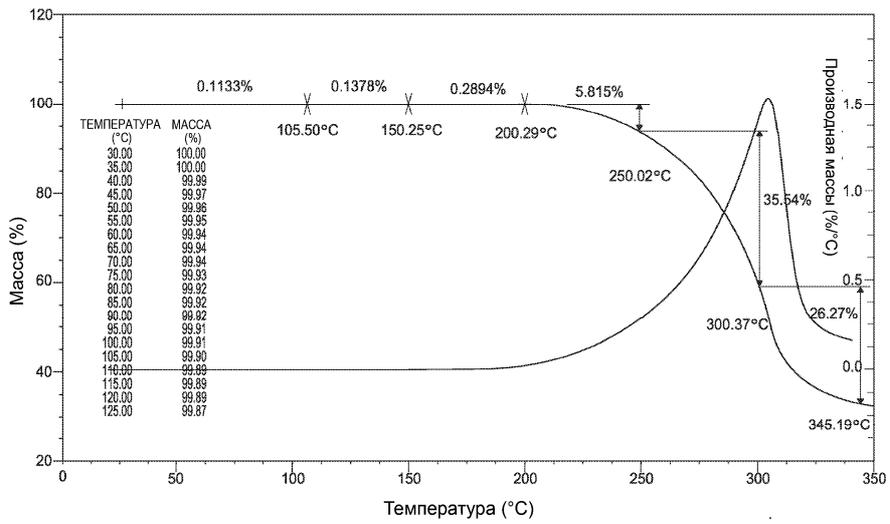
Фиг. 3



Фиг. 4

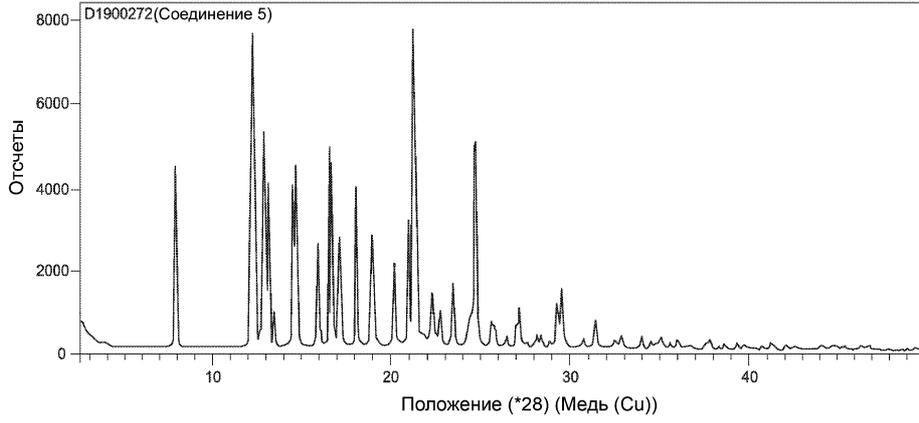


Фиг. 5

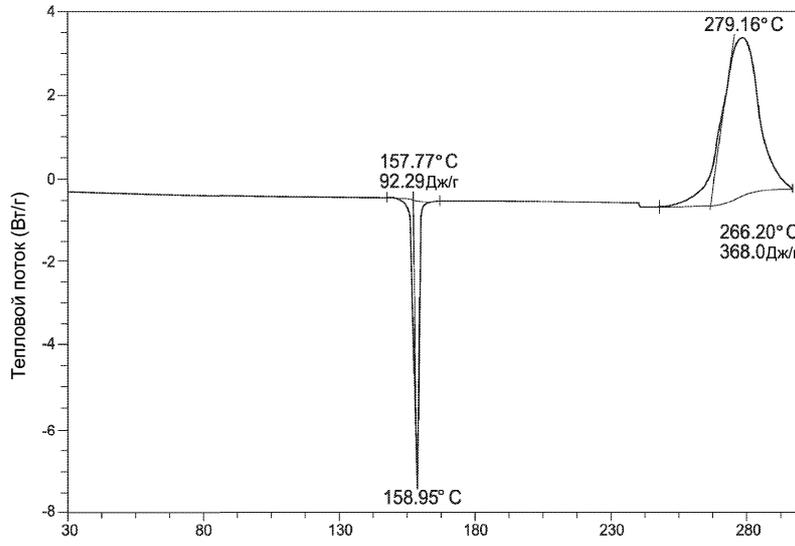


Фиг. 6

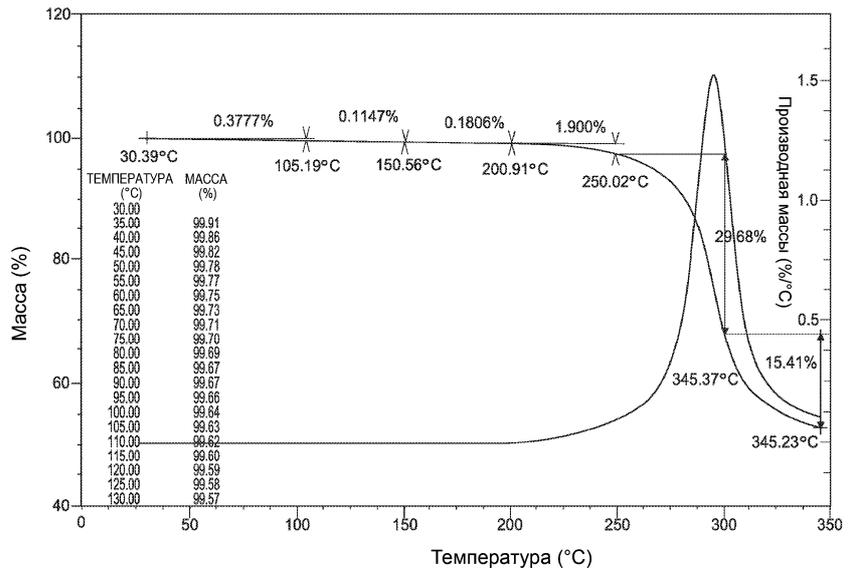
047403



Фиг. 7

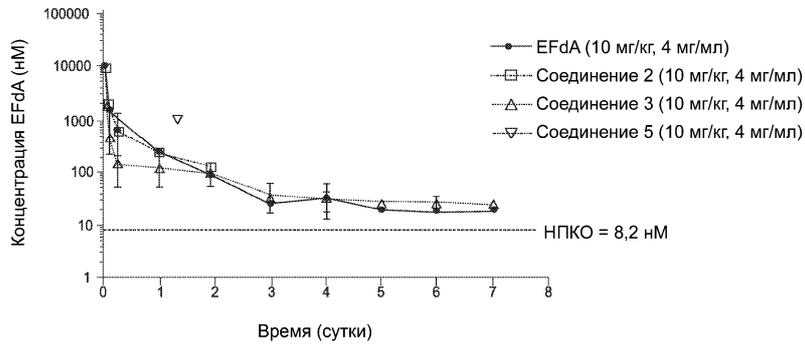


Фиг. 8



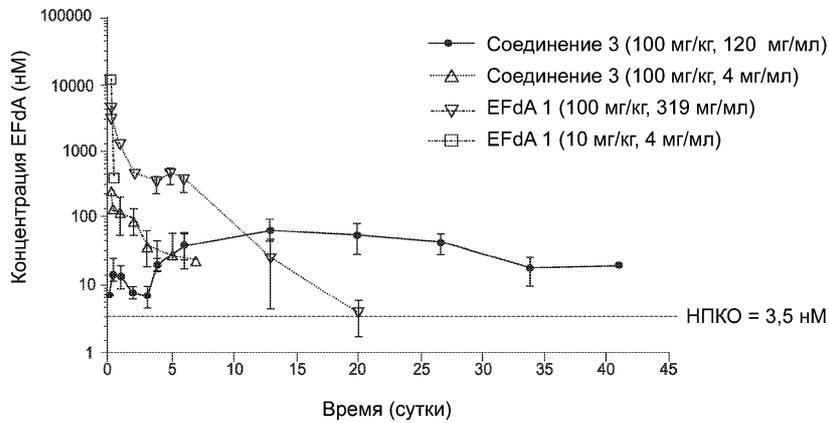
Фиг. 9

Экспозиция EFdA после
подкожного введения у крыс



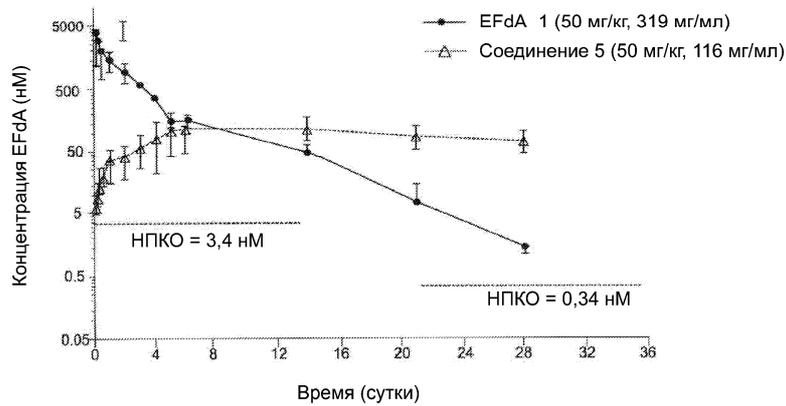
Фиг. 10

Экспозиция EFdA после
подкожного введения у крыс



Фиг. 11

Экспозиция EFdA после подкожного
введения у макак-резус



Фиг. 12



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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